

Diagnostica di laboratorio nel settore bovino

MANUALE DI CAMPIONAMENTO



A cura di

Eliana Schiavon Medico veterinario dirigente SCT3 Padova e Rovigo Laboratorio diagnostica clinica di Padova, IZSVe Responsabile Luciano lob

Layout e impaginazione

Valentina Boscolo Bragadin SCS7 Comunicazione e conoscenza per la salute Laboratorio comunicazione della scienza, IZSVe Responsabile Licia Ravarotto

Foto

Istituto Zooprofilattico sperimentale delle Venezie fotografo: Alessandro Dalla Pozza SCT1 Verona e Vicenza Laboratorio di diagnostica clinica di Vicenza, IZSVe Responsabile Gaddo Vicenzoni

Nonostante l'attenzione dedicata alla stesura della pubblicazione e i controlli effettuati sulle immagini e sui contenuti, qualche errore potrebbe essere sfuggito alle nostre verifiche.

Ce ne scusiamo con i lettori e li invitiamo a trasmetterci eventuali osservazioni.

I edizione: maggio 2012

Copyright © 2012 by Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie Riproduzione vietata ai sensi di legge (art. 171 della legge 22 aprile 1941, n° 633)

Pubblicazione non in vendit

I lettori che desiderano informazioni e aggiornamenti sulle attività dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie possono visitare il sito web **www.izsvenezie.it**

PREFAZIONE

Il nostro territorio, da sempre caratterizzato da una forte vocazione agro-zootecnica, ha saputo sviluppare nel tempo un modello produttivo altamente competitivo, che oggi costituisce uno dei **distretti zootecnici di maggior qualità a livello nazionale e internazionale**. Questo è senz'altro espressione di un sistema che ha saputo amalgamare al meglio interessi molteplici, in quella che definiamo una "cultura della qualità": fare bene le cose giuste.

Soprattutto, la presenza di una **rete di controlli sanitari** rapida ed efficace rappresenta un valore aggiunto per la filiera produttiva. In particolare, la sanità pubblica veterinaria ha cercato di interpretare le richieste del mondo produttivo, coniugandole con le istanze etiche determinate dal rispetto del benessere animale.

Garantire lo stato sanitario delle popolazioni animali, infatti, significa non solo proteggere la salute dell'animale nel suo ambiente ma anche creare le condizioni per lo sviluppo di una zootecnia di qualità, più sana ma anche più competitiva, in grado di rispondere alle domande di consumo alimentare (latte, carne, prodotti caseari, ecc.) tutelando le condizioni di vita degli animali.

In questo contesto, è opportuno fornire agli operatori in medicina veterinaria gli strumenti, come quello proposto dal seguente Manuale, per effettuare controlli con la massima competenza e professionalità. Un rigoroso campionamento consente di acquisire dati analitici solidi e affidabili e, conseguentemente, pianificare gli interventi sanitari in modo appropriato. Tutto ciò a vantaggio della salute dell'animale, dell'economia delle produzioni e, soprattutto, della salute pubblica.

Professore Igino Andrighetto

Direttore generale dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie

INTRODUZIONE

Il **campionamento**, in medicina veterinaria, è il primo passo e il più delicato, per avere un buon supporto diagnostico laboratoristico; da qui la necessità di avere delle **linee guida facili**, rapidamente consultabili anche in condizioni di campo.

Il **Manuale di campionamento** nel bovino nasce dall'incontro della richiesta pervenuta dai colleghi buiatri, con la necessità, da parte del veterinario laboratorista, di avere dei campioni rappresentativi della patologia in atto per giungere ad una corretta diagnosi.

Per questo motivo il Manuale è stato pensato come un oggetto facile da maneggiare, resistente, sul quale tutti si possano confrontare quando vi sia un sospetto diagnostico e si richieda l'ausilio del laboratorio. Non si può definire un tascabile, visto le dimensioni, ma sicuramente un manuale da tenere a disposizione e su cui cercare risposte per **effettuare un buon campionamento**.

Il Manuale **è diviso per sindromi** e informa sulla metodica di prelievo, sugli strumenti da utilizzare e su come far pervenire il campione al laboratorio. Non sarà completo, questo è inevitabile, ma sono presenti le problematiche sanitarie più ricorrenti nel bovino da carne e da latte. Sono indicati recapiti telefonici, indirizzi, orari e modalità di consegna del campione nelle diverse sedi del nostro Istituto. Per ulteriori e più approfondite informazioni è possibile telefonare: troverete un collega pronto a rispondere alle vostre domande.

Nel trattamento delle sindromi sono stata coadiuvata dai colleghi IZSVe esperti nel proprio settore di competenza, nello specifico *Antonio Barberio* per le patologie della vacca da latte, *Luca Bano* per le patologie enteriche, *Giandomenico Pozza* per il conferimento dei campioni all'Accettazione, *Annalisa Stefani* per la parte relativa agli accertamenti chimico-clinici. Colgo l'occasione per ringraziarli per l'ottimo lavoro e per tutti i suggerimenti apportati, con una doverosa aggiunta a chi si è fatto carico del materiale iconografico, *Fabio Rampin* e *Alessandro Dalla Pozza*. Un sentito ringraziamento al Laboratorio Comunicazione della Scienza, e in particolar modo a *Valentina Boscolo* e *Barbara Tiozzo*, che ha curato con grande professionalità gli aspetti grafici per aumentare l'efficacia comunicativa di questo prodotto editoriale.

Medico veterinario diriaente

SCT3 Padova e Rovigo, Laboratorio diagnostica clinica di Padova Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie

INDICE

Indicazioni per il prelievo e l'invio dei campioni

Sindrome respiratoria

Sindrome enterica

Sindrome cardiocircolatoria

Sindrome emorragica

Sindromi nervose

Patologie articolari

Patologie riproduttive

Mastiti

Accertamenti chimico-clinici



INDICAZIONI PER IL PRELIEVO E L'INVIO DEI CAMPIONI

Conferimento dei campioni presso le Sezioni diagnostiche IZSVe

SCS7, Laboratorio accettazione e relazioni con l'utenza - sede centrale Legnaro (PD)

Viale dell'Università, 10 - 35020 Legnaro (PD)

Tel.: +39 049 8084266 - 289 | Fax +39 049 8084268 | E-mail: accettazione@izsvenezie.it

Lunedì - venerdì: 8:00 - 13:15 e 14:15 - 16:30 | sabato: 8:00 - 12:00

SCT3, Padova e Rovigo - Sezione diagnostica di Padova

Viale dell'Università, 10 - 35020 Legnaro (PD)

Tel.: +39 049 8084290 | Fax +39 049 8830277

Lunedì - venerdì: 8:00 - 12:30 e 14:00 - 16:00

SCT3, Padova e Rovigo - Sezione diagnostica di Adria (RO)

Via L. Da Vinci, 39 - 45011 Adria (RO)

Tel.: +39 0426 21841 | Fax +39 0426 901411

Lunedì - venerdì: 8:30 - 12:00 e 14:00 - 15:30

SCT1, Sezione diagnostica di Vicenza

Viale Fiume, 78 - 36100 Vicenza

Tel.: +39 0444 305457 | Fax +39 0444 506165

Lunedì - venerdì: 8:30 - 12:30 e 14:00 - 15:30

SCT1, Sezione diagnostica di Verona

Via San Giacomo, 5 - 37135 Verona

Tel.: +39 045 500285 | Fax +39 045 582811

lunedì - venerdì: 8:30 - 12:00 e 14:00 - 15:30

SCT2, Sezione diagnostica di Fontane di Villorba (Treviso)

