



Cultivo Microbiológico

El cultivo microbiológico de las muestras recibidas en el laboratorio de análisis clínicos es un proceso laborioso, a continuación presentamos un breve explicación de éste.

Rafael Baselga
exopol@exopol.com

Como enviar las muestras

Elija animales con síntomas clínicos y a ser posible no tratados.
Trabaje con la mayor asepsia posible.
Remita la muestra al laboratorio lo antes posible.

Animales vivos

Utilice una caja resistente. Haga numerosos orificios de aireación en la caja, especialmente en verano. No ponga agua ni comida. Coloque en el fondo material absorbente para los excrementos. Envíelo a última hora de la tarde.

Órganos procedentes de necropsia

Extraer los órganos del cadáver. Introducirlos en bolsas independientes.
Refrigerarlos en una nevera antes del envío. No congelar si se solicita aislamiento de bacterias y antibiograma. Pueden congelarse si sólo se solicita Inmunocitoquímica (IPX). Enviar en una caja de corcho blanco con bloques

de hielo. El intestino se debe ligar en los extremos para evitar pérdidas de contenido y contaminaciones.

Cadáveres y fetos

Precisan refrigeración.

No congelar si se solicita análisis bacteriológico. Pueden congelarse si sólo se solicita Inmunoperoxidasa IPX. recipiente o bolsa hermética y enviar en una caja de corcho blanco con bloques de hielo. Si lleva varias horas muerto sin refrigerar, recuerde que es probable que esté contaminado.

Hisopos

No precisan refrigeración.

Deben llevar algún medio de transporte.

Cultivo Microbiológico

Las muestras recibidas se identifican con un número que servirán para marcar los tubos y placas empleados y que corresponde con el del caso incluido en la base de datos.

Creando la ficha de entrada a los paquetes recibidos.

Cuando se reciben animales se hace la necropsia para buscar las bacterias en los órganos afectados por la enfermedad.



Extracción de los pulmones. Un fragmento de los mismos se empleará para buscar los patógenos.



Siembra para bacteriología de pulmón de conejo. En el trozo de tejido se multiplican las bacterias responsables de la enfermedad. Al contacto se depositan en las placas de agar donde se multiplicarán produciendo colonias que son visibles a simple vista.

Las placas de crecimiento se identifican con el mismo número que el informe recibido.

Todas las muestras se siembran en agar sangre y agar Mc Conkey. En agar sangre crecen casi todas las bacterias y el agar Mc Conkey es especial para enterobacterias. En estas placas se permite que las bacterias crezcan durante 24-48 horas en estufas de incubación a 37°C.



Las bacterias depositadas en las placas de crecimiento se extienden con un asa en toda la superficie de crecimiento.





En estas placas que aportan todos los medios de crecimiento se permite que las bacterias crezcan durante 24-48 horas en estufas de incubación a 37°C.

En el caso de que se busquen Mycoplasmas todas las muestras se siembran individualmente en medios líquidos y en medios sólidos para el aislamiento de Mycoplasmas (PPLO).

Siembra en agar PPLO. Siembra de Mycoplasmas en agar PPLO, medio sólido.



Siembra en caldo PPLO. Cada muestra se siembra en un tubo con caldo Hayflick modificado que se incuba a 37° C durante 5 días para el cultivo de Mycoplasmas.



Colonias de Mycoplasmas. Colonias de Mycoplasma obtenidas a partir de un cultivo pulmón. Obsérvese la morfología típica en "huevo frito" de las colonias aisladas. Para su crecimiento se empleó un caldo Eaton modificado y placas de Agar Mycoplasma con suplemento de suero equino. Imagen obtenida en estereomicroscopio a 20 aumentos.

Simultáneamente se pueden tomar muestras para la búsqueda de otros patógenos (Mixomatosis, Virica hemorrágica, Mycoplasmas, Clamidias, Rotavirus, Coronavirus, Encephalitozoon, etc. utilizando técnicas inmunocitoquímicas.



La determinación de la presencia de estos patógenos se hace estudiando al microscopio la presencia de células infectadas.



Las placas de agar sangre y agar Mc Conkey se incuban durante 48 horas y se leen a las 24 y 48 horas. La mayoría de los patógenos de interés crecen en 24 horas de cultivo, aunque en ocasiones es necesaria una resiembra para aislarlos de otras bacterias contaminantes.



Tras la incubación se “estudian” los crecimientos bacterianos.



