



L'organizzazione della diagnostica nelle malattie infettive del suino

Pianificazione, fasi operative e criteri di scelta

(in vivo e post-mortem)

Vittorio Sala

Ordinario di Malattie Infettive degli Animali Domestici

PREMESSE (1)

- 👍 Penso di avere poco da insegnarvi, rispetto a cose che fate ogni giorno...
- 👍 Ma possono essere utili:
- 👍 La condivisione delle conoscenze
- 👍 E il confronto su metodi e modalità d'intervento



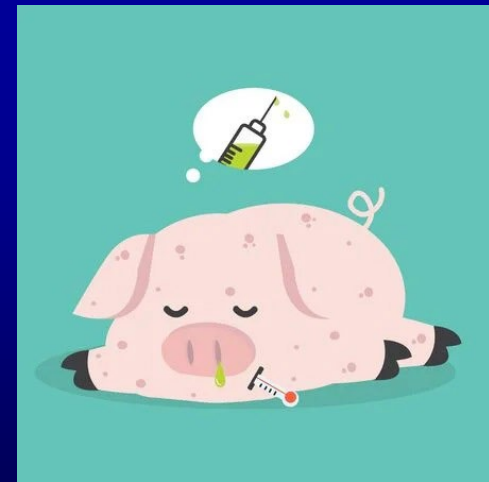
PREMESSE (2)

- 👍 La diagnostica è certamente indispensabile nel nostro lavoro
- 👍 È non è semplificando troppo le cose che si risolvono i problemi
- 👍 Oggi facciamo il punto...



DIAGNOSI IN ALLEVAMENTO

Cosa serve davvero?



Intuito

Inventiva

Fantasia



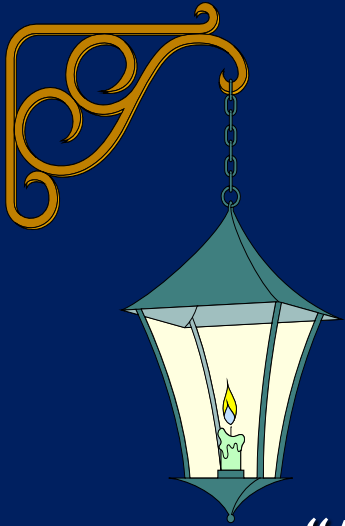
Fortuna

Organizzazione

Esperienza

Metodo

Deduzione



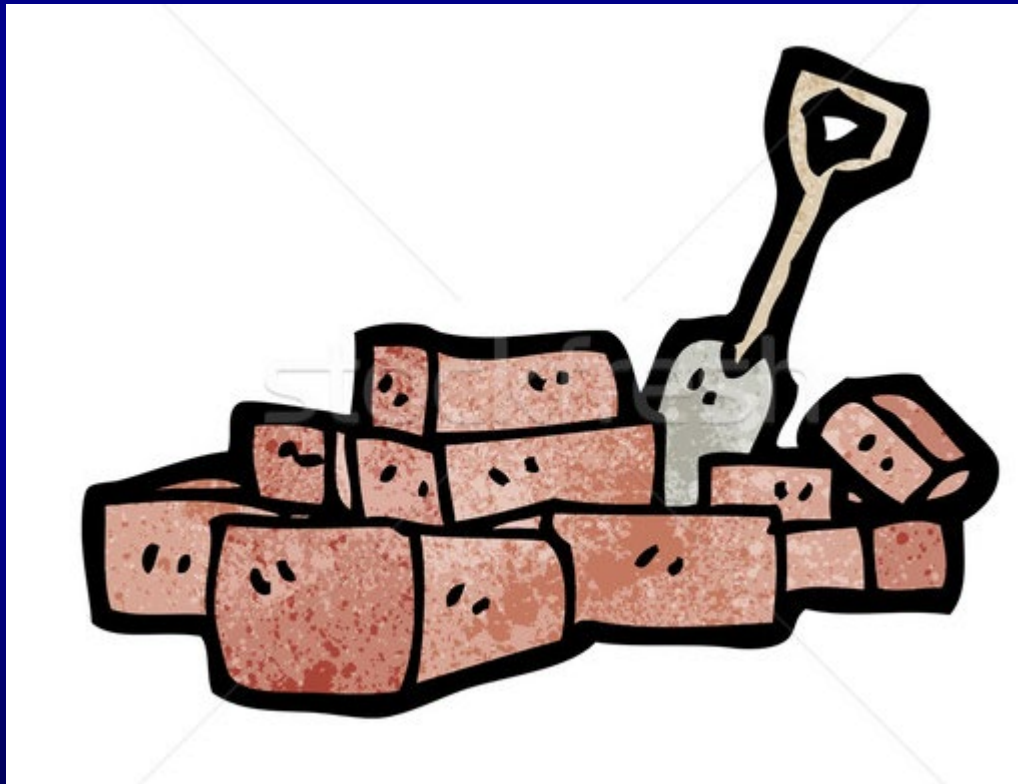
“A DIAGNOSIS IS A MATTER OF FACTS.
IT’S NOT A MATTER OF OPINION”