Vicolo Giuseppe Mazzini, 4 - 31020 Fontane di Villorba (TV)

Tel.: +39 0422 302302 | Fax +39 0422 421154

lunedì - venerdì: 8:30 - 15:00

SCT2, Sezione diagnostica di San Donà di Piave (VE)

Via Calvecchia, 10 - 30027 San Donà di Piave (VE)

Tel.: +39 0421 41361 | Fax +39 0421 479117 | Junedì - venerdì: 8:30 - 12:30 e 13:30 - 15:00

SCT2, Sezione diagnostica di Belluno

Via Cappellari, 44/A - 32100 Belluno

Tel.: +39 0437 944746 | Fax +39 0437 942178

Lunedì - venerdì: 8:30 - 12:00 e 14:00 - 15:30

SCT4, Sezione diagnostica di Cordenons (PN)

Via Bassa del Cuc, 4 - 33084 Cordenons (PN)

Tel.: +39 0434 41405 | Fax +39 0434 41201

Lunedì - venerdì: 8:30 - 12:00 e 14:00 - 15:00

SCT4, Sezione diagnostica di Basaldella di Campoformido (UD)

Via della Roggia, 100 - 33030 Basaldella di Campoformido (UD)

Tel.: +39 0432 561529 | Fax +39 0432 562676

Lunedì - venerdì: 8:30 - 15:00

SCT5, Sezione diagnostica di Trento

Via Lavisotto, 129 - 38100 Trento

Tel.: +39 0461 822458 | Fax +39 0461 829065

Lunedì - venerdì: 8:30 - 12:30 e 14:00 - 15:30

SCT6, Sezione diagnostica di Bolzano

Via Laura Conti, 4 - 39100 Bolzano

Tel.: +39 0471 633062 | Fax +39 0471 635149

Lunedì - venerdì: 8:30 - 12:30 e 14:00 - 16:30



INDICAZIONI PER IL PRELIEVO E L'INVIO DEI CAMPIONI

Il campionamento **deve essere effettuato** in modo tale che il risultato analitico sia rappresentativo dello stato dell'intera partita o gruppo di animali.

Devono essere adottate tutte le norme necessarie a evitare l'inquinamento del campione e tutte le norme di sicurezza atte a evitare possibili contaminazioni durante il trasporto e la consegna.

Ogni campione deve essere accompagnato da una lettera di invio o da apposita modulistica presente nel sito dell'Istituto; i campioni devono essere contrassegnati singolarmente e recapitati al laboratorio il più rapidamente possibile.

Per **richieste particolari** è consigliato contattare i dirigenti dei Laboratori, a disposizione degli utenti per tutte le indicazioni necessarie e per concordare modi e tempi del campionamento.

Un campione è idoneo quando:

- **non ha subito**, all'origine o durante il tempo che intercorre tra il prelievo e la consegna, fenomeni di alterazione che lo rendono incompatibile per le analisi richieste
- risponde ai requisiti specifici per le indagini cui dovrà essere sottoposto
- è opportunamente prelevato, confezionato e identificato
- è conservato in maniera corretta

Invio dei campioni

L'IZSVe mette a disposizione dei veterinari un **servizio di trasporto dei campioni** per agevolare e facilitare le operazioni di prelievo e di trasporto ai vari laboratori IZSVe della sede di Legnaro (PD) e delle sezioni diagnostiche periferiche. Attualmente il servizio è svolto dalla ditta General Logistics Systems (GLS).

N.B.: i campioni vengono conservati e conferiti a temperatura ambiente e non a temperatura controllata.

Tariffa agevolata

Il cliente che usufruisce del conferimento dei campioni tramite corriere GLS convenzionato con l'Istituto, al fine di ottenere l'applicazione della **tariffa agevolata di € 6,43 (IVA compresa)**, deve seguire le indicazioni di seguito riportate. Il costo del trasporto sarà addebitato in fattura.

Prenotazione

Ogni veterinario dovrà accertare, attraverso il sito **www.gls-italy.com, sul link**"**Trova la sede**", la sede più vicina e il numero telefonico cui prenotare il prelievo. La chiamata per il ritiro dovrà essere fatta entro le ore 12:30, fornendo i seguenti dati:

- n° codice contratto = 4126
- n° colli (numero di pacchi, imballi, buste)
- peso dei colli

INDICAZIONI PER IL PRELIEVO E L'INVIO DEI CAMPIONI

Ritiro

Il **ritiro da parte della GLS avverrà dalle 14:30 dello stesso giorno**. All'atto della consegna dei colli al corriere, il veterinario dovrà redigere un documento di trasporto o bollettino di spedizione, indicante i seguenti dati:

- mittente (eventualmente utilizzando anche carta intestata) e recapito telefonico
- destinatario:

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie indirizzo della sede centrale o della sezione diagnostica prescelta, indicando anche il laboratorio ed eventualmente la persona destinataria

- dati identificativi del pacco: n° colli, peso, ecc.
- data e firma

Consegna

La consegna dei colli sarà effettuata il giorno successivo se provenienti dal Veneto, in 48 ore se provenienti da fuori regione e in 72 ore dalle isole. I ritiri effettuati il venerdì saranno consegnati dal lunedì successivo.

Ulteriori informazioni:

www.izsvenezie.it > Servizi offerti

Legenda relativa alla rapidità di esecuzione del *metodo* analitico scelto

Ci è sembrato utile adottare nel testo un simbolo corrispondente all'indicazione della metodica analitica, per rendere più agevole l'orientamento del professionista nella scelta dell'esame da richiedere.

Il simbolo si riferisce al **tempo** impiegato per **effettuare l'analisi** in base al metodo scelto e non ai tempi di refertazione.









SINDROME RESPIRATORIA animale in vita



Diagnosi sul gruppo di animali che manifesta la sintomatologia clinica



- Tamponi nasali
 - esame batteriologico
 - esame virologico (PCR+colturali)



- esami batteriologici
- esami virologici (PCR + colturali)
- esami citologici

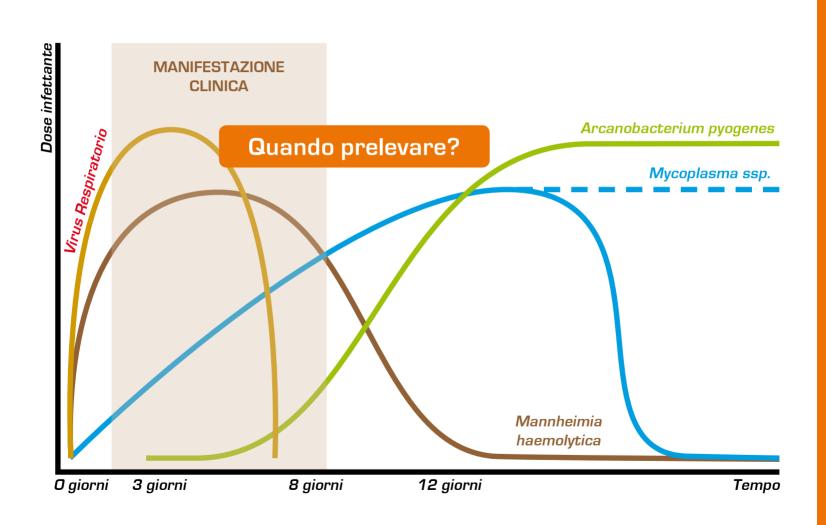


- **3** Profilo sierologico
 - test ELISA
 - test SIERONEURALIZZAZIONE



- 4 Profili emato chimici
 - emocromo
 - profilo biochimico

Ricerca agente eziologico





SINDROME RESPIRATORIA animale in vita



Tampone lungo 18 cm senza terreno di trasporto

- ottimo per tamponi nasali su vitelli
- trasportare refrigerato al laboratorio entro 24 ore o congelare
- da **utilizzare** solo per esame virologico con metodiche biomolecolari o immerso in brodo antibiotato (fornito IZS) per isolamento su colture cellulari