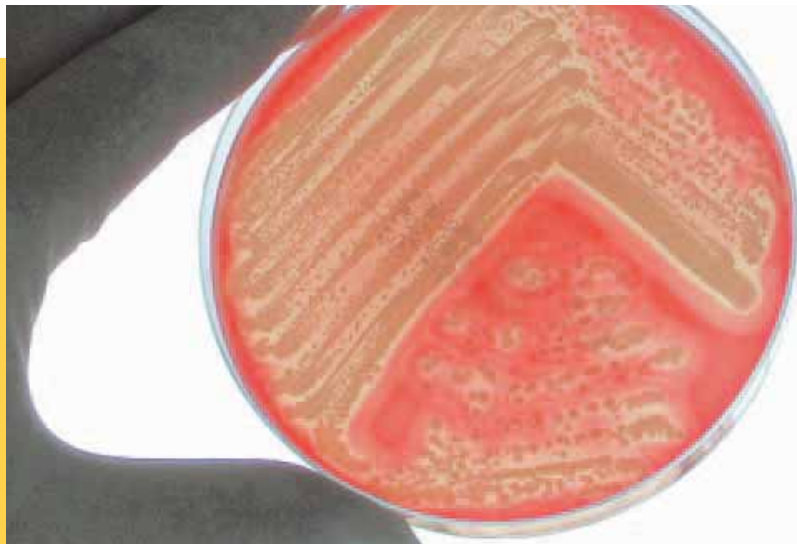
EXOPOL

autovacuna diagnóstico
animal producción

www.exopol.com

ISO 9001
4000 10-2000

Cepa de *Staphylococcus aureus* en agar Sangre incubado a 37 C en aerobiosis. Observe la doble alfa hemólisis



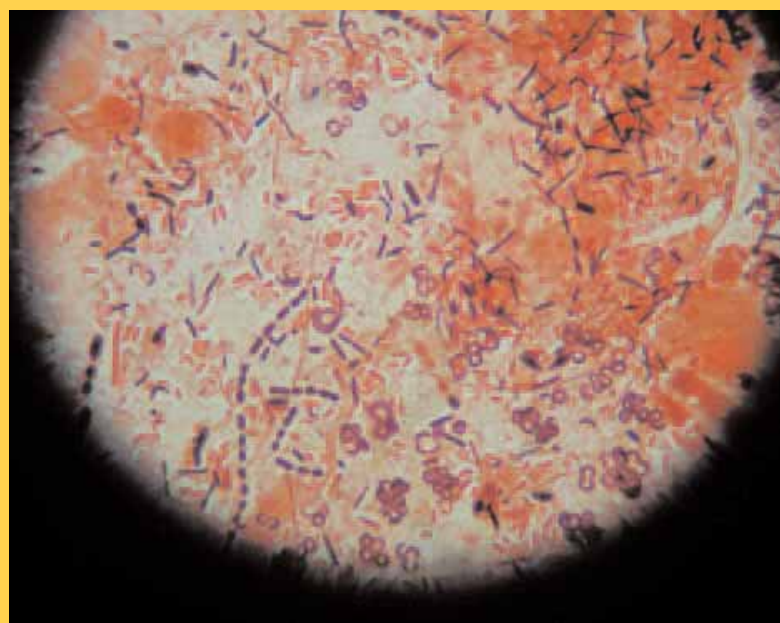
Cepa de *Pasteurella multocida* en agar sangre incubado a 37 C en aerobiosis. Procede de una mamitis en coneja.



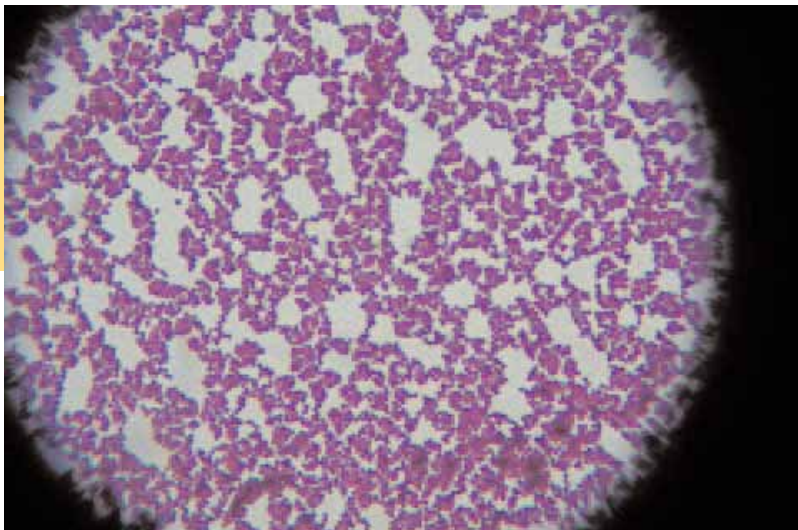
Cepa de *Salmonella* SP. en agar XLD incubado a 37° C en aerobiosis. Aislado de intestino de un conejo en cebo con diarrea profusa.