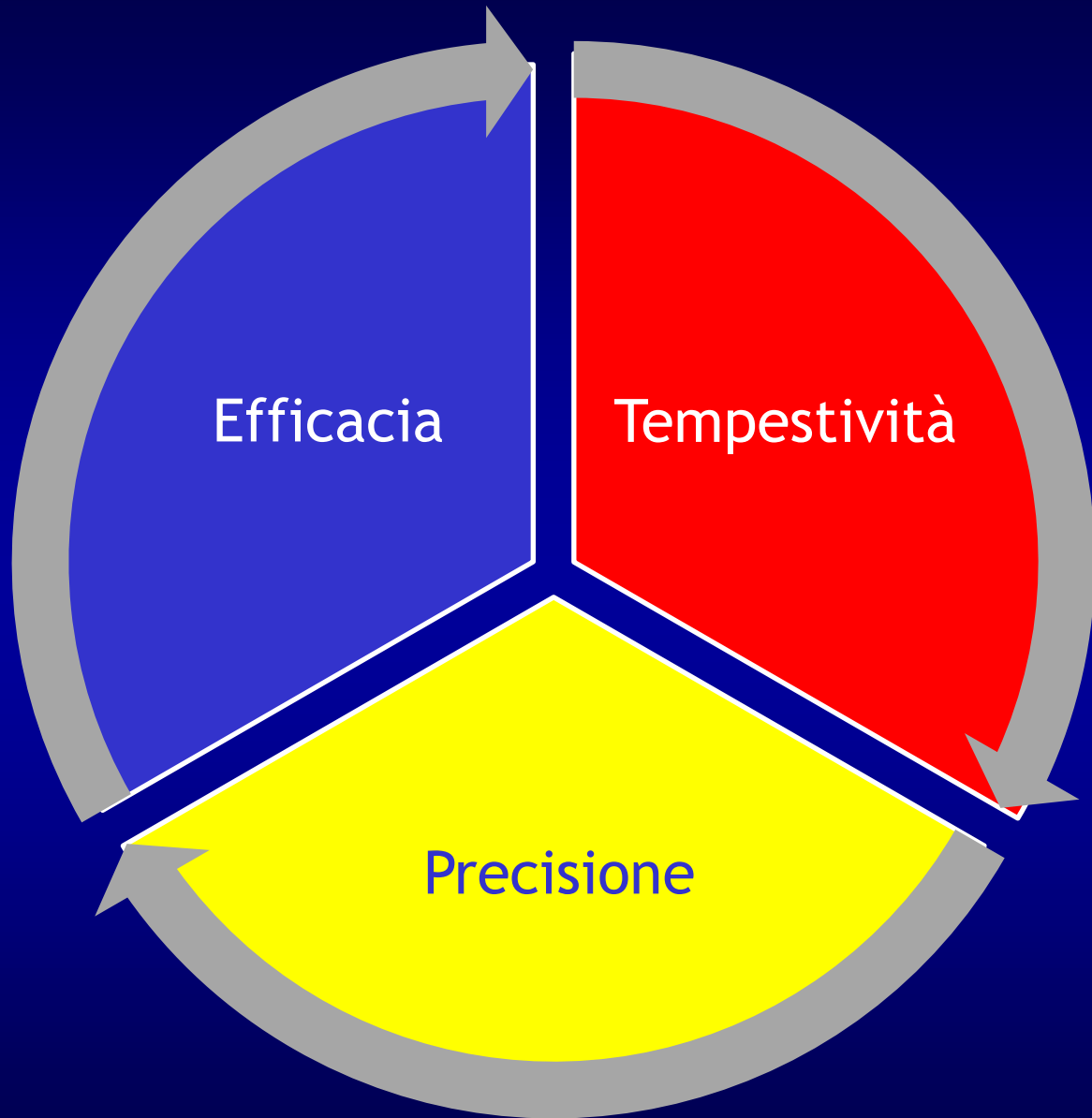
(Carl Osborne, 1973)

È UN PROCESSO, NEL QUALE SI
INQUADRANO, IN MODO OGGETTIVO,
ORIGINE, ATTUALITÀ E SOLUZIONI DI
UN PROBLEMA SANITARIO



Gli elementi "base"



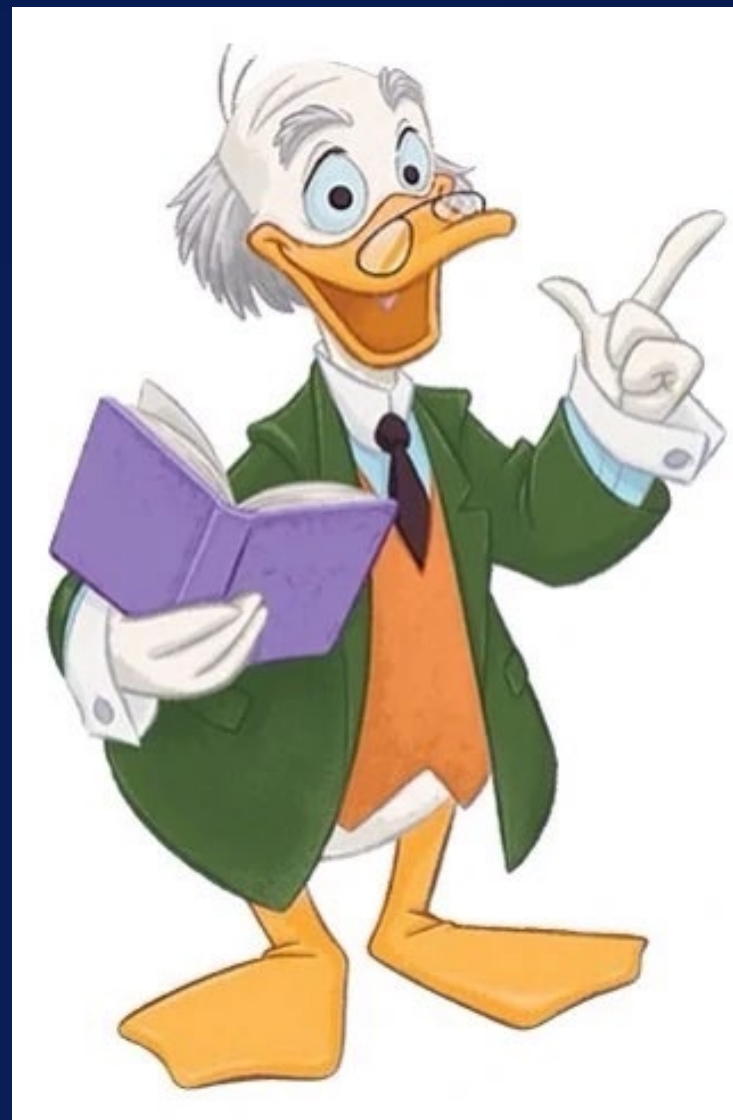


Efficacia

Tempestività

Precisione

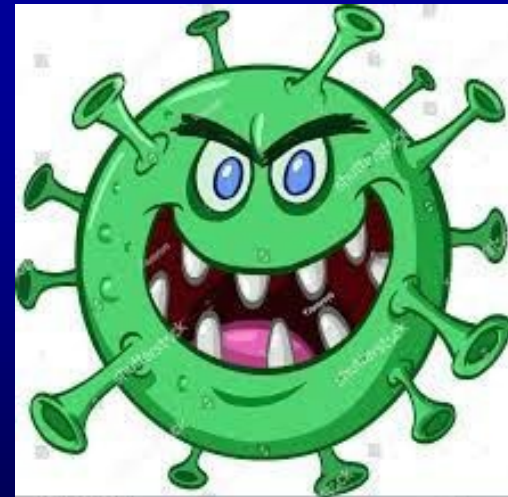
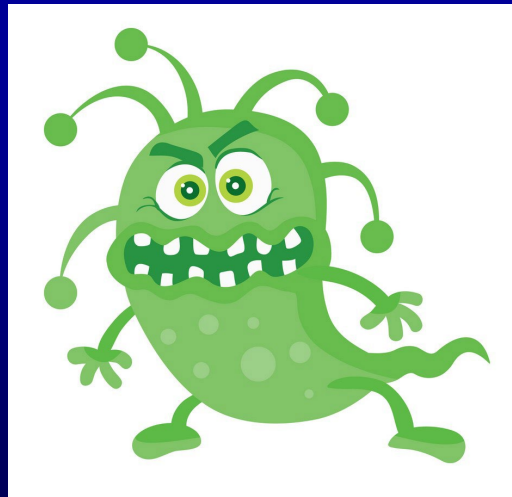
Ma anche...