Tampone lungo 18 cm in terreno agarizzato Amiens

- ottimo per tamponi nasali su vitelli
- trasportare refrigerato al laboratorio entro 24 ore
- da utilizzare solo per esame batteriologico



Tampone lungo 30 cm

tampone con guaina, senza terreno di trasporto

- ottimo per tamponi nasali su bovini adulti
- trasportare refrigerato al laboratorio entro 24 ore o congelare
- da utilizzare per **esame batteriologico** dopo immersione in terreno agarizzato e **conferire** al laboratorio entro 24 ore
- da utilizzare per **esame virologico** con metodiche biomolecolari o immerso in brodo antibiotato (fornito IZS) per colturale

La scelta del tampone nasale è il primo passo per una corretta diagnosi





SINDROME RESPIRATORIA animale in vita

Tampone con terreno di trasporto

esame batteriologico per ricerca
 Pasteurella multocida, Mannheimia haemolitica,
 Histophilus somni

• esame colturale per ricerca *Mycoplasma bovis* con terreno di trasporto specifico richiesto al laboratorio

Tampone senza terreno di trasporto

 ricerca agenti eziologici in PCR: IBR, RSBV, BVD, Coronavirus respiratorio, Mycoplasma bovis, Histophilus somni

esame virologico colturale generico (se pervenuto con terreno richiesto a IZS)







Lavaggio tracheale

Il liquido ottenuto dal lavaggio tracheale è un **ottimo substrato per prove batteriologiche**. Individua gli agenti che si trovano nel polmone e che sono causa di patologia respiratoria. **Preleva minimo 2ml e invialo al più presto al laboratorio** o conservalo refrigerato per 24 ore.

Esami da effettuare

- esame batteriologico generico
- esame virologico generico
- ricerca agenti con metodiche biomolecolari
- esame citologico





SINDROME RESPIRATORIA animale in vita



Profilo ematochimico

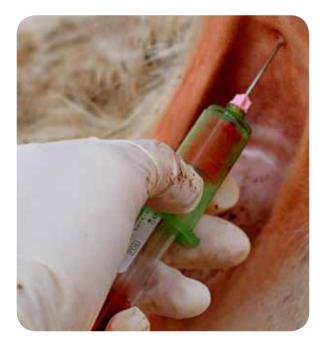
- può dare qualche indicazione sullo **stato di cronicità o acutezza** dell'evento infiammatorio
- trasmette indicazioni sullo stato renale ed epatico
- deve pervenire in laboratorio entro 8 ore dal prelievo





Profilo sierologico

- animali preferibilmente di età >6 mesi
- animali non vaccinati
- 10% gruppo minimo 5 soggetti
- **primo** prelievo vicino inizio infezione
- secondo prelievo dopo 2-3 settimane





Invialo entro 48 ore al laboratorio: potrebbe esserti utile



E se sono arrivato troppo tardi cosa posso fare?

Avvisa l'ASL competente per territorio e chiedi l'autorizzazione per eseguire un esame autoptico

- sposta l'animale fuori dal box, lontano dagli altri animali
- scegli possibilmente una zona dell'azienda dove vi sia una superficie facile da lavare e disinfettare
- stendi un telo di nylon su cui porre l'animale ed esegui l'esame autoptico
- munisciti di **tamponi e sacchi di nylon** dove apporre il materiale biologico per un eventuale invio al laboratorio





Se hai dubbi chiama un medico veterinario IZSVe

Quali organi è opportuno sottoporre ad accertamenti diagnostici?

- laringe, faringe
- trachea (a)
- polmone (tutto) (b)

- linfonodi mediastinici
- cuore con pericardio
- liquido pericardico (c)

- liquido cefalorachidiano (d)
- corata intera (e)



Consegnali velocemente al laboratorio















Ispeziono e descrivo le lesioni





Se è il caso, fissa in formalina delle parti di organo:

- taglia a tutto spessore due anelli tracheali
- immergili in formalina
- chiudi bene il barattolo e conservalo a temperatura



Ispeziono e descrivo le lesioni

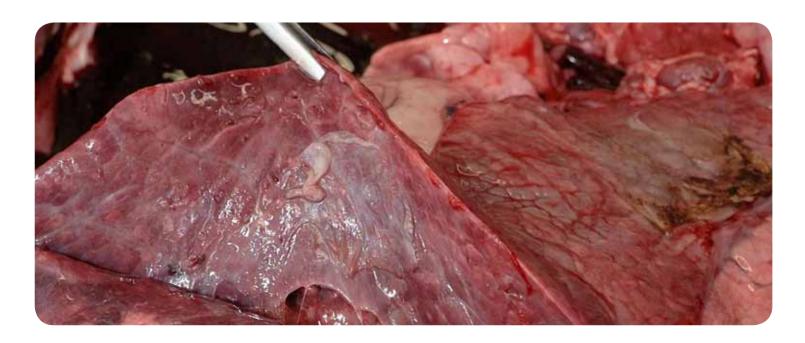






Taglia la zona di recente epatizzazione:

- entra con un tampone almeno 5 cm e preleva il materiale
- fai **minimo due tamponi** con terreno di trasporto Amies e altri due con tampone a secco (richiedili in IZSVe)
- identifica le zone dove li hai prelevati
- refrigera immediatamente



Fissa in formalina almeno 3 parti di organo:

- una nella parte di transizione tra sano e patologico
- due e tre nelle aree di epatizzazione recente o meno
- immergile in formalina
- chiudi bene il barattolo e conservalo a temperatura ambiente

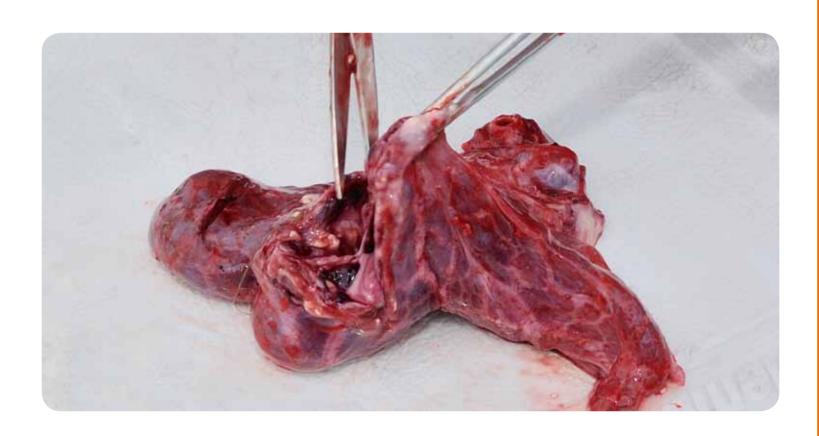


Ispeziono e descrivo le lesioni





- preleva due porzioni di polmone di circa 3 cm²
- ponile in un contenitore in plastica che poi refrigererai o congelerai (può servire al laboratorio per un'ulteriore indagine virologica)

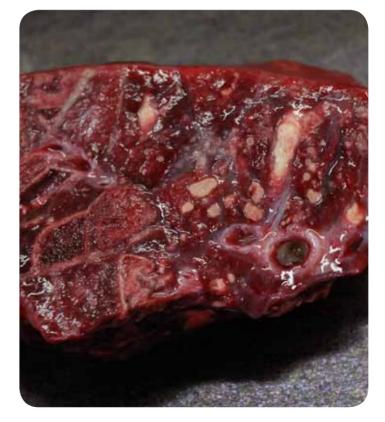


• non inviare porzioni piccole di polmone, perché non sono utili per formulare una diagnosi



Ricorda: un campionamento scorretto può deviare la diagnosi







SINDROME RESPIRATORIA

animale morto

Ma se non posso consegnare il campione prima di domani?