Cepa de *Escherichia coli* crecida en Agar MacConkey a 37° C 24 h. Obsérvese el color rosa de las colonias debido a la fermentación de la lactosa y el aspecto seco. 20010809_31.jpg

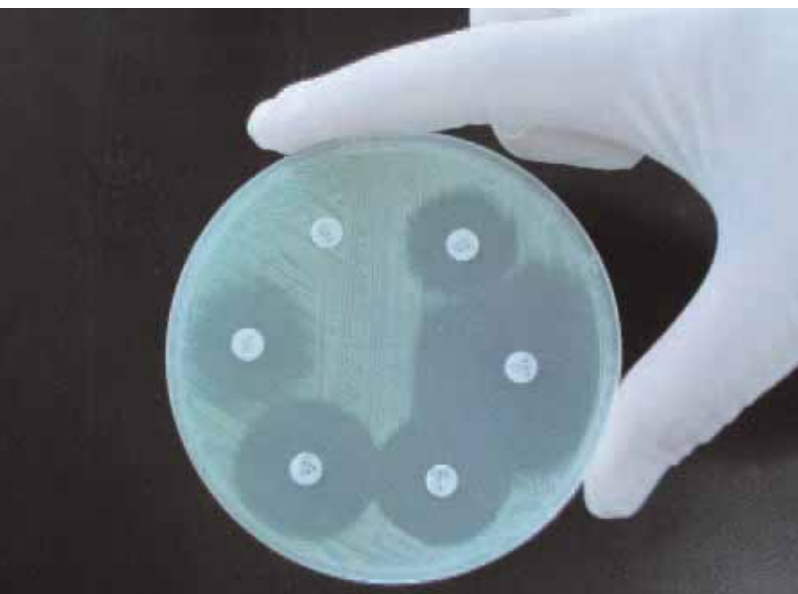


Clostridium spiroforme. Frotis de contenido cecal de conejo a final de lactación teñido mediante tinción de Gram y observado a 100x. Se observan acúmulos de bacilos curvados Gram positivos (flecha)

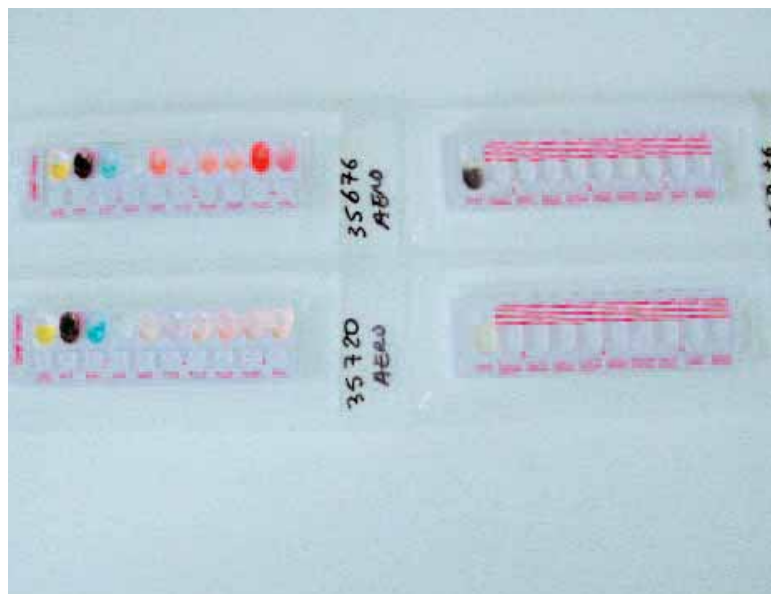


Cepa de *Staphylococcus aureus* teñida mediante tinción de Gram. Observación en microscopio de campo 1000 x.

Con la cepa aislada en pureza podemos hacer la identificación bioquímica y un antibiograma. La realización del antibiograma y de las pruebas bioquímicas también requiere 18-24 h de cultivo.



Antibiograma en placa



Pruebas bioquímicas en tira API.



Todos los datos se introducen tal y como se van generando en el laboratorio en una base de datos de modo que un veterinario puede ver sus resultados en tiempo real a través de Internet. Además el ordenador envía un SMS al móvil en cuanto la analítica está completa.

Todas las cepas de bacterias y *Mycoplasmas* susceptibles de ser empleadas en la elaboración de autovacunas se guardan congeladas.

Todas las cepas susceptibles de ser utilizadas en la elaboración de autovacunas se conservan en viales de congelación.

Todo el proceso de aislamiento, identificación y antibiograma se realizará en algo menos de 48 horas (una vez que se han recibido las muestras). Se precisan 24 horas para aislar a la mayoría de las bacterias y otras 24 para hacer la identificación bioquímica y el antibiograma.