CONOSCENZA



Conoscere le caratteristiche biologiche di un agente patogeno, in termini di sopravvivenza, modalità di diffusione, infettività, patogenicità e virulenza, significa saper leggere le sue manifestazioni in allevamento.



Età

Sottoscrofa

Svezzamento

Accr./ingrasso

Adulti

E.coli

E.coli

E.coli

C.perfringens C

C.difficile

Enterococcus sp.

Isospora suis

Rotavirus

C.perfringens A

TGE

PED

Lawsonia

Lawsonia

Salmonella

Brachyspira spp.





ESPERIENZA



= analisi critica dei risultati ottenuti (positivi e negativi)

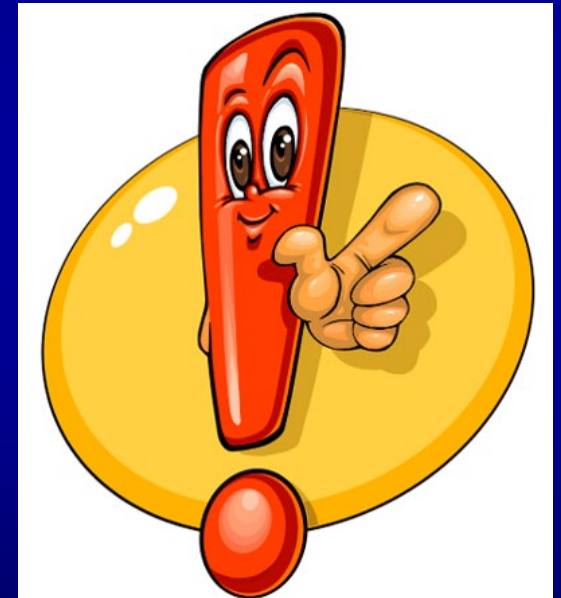


Allora, ci servono...

-  Una metodologia programmata d'indagine
-  La regolarizzazione dei rilievi (evidenze oggettive)
-  La produzione di dati confrontabili
-  La gestione analitica dello "storico" aziendale

PER DECIDERE QUANDO INTERVENIRE:

- Casi: numero, gravità ed esito
- Frequenza: nella fase e nei gruppi
- Distribuzione: nella fase e nei gruppi
- Conseguenze: permanenza del danno
- Interferenze: sulla produzione
- Costi: rispetto ai vantaggi possibili



La diagnosi è soprattutto un percorso





2) osservazione
epidemiologica

3) osservazione
clinica

4) osservazione
anatomo-patologica

1) anamnesi

PROCESSO
DIAGNOSTICO

5) SOSPETTO
DI MALATTIA

10) indicazioni
operative

6) campionamento

9) produzione
dei risultati

8) accertamenti
diagnostici

7) invio al
laboratorio



Azienda

- Strutture di allevamento
- Situazioni ambientali
- Flussi e tempi di fase
- Alimentazione/ razione
- Numerosità degli animali
- Genetica

Gestione Sanitaria

- Programma vaccinale
- Interventi terapeutici
- Altri interventi
- Manualità routinarie

1) ANAMNESI

(Recente e Remota)

Attualità del problema

- Modalità di comparsa ed evoluzione
- Frequenza nel tempo
- Diagnosi eseguite
- Esito degli Interventi terapeutici

Animali

- Et  d'insorgenza
- Morbilit 
- Mortalit 
- Soggetti colpiti (numero)
- Ripetitivit  sui cicli

Fasi produttive

- Fase e periodo prevalente
- Fase precedente
- Fase successiva (sequele e postumi)

2) OSSERVAZIONE EPIDEMIOLOGICA

(descrizione e caratterizzazione del problema in corso)

Distribuzione e localizzazione

- distribuzione (locali e box)
- Modalit  di diffusione
- Fattori di amplificazione

Animali

- Sintomi prevalenti
- Variabilità dei sintomi
- Livello di crescita dei soggetti colpiti
- Reattività individuale

Gruppo

- Presenza contemporanea di fasi evolutive
- Durata del ciclo sintomatologico
- Numero di guarigioni
- Sequele e recidive

3) OSSERVAZIONE CLINICA

(manifestazioni visibili del problema in corso)

Interventi terapeutici

- Diagnosi (antibiogrammi) disponibili
- Terapie già iniziate
- Esito visibile

Carcasse

- Tempi e modalità di conservazione
- Disponibilità del personale
- Collaborazione

4) OSSERVAZIONE ANATOMO-PATOLOGICA (da condurre in allevamento)