- preleva il liquido pericardico e mettilo in una vacutainer sterile
- scrivi sulla provetta "liquido pericardico"
- refrigera immediatamente





- con l'animale in posizione supina **evidenzia** lo spazio tra occipite e atlante, **pulisci** per eliminare il sangue in eccesso e **preleva** il liquido cefalorachidiano, mettilo in una vacutainer sterile
- scrivi sulla provetta "liquido cefalorachidiano"
- refrigera immediatamente



Ispeziono e descrivo le lesioni





SINDROME RESPIRATORIA

animale morto

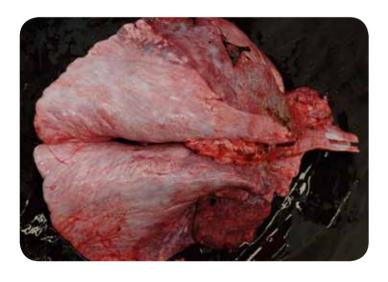
Raccogli una buona anamnesi e... segui una di queste due opzioni

opzione A

- invia tutta la corata
- possibilmente anche liquido pericardico e cefalorachidiano

opzione B

- fai **almeno due tamponi** con terreno di trasporto e due a secco ai margini della lesione
- prepara almeno due porzioni di polmone per l'istologia
- preleva due porzioni di polmone e conservali refrigerati
- possibilmente preleva anche liquido pericardico e cefalorachidiano





Esami sugli organi dell'apparato respiratorio e relative metodiche

Esame batteriologico

- Pasteurella multocida, Mannheimia haemolitica, Histophilus somni
- esame colturale per *Mycoplasma bovis* con terreno di trasporto specifico richiesto al laboratorio

Ricerca agenti eziologici in PCR



- IBR, RSBV, BVD, Mycoplasma bovis, Histophilus somni
- Coronavirus respiratorio

Esame virologico



se pervenuto con terreno richiesto a IZS





SINDROME ENTERICA animale in vita



Tamponi rettali

• esame batteriologico



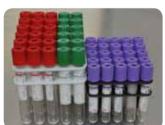
2 Feci

- esame batteriologico
- esame virologico (PCR, ELISA)
- esame parassitologico (flottazione, PCR, Mc Master, IF, ELISA, colorazione)



3 Siero di sangue

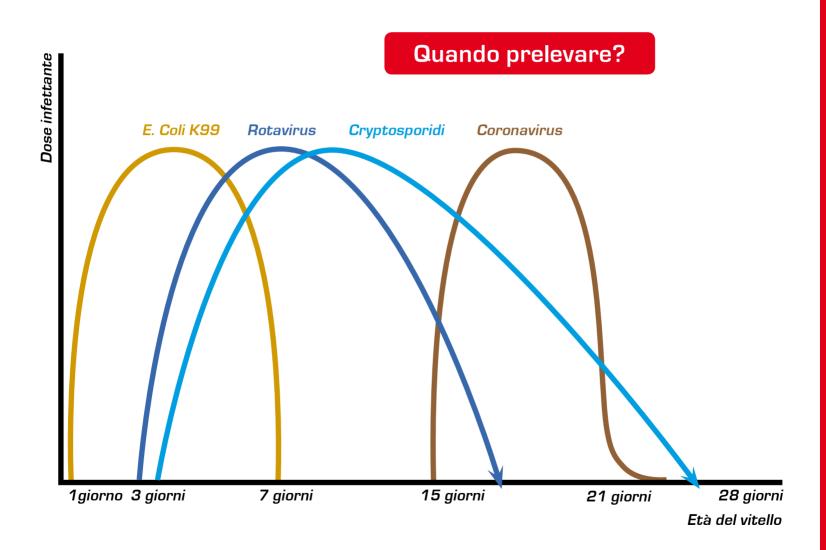
- esame sierologico (ELISA)
- esame virologico (ELISA, PCR)
- esame parassitologico



4 Sangue in K₃EDTA e Li-eparina

- emocromo
- profili biochimici

Enterite neonatale





SINDROME ENTERICA animale in vita



Tampone lungo 18 cm in terreno agarizzato Amies

- idoneo per eseguire **tamponi rettali** su **vitelli**, qualora non siano disponibili feci (es. scariche intermittenti con ampolla rettale vuota)
- trasportare refrigerato al laboratorio entro 24 ore
- il tampone permette la ricerca di enterobatteri patogeni (es. E. coli, Salmonella), ma non si presta per batteri più esigenti (es. clostridi), virus e parassiti per i quali è indispensabile conferire un campione di feci
- per diagnosi di gruppo eseguire almeno 3-4 tamponi da soggetti sintomatici, preferibilmente non trattati
- esame batteriologico: E. coli, Samonella spp. Klebsiella spp.



Feci

Le feci sono la **matrice d'elezione** per eseguire accertamenti batteriologici, virologici, parassitologici e per la ricerca di alcune tossine clostridiche in ELISA.

Se effettui una diagnosi di gruppo preleva direttamente dall'ampolla rettale di 4-5 soggetti con sintomatologia gastroenterica in atto, preferibilmente non trattati (non fare pool!).



Esame batteriologico

Il campione va **refrigerato** e trasportato al laboratorio **entro 48 ore.**

Esame virologico

Il campione deve essere tenuto a **temperatura ambiente** se consegnato **entro 24 ore** oppure congelato.

Esame parassitologico

Il campione deve essere tenuto a temperatura ambiente se consegnato entro 24 ore oppure refrigerato.

N.B.: La ricerca di Giardia spp. può essere eseguita su striscio fecale a fresco se le feci vengono conferite entro 3 ore a T° > 30 °C (es. utilizzando un thermos), oppure tramite IF o PCR (feci mantenute a temperatura ambiente se consegnate entro 24 ore oppure refrigerate).

Ricerca tossine clostridiche in ELISA

Conservare il campione a **temperatura ambiente** se consegnato **entro 12 ore** dal prelievo, altrimenti congelato.



SINDROME ENTERICA animale in vita



Esami delle feci e relative metodiche

Esame batteriologico



- Escherichia coli, Klebsiella spp.
- Campylobacter spp.
- Clostridium spp.
- Salmonella spp.
- Mycobacterium avium subsp paratuberculosis

Ricerca agenti eziologici in PCR



- Cryptosporidium spp.
- Mycobacterium avium subsp paratuberculosis



Ricerca agenti eziologici in ELISA



- Rotavirus
- Coronavirus
- Escherichia coli K99
- Cryptosporidium spp.
- Clostridium perfringens tossina α , β 1, ϵ
- Clostridium difficile tossina A e B

Esame parassitologico



- oocisti coccidiche
- elmintiasi intestinali
- Cryptosporidium spp.