Necroscopie

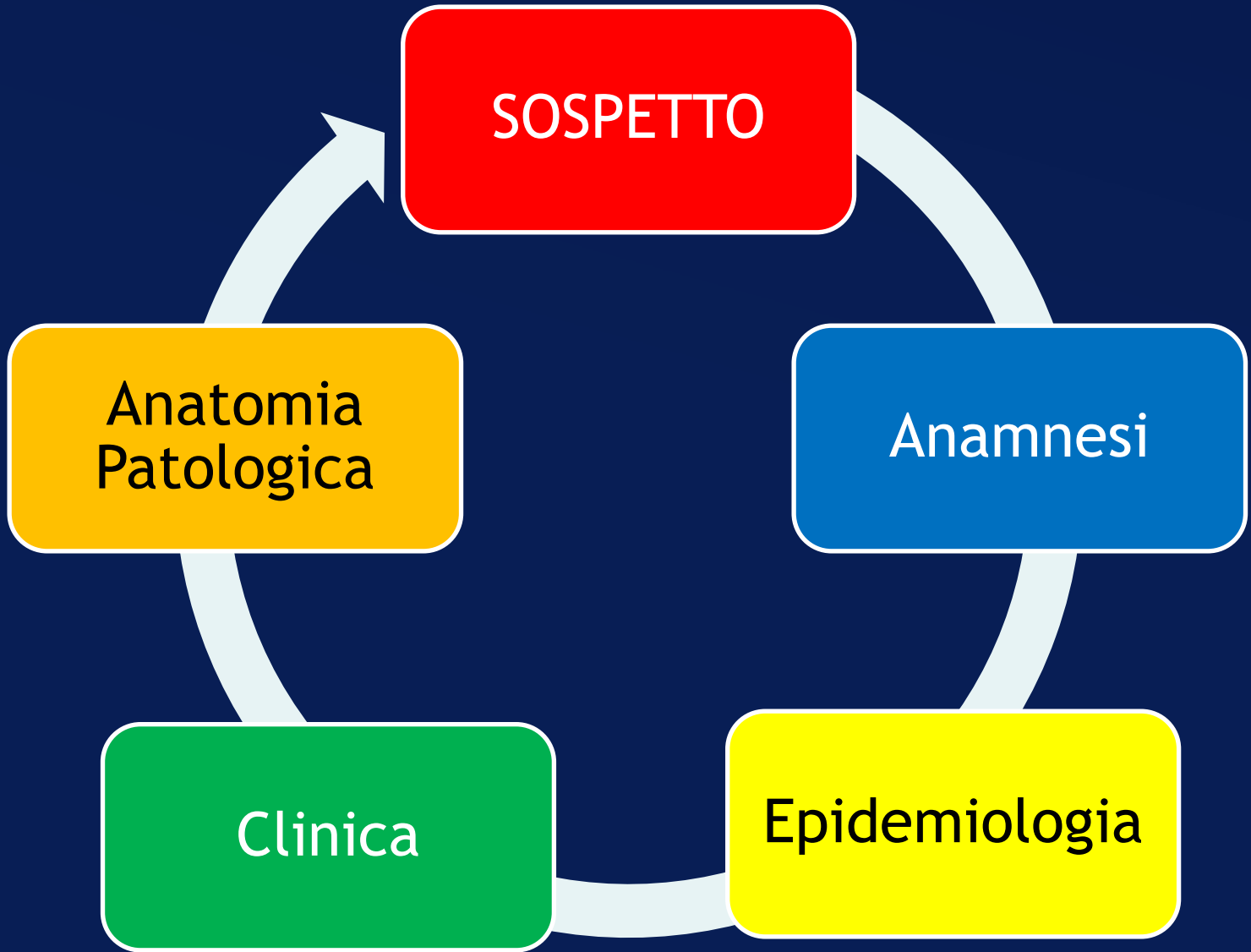
- Numero di interventi
- Considerazione delle lesioni
- Corrispondenza (riferibilità) all'osservazione clinica

Un utile strumento operativo



Elenco esaustivo di verifiche da eseguire per condurre efficacemente una determinata attività

- ✓ È un documento di processo
- ✓ Più propriamente è lo strumento per la "verifica procedurale" del processo stesso
- ✓ Lascia traccia delle attività eseguite e può essere utilizzata anche a posteriori per confronto con verifiche successive dello stesso processo



SOSPETTO

Anamnesi

Epidemiologia

Clinica

Anatomia
Patologica

Verifica del Sospetto Diagnostico

```
graph TD; A[Verifica del Sospetto Diagnostico] --> B[Campionamento]; A --> C[Prelievi in vita]; A --> D[Prelievi post-mortem];
```

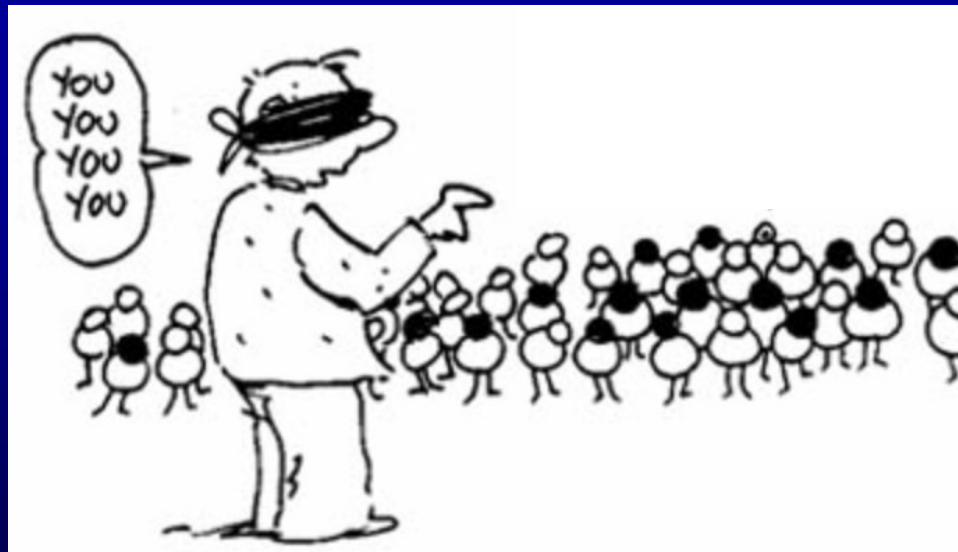
Campionamento

Prelievi
in vita

Prelievi
post-mortem

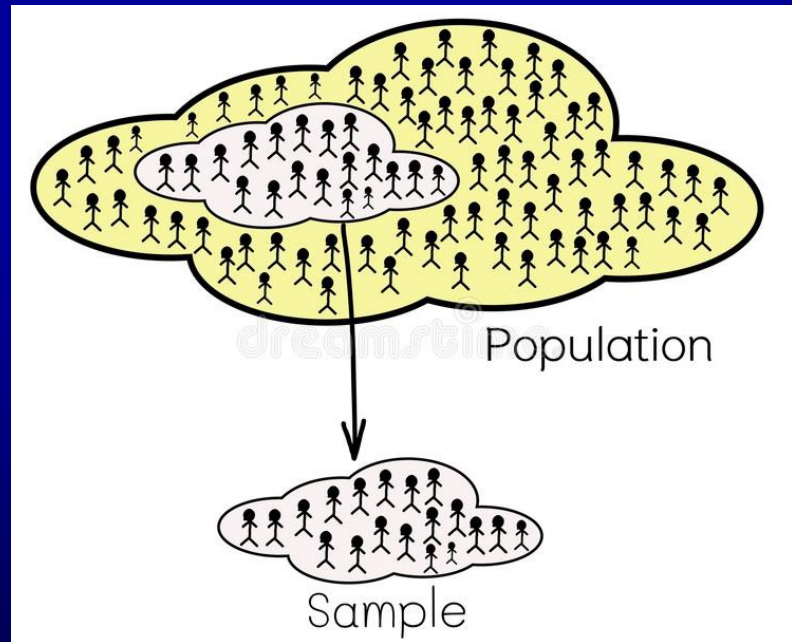
Campionamento

Metodo attraverso cui alcuni componenti sono selezionati come rappresentativi di un'intera popolazione