Ricerca agenti eziologici in IF



- Cryptosporidium spp.
- Giardia spp.



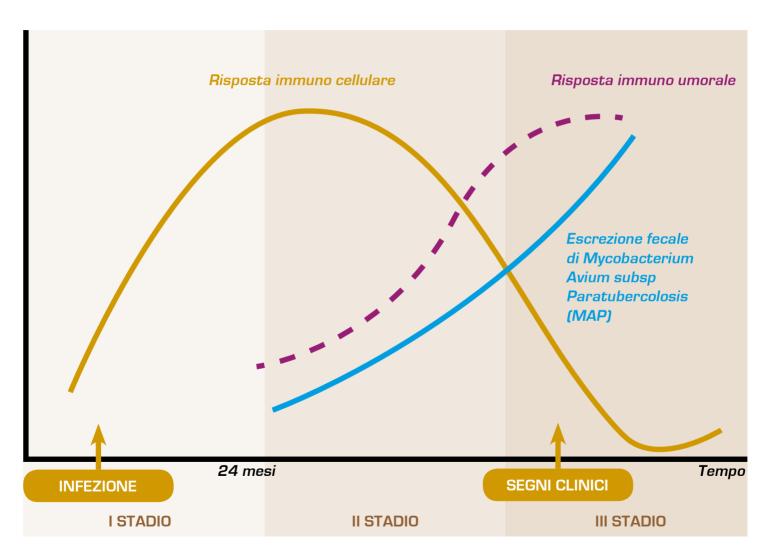
SINDROME ENTERICA animale in vita



Siero di sangue

- la **matrice d'elezione** per l'individuazione dei soggetti persistentemente infetti da virus BVD è il siero di sangue
- a seconda della prevalenza aziendale e dell'età dell'animale, l'esame sierologico per il controllo aziendale della paratubercolosi può essere abbinato ad altri accertamenti (PCR ed esame colturale da feci)
- il campione va conservato a T° < a 27 °C se viene consegnato entro 24 ore, oppure deve essere refrigerato se viene consegnato entro il terzo giorno dal prelievo
- se il campione viene **conferito dopo il quarto giorno**, o per osservare eventuali sieroconversioni in prelievi successivi, è bene separare il siero dalla componente cellulare (coagulo) e tenerlo congelato (anche per mesi)

Paratubercolosi, animale in vita





SINDROME ENTERICA

animale morto



E se sono arrivato troppo tardi cosa posso fare?

Avvisa l'ASL competente per territorio e richiedi l'autorizzazione per eseguire un esame autoptico

- sposta l'animale fuori dal box, lontano dagli altri animali
- scegli possibilmente una zona dell'azienda dove vi sia una superficie facile da lavare e disinfettare
- stendi un telo di nylon su cui porre l'animale ed esegui l'esame autoptico
- munisciti di **spago** e **sacchi di nylon** per poter legare e confezionare il pacchetto intestinale per un eventuale invio al laboratorio



Se hai dubbi chiama un medico veterinario IZSVe

Quali organi è opportuno sottoporre ad accertamenti diagnostici?

- carcassa intera (vitelli) (a)
- pacchetto intestinale legato includendo i linfonodi meseraici e l'abomaso (b + c)
- essudati/trasudati eventualmente presenti in cavità toraco-addominale e pericardica
- fegato
- rene
- milza (d)

N.B.: In caso di sospetta enterotossiemia, riporta in accompagnatoria l'ora del decesso









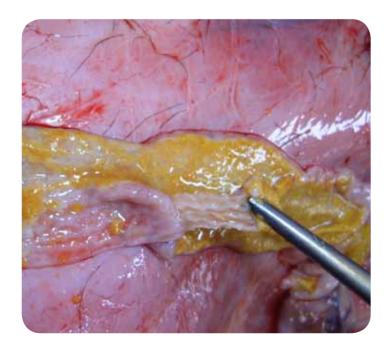
Consegnali velocemente al laboratorio





Ma se non posso consegnare il campione prima di domani?

- ispeziona e descrivi le lesioni
- esegui una legatura tra omaso e abomaso e una a livello del retto
- asporta il pacchetto intestinale con abomaso e linfonodi; preleva fegato, rene e milza
- poni eventuali essudati/trasudati in una provetta o prelevali con una siringa e ponili in vacutainer
- conserva il materiale a temperatura di refrigerazione se consegni entro 24 ore, altrimenti congelalo





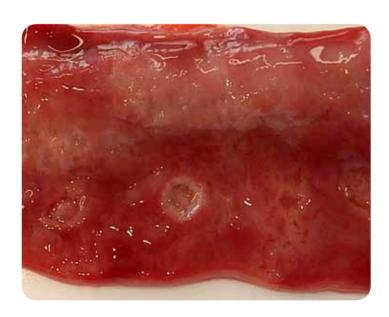
Ma se non posso consegnare il campione prima di domani?

Se è il caso fissa in formalina delle parti di organo:

- taglia a tutto spessore la parete intestinale
- svuotala del contenuto e immergila in formalina
- chiudi bene il barattolo
- conservalo a temperatura ambiente



Ispeziono e descrivo le lesioni







SINDROME ENTERICA

animale morto



Esami degli organi prelevati da soggetto deceduto in seguito a sindrome gastroenterica e relative *metodiche*

Esame batteriologico



- Escherichia coli
- Klebsiella spp.
- Campylobacter spp.
- Clostridium spp.
- Salmonella spp.
- Mycobacterium avium subsp paratuberculosis

Ricerca agenti eziologici in PCR



- Cryptosporidium spp.
- Mycobacterium avium subsp paratuberculosis



Ricerca agenti eziologici in ELISA



- Rotavirus
- Coronavirus
- Escherichia coli K99
- Cryptosporidium spp.
- Clostridium perfringens tossina α, β1, ε
- Clostridium difficile tossina A e B

Esame parassitologico

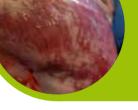


- oocisti coccidiche
- elmintiasi intestinali
- Cryptosporidium spp.

Ricerca agenti eziologici in IF



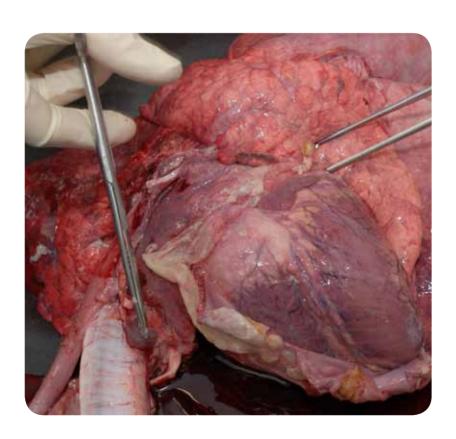
- Cryptosporidium spp.
- Giardia spp.



SINDROME CARDIOCIRCOLATORIA animale morto

E se dall'esame clinico il soggetto manifestava problemi cardiaci?

- preleva il cuore e invialo al laboratorio
- preleva il liquido pericardico e mettilo in una vacutainer sterile
- refrigera immediatamente





Ispeziono e descrivo le lesioni

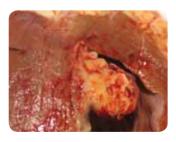
E se dall'esame clinico il soggetto manifestava problemi cardiaci?



- fisso in formalina delle parti dell'organo: tagli a tutto spessore larghi circa 1 cm
- fisso in formalina delle parti dell'organo: tutta la valvola cardiaca interessata
- esame batteriologico dove è presente la lesione
- esame batteriologico nel setto interventricolare











SINDROME CARDIOCIRCOLATORIA

animale morto



Esami degli organi prelevati da soggetto con sindrome cardiocircolatoria e relative *metodiche*

Liquido pericardico

• esame batteriologico



• esame citologico



• ricerca agenti eziologici con PCR Histophilus somni



Cuore

• esame batteriologico



• ricerca agenti eziologici con PCR Histophilus somni



• esame istologico



Appunti	



E se dall'esame clinico il soggetto manifestava sindrome emorragica?

Invia una porzione di:

- coste
- testa del femore
- sterno (pars distale) per l'esame istologico per escludere la Pancitopenia neonatale





E se dall'esame clinico il soggetto manifestava sindrome emorragica?

Invia una porzione di:

- milza per ricerca di BVD virus tipo 2
- fegato, contenuto abomasale e ruminale per esame tossicologico
- fegato, linfonodi e polmone per esame batteriologico

In questo modo escluderai le altre cause di sindrome emorragica







SINDROME NERVOSA

Raccogli una buona anamnesi e...

- prelievo di sangue per emocromo e profilo biochimico
- prelievo di **siero** (es. ricerca tossina botulinica)
- prelievo di sangue per **emogas analisi**
- prelievo di liquido rachidiano
- se sospetti botulismo: feci rettali









Fai un esame autoptico completo e...

- prima di procedere alla dislocazione della testa, con l'animale in posizione supina evidenzia lo spazio tra occipite e atlante
- pulisci per eliminare il sangue
- preleva il liquido cefalorachidiano, mettilo in una vacutainer sterile.
- scrivi sulla provetta «liquido cefalorachidiano»
- refrigera immediatamente
- esegui una completa dislocazione della testa possibilmente a livello occipitale metti la testa dentro un sacco e invia il prima possibile l'organo in laboratorio
- se sospetti botulismo: contenuto ruminale, pacchetto intestinale, fegato



Non aprire la scatola cranica: lo fa il laboratorio

Se il soggetto ha un'età > 48 mesi

- avverti l'ASL competente per territorio che dovrà eseguire il test per BSE
- richiedi l'autorizzazione per inviare la testa in laboratorio



SINDROME NERVOSA



Esami degli organi e liquidi prelevati da soggetto con sindrome nervosa e relative *metodiche*

Liquido cefalo rachidiano

• esame batteriologico



• esame citologico



• ricerca agenti eziologici con PCR: Histophilus somni



Sistema Nervoso Centrale (SNC)

• esame batteriologico generico



• ricerca Listeria monocitogenes



• ricerca agenti eziologici con PCR: Histophilus somni



• esame istologico



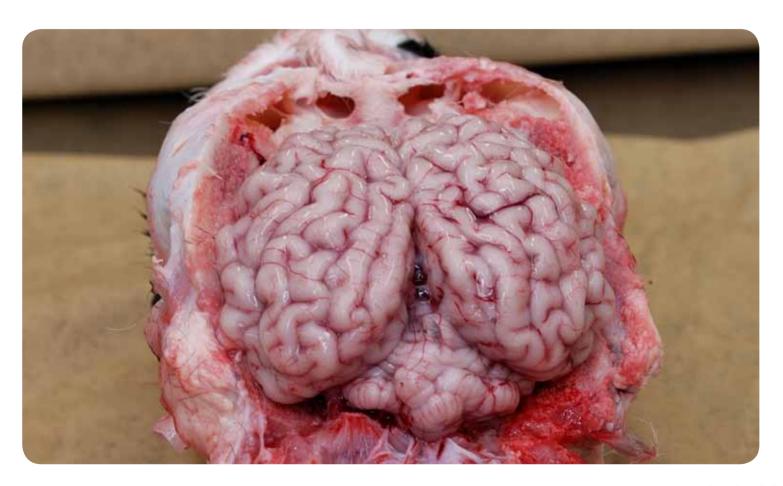
Feci e organi

• ricerca *Clostridium botulinum* in PCR



• ricerca *Clostridium botulinum* esame colturale





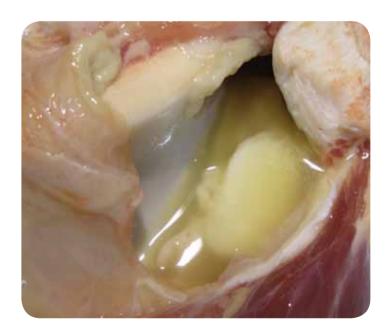


PATOLOGIE ARTICOLARI animale in vita

Preleva il liquido articolare tramite artrocentesi:

- pulisci l'articolazione interessata
- depila il punto di introduzione dell'ago o del catetere
- disinfetta la cute
- preleva sterilmente il liquido sinoviale
- ponilo in una vacutainer scrivendo la marca auricolare e l'articolazione di origine
- invialo al più presto al laboratorio o conservalo refrigerato per 24 ore





Esami del liquido articolare e relative metodiche

• esame batteriologico



• esame citologico

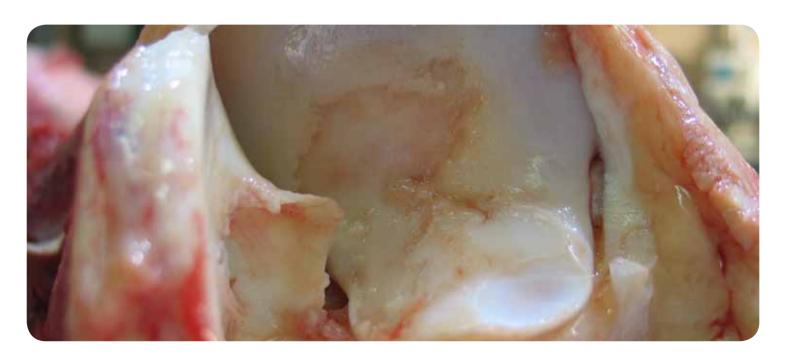


• ricerca agenti eziologici con PCR: Histophilus somni, Mycoplasma bovis



• esame colturale per Mycoplasma bovis







DIAGNOSI DI ABORTO INFETTIVO nella specie bovina

- invia al laboratorio l'intero feto con la placenta (almeno tre cotiledoni) ed il siero della madre, il materiale deve essere accompagnato da esaustive informazioni
- **conserva** il materiale refrigerato (+4-8°C) se l'invio al laboratorio avviene entro 48 ore, altrimenti congelarlo a -18°C



E se l'autopsia viene fatta in campo?

fegato, polmone, milza

• **preleva** i tre organi e ponili insieme in un contenitore idoneo al trasporto di materiali biologici (monouso e con chiusura a tenuta stagna), diverso da quello usato per gli altri organi

placenta

• preleva almeno 3 cotiledoni, ponili in un contenitore idoneo al trasporto di materiali biologici (monouso e con chiusura a tenuta stagna), diverso da quello usato per gli altri organi

cervello

• apri la scatola cranica (non è necessario che l'organo sia prelevato integro), **preleva il cervello** e ponilo separatamente in un contenitore idoneo al trasporto di materiali biologici (monouso e con chiusura a tenuta stagna), diverso da quello usato per gli altri organi

contenuto IV stomaco

• preleva sterilmente e trasferisci in provetta sterile in plastica con tappo a vite

siero della madre

Se l'invio al laboratorio avviene entro 48 ore:

- conserva il materiale refrigerato a + 4-8° C, altrimenti congelalo a -18° C
- ricorda che il congelamento riduce la sensibilità analitica di alcune metodiche utilizzate in laboratorio e, pertanto, se possibile, deve essere evitato



DIAGNOSI DI ABORTO INFETTIVO nella specie bovina

Accertamenti diagnostici

Sangue materno (indicare marca auricolare)

- Brucella anticorpi
- Neospora anticorpi
- Febbre Q anticorpi
- Leptospira anticorpi
- BVD anticorpi NS
- BVD virus (soggetti sieronegativi)
- IBR anticorpi totali (soggetti non vaccinati)
- IBR anticorpi GE (vaccinati con marker)

Accertamenti diagnostici

Feto abortito e invogli fetali

- · esame autoptico
- ricerca Brucella (contenuto abomasale feto > 5 mesi o madre sieropositiva)
- ricerca Campylobacter (contenuto abomasale fegato, polmoni,ecc., feto <5 mesi)
- esame batteriologici (contenuto abomasale, organi)
- Salmonella (da organo, in base a riscontri in stalla)
- ricerca BVD (fegato, polmone, milza, placenta in caso di madre sieropositiva BVD o sieronegativa viremica)
- ricerca Coxiella burnetti (cotiledoni e pool organi, sempre)
- ricerca Neospora (cervello, madre sieropositiva, feto >4°mese)
- ricerca Chlamydophila
- esame istologico (cervello feti positivi per Neospora)

Modalità di prelievo

- pulisci il capezzolo con detergente
- scarta i primi getti
- disinfetta il capezzolo
- prelievo
- usa contenitori monouso sterile
- evita il contatto tra il getto del latte e le mani dell'operatore
- identifica i contenitori in maniera indelebile
- refrigera a +4°C ed invia al laboratorio entro 24 ore, oppure congela





mastiti

Modalità di prelievo

Latte di massa

Solo ricerca contagiosi

- agitare la massa per 5 minuti
- prelevare il latte con mestolo o asta campionatrice
- **trasferire** in contenitore sterile 50-100 ml

Pool di 4 quarti

Piani di controllo ed eradicazione contagiosi

- pulizia del **capezzolo** con detergente
- **eliminazione** del primo getto di latte
- disinfezione del capezzolo
- prelievo di 2 getti di latte da ogni quarto
- identificazione provetta

Campioni singolo quarto

Diagnosi mastiti cliniche e subcliniche

- pulizia del **capezzolo** con detergente
- eliminazione **primo getto di latte**
- disinfezione del capezzolo
- disinfezione della punta del capezzolo
- prelievo campione
- identificazione provetta







Tipologie di richieste



Latte di massa

- Staphilococcus aureus
- Streptococcus agalactiae
- Prototheca spp.
- Mycoplasma bovis
- Cellule somatiche



Pool di 4 quarti

- Staphilococcus aureus
- Streptococcus agalactiae
- Prototheca spp.
- Mycoplasma bovis
- Cellule somatiche

nastiti

Campioni singolo quarto

• Tutti gli agenti di mastiti contagiose ed ambientali





ACCERTAMENTI CHIMICO-CLINICI



Analisi ematochimiche

- provette K₃EDTA (tappo viola), Li-eparina (tappo verde), senza anticoagulante (tappo rosso)
- conservare a 4°C



2 Siero

- origina dalla centrifugazione del sangue (2500 RCF, 10 min. a 20°C)
- provette senza anticoagulante (tappo rosso)
- conservare a 4-8°C o -20°C



Plasma

- origina dalla centrifugazione del sangue (1500 RCF, 15 min. a 4°C)
- provette in Li-eparina
- conservare a 4°C o -20°C



4 Urina

- contenitore sterile (50ml)
- conservare a 4°C

Consegna entro 8 ore

Per approfondimenti contatta il laboratorio

Modalità di prelievo dalla giugulare



- per prelievi in serie sullo stesso animale
- **provette pulite** alla consegna in laboratorio



- per singoli prelievi
- maggiore **praticità** d'uso

N.B.: estrarre l'ago dalla vena prima di togliere la provetta



- vitello 20 G (aghi gialli)
- bovino adulto 18 G (aghi rosa)





ACCERTAMENTI CHIMICO-CLINICI

Profilo epatico

Li-eparina: consegna entro 8 ore a 4°C

- proteine totali
- albumina
- urea
- bilirubina totale e frazionata
- colesterolo
- aspartato aminotransferasi (AST)
- alanina aminotransferasi (ALT)
- gamma glutamil transferasi (GGT)
- fosfatasi alcalina (ALP)

Quando lo impiego?

Quando sospetto problemi epatici

Profilo renale

Li-eparina: consegna entro 8 ore a 4°C

- proteine totali
- albumina
- urea
- creatinina
- calcio (Ca)
- fosforo (P)
- magnesio (Mg)
- sodio (Na)
- potassio (K)
- cloro (CI)

Quando lo impiego?

Quando sospetto problemi renali

Profilo elettrolitico

Li-eparina: consegna entro 8 ore a 4°C

- calcio (Ca)
- cloro (CI)
- fosforo (P)
- magnesio (Mg)
- potassio (K)
- sodio (Na)

Quando lo impiego?

Per valutare il contenuto elettrolitico e lo stato di idratazione

Profilo muscolare

Li-eparina: consegna entro 8 ore a 4°C

- aspartato aminotransferasi (AST)
- lattato deidrogenasi (LDH)
- creatin chinasi (CK)
- calcio (Ca)
- cloro (CI)
- fosforo (P)
- magnesio (Mg)
- potassio (K)
- sodio (Na)

Quando lo impiego?

A conferma di sospetti diagnostici per patologie muscolari o articolari



ACCERTAMENTI CHIMICO-CLINICI

Profilo standard vitellone

Li-eparina: consegna entro 8 ore a 4°C

- proteine totali
- calcio (Ca)

albumina

• fosforo (P)

• urea

magnesio (Mg)

- glucosio
- colesterolo
- trigliceridi
- bilirubina diretta
- bilirubina indiretta
- bilirubina totale
- creatinina
- aspartato aminotransferasi (AST)
- creatin chinasi (CK)
- gamma glutamil transferasi (GGT)

Quando lo impiego?

Per valutare lo stato clinicosanitario del vitellone da carne o del vitello a carne bianca

Profilo standard vitello a carne bianca

Li-eparina: consegna entro 8 ore a 4°C

proteine totali

- fosforo (P)
- acidi grassi non esterificati
- magnesio (Mg)

albumina

• ferro

- glucosio
- bilirubina diretta
- bilirubina indiretta
- bilirubina totale
- creatinina
- aspartato aminontrasferasi (AST)
- creatin chinasi (CK)
- fosfatasi alcalina
- calcio (Ca)

Quando lo impiego?

Per valutare lo stato clinicosanitario del vitellone da carne o del vitello a carne bianca

Profilo base bovina da latte

Li-eparina: consegna entro 8 ore a 4°C

- proteine totali
- calcio (Ca)

albumina

fosforo (P)

• urea

• magnesio (Mg)

- glucosio
- colesterolo
- acidi grassi non esterificati (NEFA)
- bilirubina diretta
- bilirubina indiretta
- bilirubina totale
- microematocrito
- aspartato aminotransferasi (AST)
- creatin-chinasi (CK)
- gamma glutamil transferasi (GGT)

Quando lo impiego?