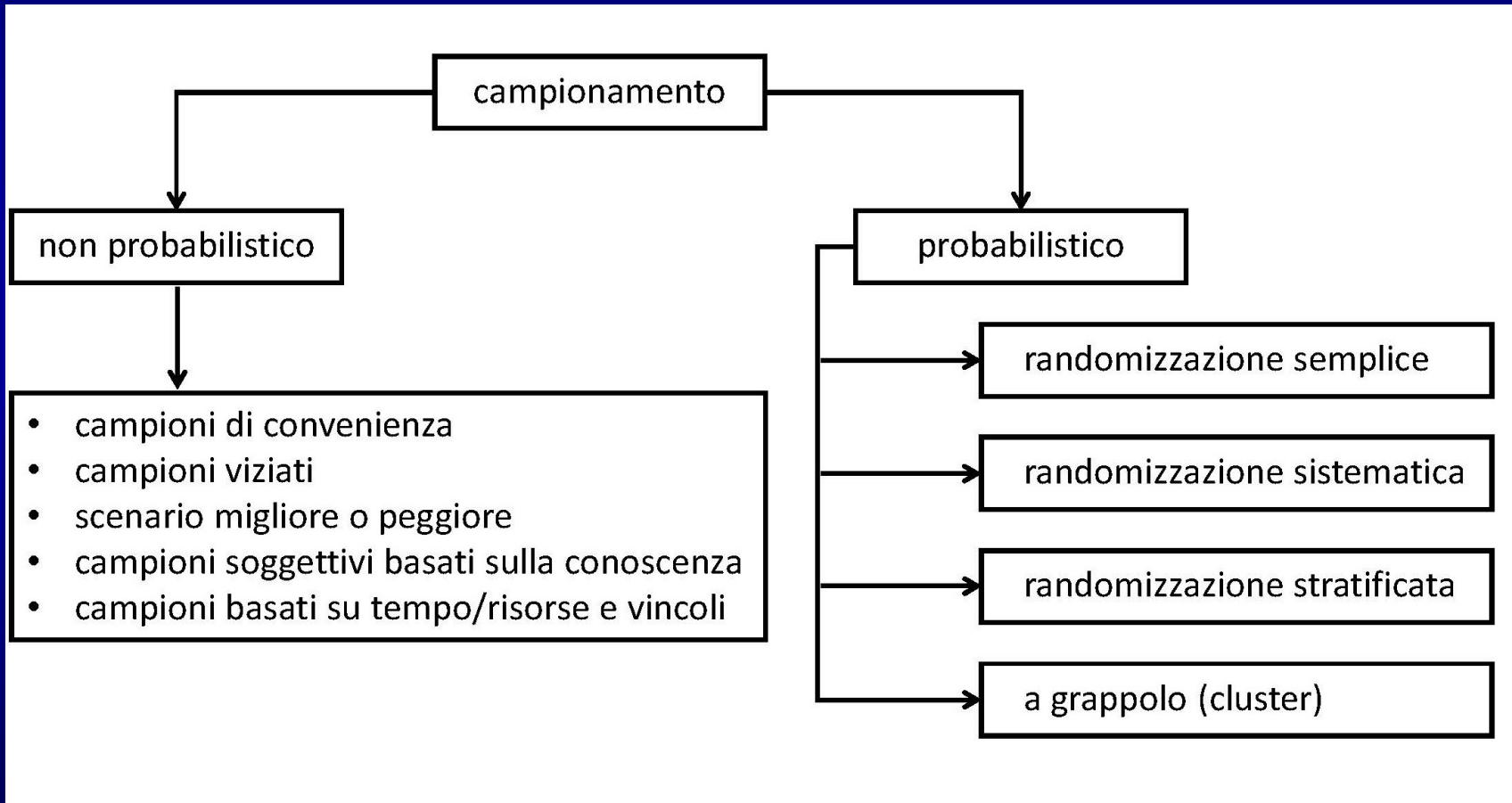


Rappresentatività

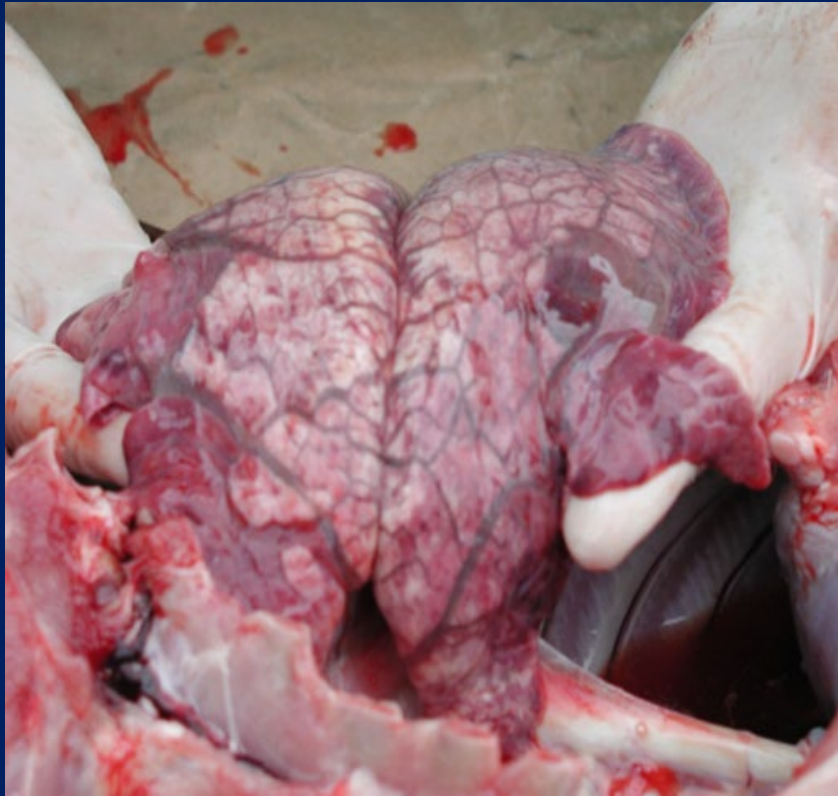
Un campione è rappresentativo
quando riproduce le
caratteristiche della
popolazione da cui
proviene



Tipologia di Campionamento



Selezione e raccolta dei campioni



Informazioni ottenibili da un campione

- 🧴 Presenza/assenza di una malattia
- 🧴 Proporzione di soggetti malati (prevalenza)
- 🧴 Proporzione di soggetti esposti



Aspetti

quantitativi



QUANTI soggetti
esaminare
per ottenere una stima
attendibile

qualitativi



QUALI soggetti esaminare
per ottenere una stima
attendibile

Aspetti



DIAGNOSI
CORRETTA

SELEZIONE DEGLI ANIMALI PER I PRELIEVI

QUALITÀ DEI MATERIALI PRELEVATI

DIMENSIONI DEL CAMPIONAMENTO



Attendibilità e utilità pratica del lavoro del laboratorio diagnostico dipendono dalle scelte del veterinario in azienda

PRELIEVI IN VITA



Fase sintomatologica acuta della malattia

Fasi evolutive (sindromi poli-eziologiche)

Problema dei trattamenti antibatterici

Cinetica immunitaria → Siero-screening

PRELIEVI POST-MORTEM



Tempistica della necropsia

Lesioni correlate all'osservazione clinica

Lesioni riferibili alla medesima causa

Evidenza ripetitiva su più soggetti (tempi)

SEGNALAMENTO DEI CAMPIONI



PRELIEVI PER BATTERIOLOGIA

PRELIEVI CHIUSI

- ✓ Organi o ambiti senza contatto con l'esterno
- ✓ Usualmente sterili (degrado limitato)

PRELIEVI APERTI

- ✓ Organi o ambiti in contatto con l'esterno
- ✓ Colonizzati da flora saprofita (degradabili)

GESTIONE

- ✓ Refrigerazione, consegna entro max 12 ore
- ✓ Congelamento: preserva solo i Gram +
- ✓ Mai congelare le feci!

Importanza del campionamento: Ricerca Salmonella spp.

(1000 capi, Prevalenza stimata del 20%)

Positività al campionamento

🏠 tamponi rettali: 1,6%

🏠 1 g: 4%

🏠 10 g: 9,5%

🏠 25 g: 14,3%






Qualifica dell'allevamento

🏠 30 prelievi da 25 o 10 g: sufficienti

🏠 30 prelievi da 1 g: insufficienti

Laboratorio Diagnostico

-  Accordo di collaborazione continuativa
-  Panel concordato di prove (tempi e costi)
-  Accreditato ISO 17025:2018



Banche Dati

ACCREDITAMENTI ^

- Organismi accreditati e riconosciuti
- **Laboratori di prova**
 - Acronimi dei metodi di prova
- Laboratori medici
- Organizzatori di prove valutative interlaboratorio
- Laboratori di taratura
- Produttori di materiali di riferimento
- Biobanche

CERTIFICAZIONI v

STATISTICHE v

Laboratori di prova

Selezionare i criteri desiderati e cliccare sul pulsante Cerca.

Ricerca laboratori di prova

Mostra i laboratori che soddisfano

TUTTE le seguenti condizioni

Numero di accreditamento
(inserire solo il numero senza la lettera L identificativa dello schema)

Nome del laboratorio

Anche

Denominazione della prova

Anche

Materiale/prodotto/matrice sottoposta a prova

Anche

Norma/metodo di prova

Anche

Settore tecnico del laboratorio

Acustica
Analisi Cliniche
Biochimico
Biologia

Regione o Provincia

ABRUZZO
- L'Aquila
- Chieti
- Pescara

RESET

CERCA

Mostra tutti i laboratori di prova accreditati

TUTTI

ITER BATTERIOLOGICO

ESAME BATTERIOLOGICO

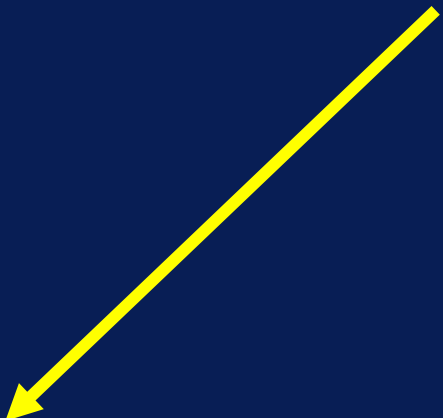
Generico

Selettivo (passaggi)

ISOLAMENTO E
IDENTIFICAZIONE

TEST DI SENSIBILITÀ
AGLI ANTIMICROBICI

FATTORI DI PATOGENICITÀ



PRELIEVI PER VIROLOGIA

TEMPI

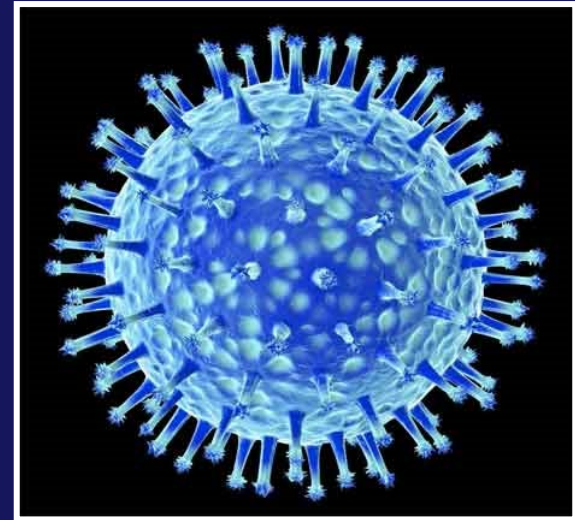
- ✓ Prelevare all'inizio dei sintomi
- ✓ Cellularità del campione
- ✓ Carica virale in progressiva diminuzione
- ✓ Risposta immunitaria locale

GESTIONE

- ✓ Congelare immediatamente dopo il prelievo
- ✓ Resistenza differenziata dei virus
- ✓ Azione citotossica e virucida delle tossine batteriche

RESISTENZA DEI VIRUS

- DNA: elevata
- RNA: ridotta
- Envelope (glicoproteine): labile



Resistenza elevata: DNA senza envelope

Labilità elevata: RNA con envelope

ITER VIROLOGICO

ISOLAMENTO

Monostrati cellulari
Uova embrionate di pollo

IDENTIFICAZIONE

IMMUNO-
FLUORESCENZA

IMMUNO-
ISTOCHEMICA

BIOLOGIA
MOLECOLARE

MICROSCOPIA
ELETTRONICA

SIEROLOGIA

BIOLOGIA MOLECOLARE



PCR



PCR REAL TIME/quantitativa

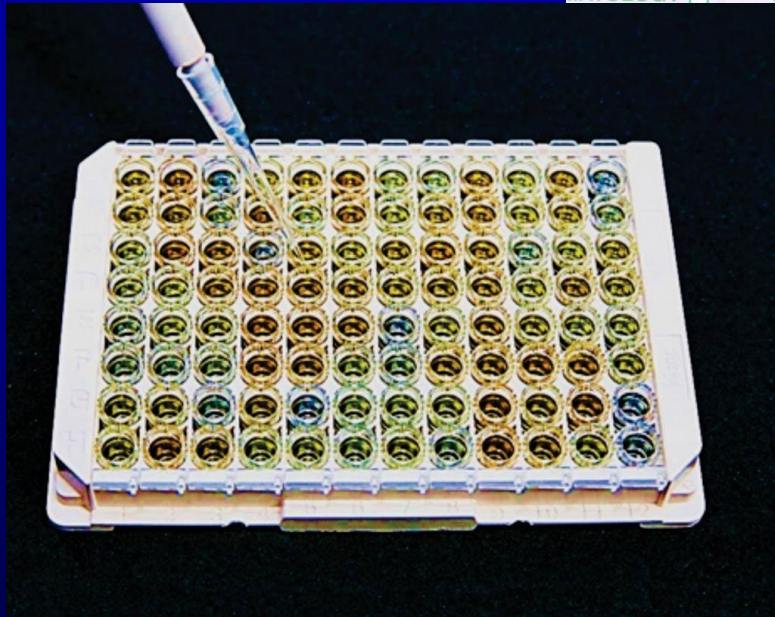


Sequenziamento



MLST (MultiLocus Sequence Typing)

DIAGNOSTICA SIEROLOGICA

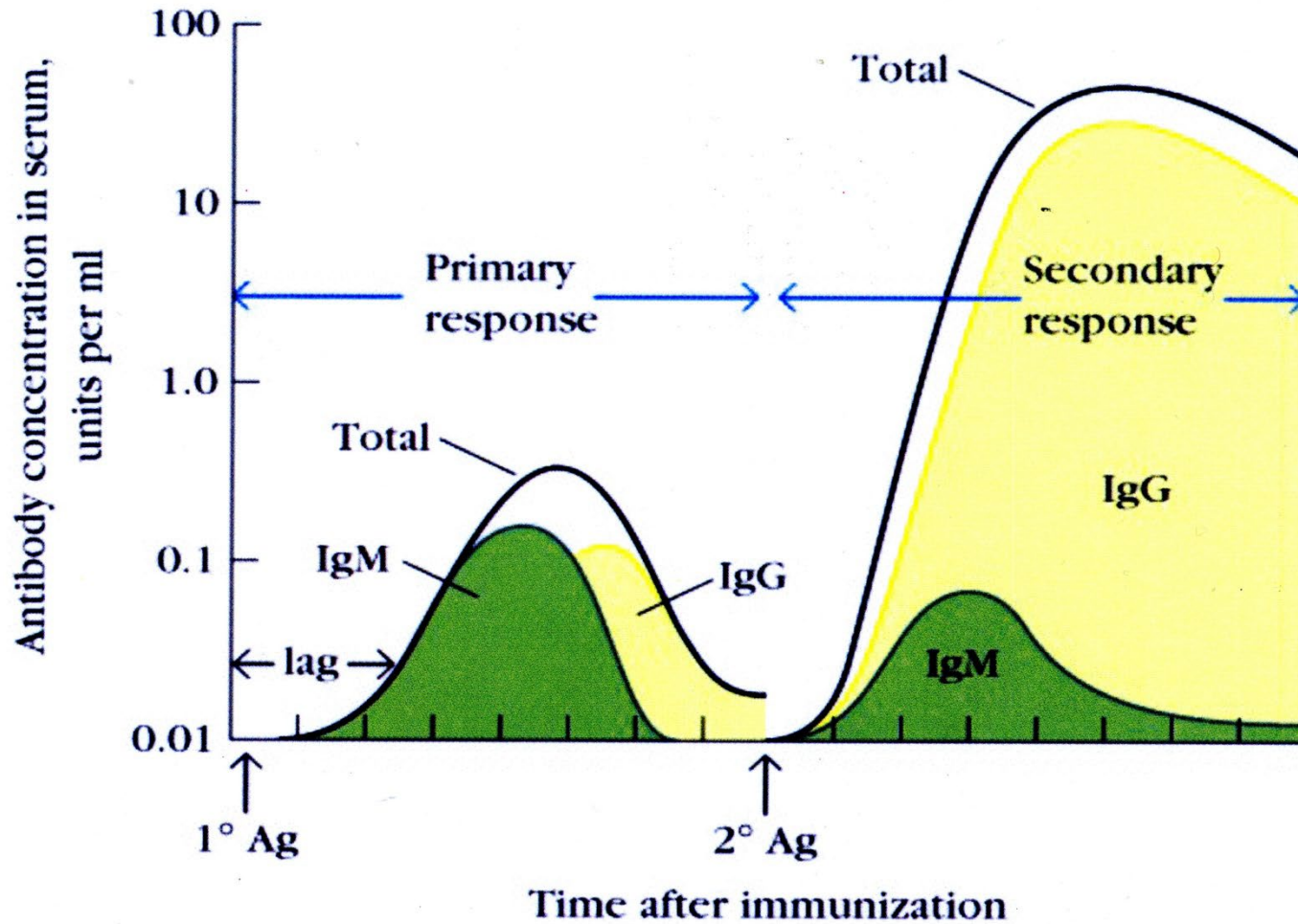


Immunità di derivazione materna

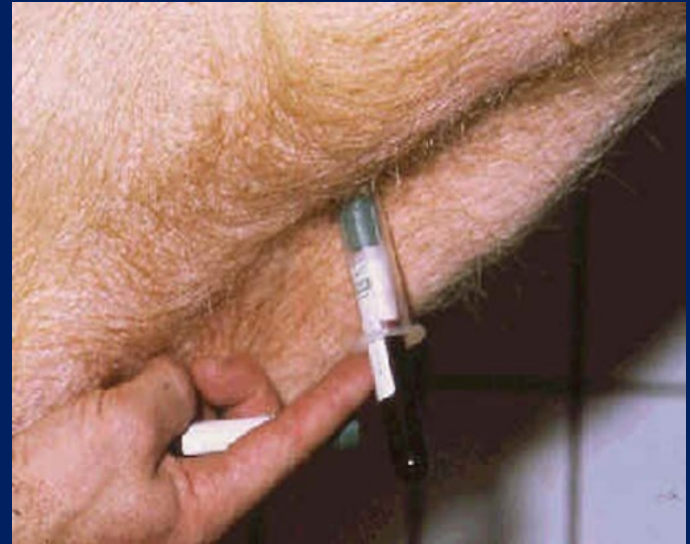
patogeno	durata (giorni)
PRRSV	24
PRV	60-70
M. hyopneumoniae	42 (?)
E. coli, salmonelle	30
S. suis	40
B. bronchiseptica P. multocida	40

(Autori vari)

Cinetica della risposta immunitaria

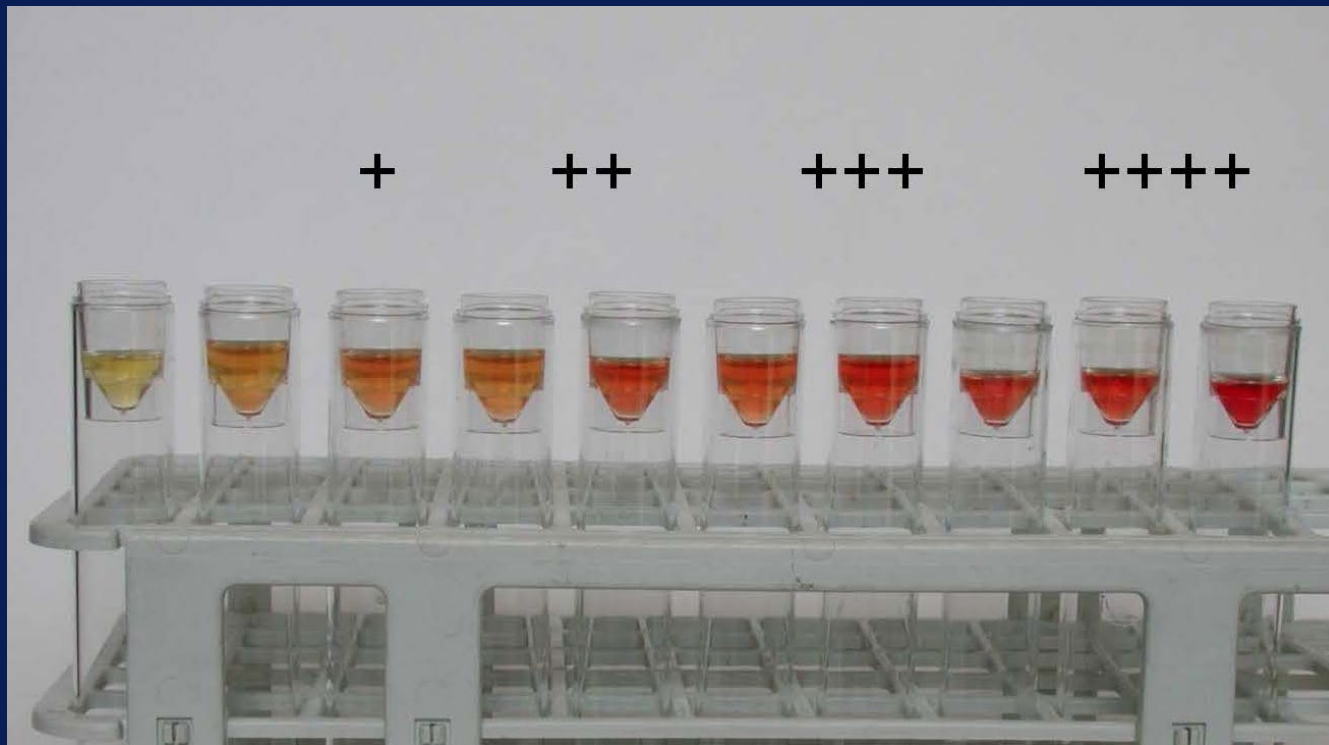


GESTIONE DEL CAMPIONE EMATICO



- 🗑️ formazione del coagulo: 3-4 ore a T° ambiente, poi in frigorifero
- 🗑️ **no coagulazione in frigorifero (possibile alterazione del profilo anticorpale)**
- 🗑️ rimozione del coagulo: il più presto possibile, comunque non oltre 24 ore (emolisi!!!)

L'emolisi del campione impedisce il suo
impiego nelle tecniche sierologiche basate
su una valutazione ottica del risultato



Tecniche sierologiche

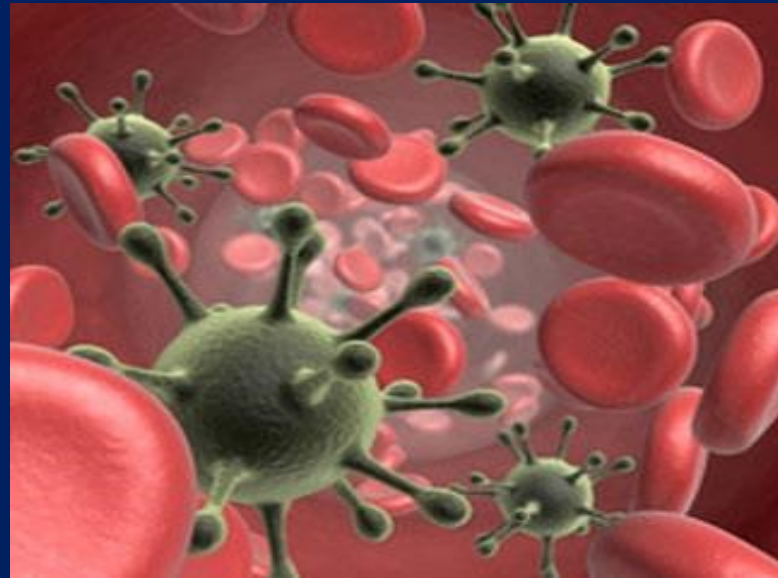
Target in suinocoltura



Rapidità
Numerosità
Costo contenuto

ELISA
SIERONEUTRALIZZAZIONE
AGAR-GEL IMMUNO-DIFFUSIONE
FISSAZIONE DEL COMPLEMENTO
IMMUNOFLUORESCENZA INDIRETTA
INIBIZIONE DELL'EMOAGGLUTINAZIONE

Interpretazione



Sieropositività

Contatto pregresso con l'agente patogeno

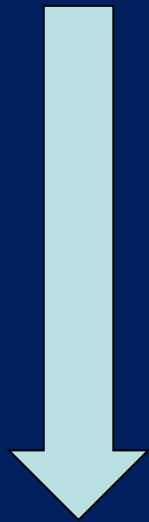
Non sempre protezione

Sieronegatività

Nessun contatto con l'agente patogeno

RECETTIVITÀ !!!

Rapporto di Prova
(referto)



Indicazioni Operative
(allevamento)





L'organizzazione della diagnostica nelle malattie infettive del suino

Pianificazione, fasi operative e criteri di scelta

(in vivo e post-mortem)

GRAZIE, alla prossima...

Vittorio Sala

Ordinario di Malattie Infettive degli Animali Domestici