Per valutare lo stato metabolico in gruppi di bovine in asciutta e/o in lattazione. Usalo quando sospetti patologie metaboliche

Profilo standard con NEFA bovina da latte

Li-eparina: consegna entro 8 ore a 4°C

- proteine totali
- trigliceridi

albumina

calcio (Ca)

• urea

• magnesio (Mg)

glucosio

- fosforo (P)
- colesterolo
- acidi grassi non esterificati (NEFA)
- bilirubina diretta
- bilirubina indiretta
- bilirubina totale
- microematocrito
- aspartato aminotransferasi (AST)
- creatin-chinasi (CK)
- gamma glutamil transferasi (GGT)

Quando lo impiego?

Per valutare lo stato metabolico in gruppi di bovine in asciutta e/o in lattazione. Usalo quando sospetti patologie metaboliche



ACCERTAMENTI CHIMICO-CLINICI

URINE

Profilo standard

Contenitore sterile e consegna entro 8 ore a 4°C

- cloro (CI)
- creatinina
- urea
- sodio (Na)
- osmolarità
- proteine urinarie
- potassio (K)
- glucosio

Uristick

Contenitore sterile e consegna entro 8 ore a 4°C

• glucosio

- nitriti
- proteine urinarie
- leucociti
- urobilinogeno
- colore
- bilirubina
- sangue
- pH
- peso specifico
- chetoni

Analisi del sedimento

Contenitore sterile e consegna entro 2 ore a 4°C

- eritrociti
- leucociti
- cristalli
- cilindri
- batteri
- spermatozoi
- cellule epiteliali
- parassiti

Profilo standard o Uristick?

- Profilo standard: analisi di tipo quantitativo
- Uristick: analisi semiquantitativa, rileva la presenza di sangue e leucociti

EMATOLOGIA

Emocromo con formula • anemie leucemie

provette con K_3 EDTA

consegna entro 8 ore a 4°C

- trombocitopatie

Morfologia cellulare • vacuolizzazioni • tossicità

provette con K₃EDTA

consegna entro 8 ore a 4°C

provette da 5 ml con K₃EDTA

consegnate entro 7 giorni

Emoglobina Screening vitelli a carne bianca

Profilo Coagulativo disordini emostatici sospetti avvelenamenti

provette con Na-citrato

consegna entro 2 ore a 4°C



ACCERTAMENTI CHIMICO-CLINICI

Emogasanalisi

provette con Li-eparina

2 h in acqua e ghiaccio

- tossiemie
- ipossiemie
- ricerca metaemoglobina

Microematocrito

provette con Li-eparina

consegna entro 8 ore a 4°C

• stato di idratazione



Cortisolo • trattamenti illeciti • stress

consegnato entro 8 ore a temperatura ambiente

Insulina • bilancio energetico siero o plasma

consegnato entro 8 ore a temperatura ambiente

β-OH-butirrato siero o plasma - chetosi

consegnato entro 8 ore a temperatura ambiente

Aptoglobina
signo a places

• infiammazione acuta
• emolisi intravascolare

siero o plasma

consegnato entro 8 ore a temperatura ambiente



ACCERTAMENTI CHIMICO-CLINICI

Progesterone

siero

consegnato entro 8 ore a temperatura ambiente

latte

consegnato entro 8 ore a 4°C/-20°C

- ciclo estrale
- gravidanza

Elettroforesi sieroproteica

siero

consegnato entro 8 ore a temperatura ambiente

colostro

consegnato entro 8 ore a 4°C/-20°C

 siero: profilo proteico (albumina, proteine fase acuta e IgG)

colostro: valutazione lgG



Per ulteriori richieste contatta il laboratorio!

Valori di riferimento per il bovino

Schalm's Veterinary Hematology, 2005; Kaneko, Clinical Biochemistry of domestic animals, 2008

PARAMETRO (UNITÀ DI MISURA)	INTERVALLO			
Proteine totali (g/l)	63-89			
Albumine (g/l)	31-38			
Globuline (g/l)	30-48			
Urea (mmol/I)	1,6-5,9			
Glucosio (mmol/I)	3,1-5,5			
Colesterolo totale (mmol/I)	1,77-3,64			
Trigliceridi (mmol/l)	0,08-0,31			
Bilirubina totale (µmol/l)	1,54-8,54			
Bilirubina Diretta (µmol/I)	0,72-5,93			
Bilirubina Indiretta (µmol/I)	2,62-6,93			
Creatinina (µmol/I)	113-212			
Aspartato transaminasi (AST) (U/I)	46-118			
Alanina transaminasi (ALT) (U/I)	16-32			
Fosfatasi alcalina (ALP) (U/I)	88-597			
G-glutamil transferasi (GGT) (U/I)	7-31			
Lattato deidrogenasi (LDH) (U/I)	1570-3680			
Creatin chinasi (CK) (U/I)	27-282			
Calcio (Ca) (mmol/I)	2,24-2,71			
Fosforo (P) (mmol/I)	1,95-2,98			
Magnesio (Mg) (mmol/l)	0,73-1,17			
Sodio (Na) (mmol/I)	131-144			
Potassio (K) (mmol/I)	3,8-6,1			
Cloro (Cl) (mmol/l)	97-107			
Ferro (Fe) (μg/dl)	86-249			
Rame (Cu) (µmol/I)	6,4-18,4			
Zinco (Zn) (µmol/I)	7,6-18,7			



ACCERTAMENTI CHIMICO-CLINICI

PARAMETRO	INTERVALLO				
Leucociti (WBC) k/μl	4-13				
Neutrofili k/µl (%)	0,6-4,0 (15-45)				
Linfociti k/µl (%)	2,5-7,5 (45-75)				
Monociti k/µl (%)	0,02-0,84 (<10)				
Eosinofili k/µl (%)	0,0-2,4 (<20)				
Basofili k/µl (%)	0,0-0,2 (<2)				
Eritrociti (RBC) M/µl	5,0-10,0				
Emoglobina (HGB) g/dl	8,0-15,0				
HCT %	28,0-44,0				
MCV fl	40,0-60,0				
MCH pg	11,0-17,0				
MCHC g/dl	30,0-36,0				
RDW %	18-22				
Piastrine (PLT) k/μl	300-800				
MPV fl	7,0-11,0				

Appunti			

In questo contesto, è opportuno fornire agli operatori in medicina veterinaria gli strumenti, come quello proposto dal seguente Manuale, per effettuare controlli con la massima competenza e professionalità. Un rigoroso campionamento consente di acquisire dati analitici solidi e affidabili e, conseguentemente, pianificare gli interventi sanitari in modo appropriato. Tutto ciò a vantaggio della salute dell'animale, dell'economia delle produzioni e, soprattutto, della salute pubblica.

PROFESSORE IGINO ANDRIGHETTO

Direttore generale dell'Istituto Zooprofilattico

Sperimentale delle Venezie

Per questo motivo il Manuale è stato pensato come un oggetto facile da maneggiare, resistente, sul quale tutti si possano confrontare quando vi sia un sospetto diagnostico e si richieda l'ausilio del laboratorio. Non si può definire un tascabile, visto le dimensioni, ma sicuramente un manuale da tenere a disposizione e su cui cercare risposte per **effettuare un buon campionamento**.

ELIANA SCHIAVON

Medico veterinario dirigente
SCT3 Padova e Rovigo, Laboratorio diagnostica clinica di Padova
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie

