

## DIAGNOSTICA DI LABORATORIO DELLE MALATTIE INFETTIVE

---

---

---

---

---

---

---

---

La metodologia diagnostica può essere ricondotta a quattro punti fondamentali e consequenziali fra loro

- Anamnesi
- Rilievi anatomo-patologici
- Scelta e prelievo dei materiali per le indagini di laboratorio
- Diagnosi di laboratorio

---

---

---

---

---

---

---

---

### ANAMNESI

- Va condotta in modo accurato
- Permette di sospettare la presenza di una malattia
- Si raccolgono i seguenti dati:
  - \*struttura dell'allevamento
  - \*presenza di animali appartenenti a specie diverse
  - \*condizioni generali degli ambienti
  - \*introduzione di nuovi soggetti
  - \*periodo d'incubazione
  - \*morbilità e letalità

---

---

---

---

---

---

---

---

## RILIEVI CLINICI ED ANATOMOPATOLOGICI

- Rilievo termoscopico
- Sintomi clinici
  - infezione localizzata
  - infezione generalizzata

- L'apertura della carcassa va eseguita con la massima cura ed igiene

- Raccolta di campioni per gli esami istologici

---

---

---

---

---

---

---

---

## SCELTA E PRELIEVO DEI MATERIALI PER LE INDAGINI DI LABORATORIO

Eeguire i prelievi con estrema attenzione per evitare stress e/o danni all'animale e/o all'operatore

Selezionare gli animali in base alla presenza di segni o di lesioni caratteristiche

Generalmente si invia al laboratorio una combinazione di:

- sangue coagulato
- sangue intero
- tessuti di animali morti o sacrificati con sintomi in atto

Gli strumenti necessari per il prelievo variano a seconda del campionamento che si vuole eseguire

---

---

---

---

---

---

---

---

## SANGUE

Può essere prelevato intero o coagulato

### Intero

Serve per eseguire esami ematologici, batteriologici, virali e protozoari

### Coagulato

Indagini sierologiche

Va prelevato da una vena

Il prelievo può essere eseguito

- siringa e ago
- ago e provetta con vuoto
- ago a sezione triangolare e contenitore

Dopo il prelievo va inviato al laboratorio per le indagini richieste

---

---

---

---

---

---

---

---

## TESSUTI

Utilizzare ferri sterili

### Il prelievo serve per:

esami batteriologici, virali e parassitari      esami istopatologici

Ogni campione va posto in un contenitore sterile  
a chiusura ermetica ed etichettato con data ed estremi identificativi

Consegnare immediatamente al laboratorio

1-2 cm<sup>2</sup>

Per l'esame istologico il campione  
va posto in formalina tamponata o  
analogo conservante

Dopo il prelievo va inviato al laboratorio per le indagini richieste

Altri campioni: feci, cute, ambiente (lettiera, aria, mangime, acqua...)

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## INFORMAZIONI DA INVIARE AL LABORATORIO

- Nome e indirizzo del proprietario
- specie allevate e numero
- specie colpite
- data del primo caso e susseguenti casi e perdite
- descrizione della diffusione della malattia nell'allevamento
- numero degli animali morti, del numero dei colpiti e delle rispettive età
- segni clinici e loro durata, eventuali lesioni e loro localizzazione, dati sulla produzione
- lista e descrizione dei campioni sottoposti per l'esame
- elenco degli interventi terapeutici eseguiti
- tests richiesti ed eventuale diagnosi presuntiva
- nome e indirizzo del medico veterinario

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## TRASPORTO DEI CAMPIONI

- Inviare i campioni ben imballati
  - contenitori e/o bottiglie con tappo a vite
- identificare i campioni
- per invio di materiale potenzialmente pericoloso (afta, rabbia, ecc.) consultare le norme vigenti ed eventualmente i responsabili di laboratorio

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## DIAGNOSI DI LABORATORIO

L'isolamento di un virus o di un batterio implica l'impiego di particolari tecniche che richiedono giorni o settimane prima dell'identificazione



Ne consegue



SPESSO I RISULTATI DELLE PROVE DIAGNOSTICHE SONO DISPONIBILI DOPO CHE IL PAZIENTE SI E' RISTABILITO O ADDIRITTURA MORTO

---

---

---

---

---

---

---

---

## ISOLAMENTO ED IDENTIFICAZIONE DI VIRUS DA ANIMALI INFETTI

Si utilizzano substrati biologici:

- animali da laboratorio
- colture cellulari
- uova embrionate di pollo

---

---

---

---

---

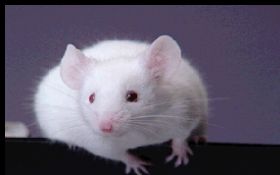
---

---

---

## ANIMALI DI LABORATORIO

- Vengono principalmente utilizzati cavie, conigli, topolini



---

---

---

---

---

---

---

---

Dopo l'inoculazione gli animali vengono tenuti in osservazione

Gli effetti osservabili sono:

- la sierconversione
- lo sviluppo della malattia
- la morte

---

---

---

---

---

---

---

---

## UOVA EMBRIONATE

- Molto utilizzate nel passato
- Oggi sono state sostituite dalle colture cellulari
- Possono essere inoculate per diverse vie:
  - sacco vitellino
  - cavità allantoidea
  - membrana corion-allantoidea

---

---

---

---

---

---

---

---

•Gli effetti della replicazione virale sono:

- arresto dello sviluppo embrionale
- lesioni o morte embrionale
- comparsa di attività emoagglutinante
- presenza di placche

---

---

---

---

---

---

---

---

## STADIO DI SVILUPPO EMBRIONARIO SCELTO PER L'INOCULAZIONE

- Cavit  allantoidea
  - 7-11 gg
- cavit  amniotica
  - 7-14 gg
- sacco vitellino
  - 5-7 gg.
- membrana corion-allantoidea
  - 10-12 gg.
- endovenosa
  - 8-11 gg.

---

---

---

---

---

---

---

---

## COLTURE CELLULARI

- Rappresentano il principale e pi  importante sistema utilizzato per l'isolamento dei virus
- Sono di tre tipi:
  - colture cellulari primarie
  - colture cellulari continue
  - espianti d'organo

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---




---

---

---

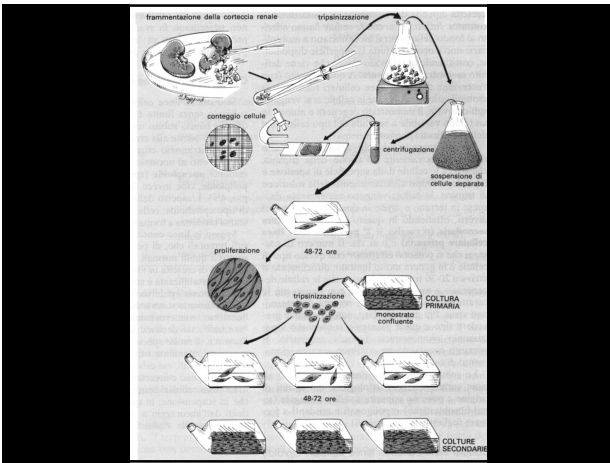
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

•Gli effetti osservabili sono:

- l'effetto citopatico
- le lesioni cellulari
- emoadsorbimento
- placche

---

---

---

---

---

---

---

---

## IDENTIFICAZIONE VIRALE

- Permette la classificazione in famiglia, genere e specie:
  - acido nucleico
  - forma
  - struttura e dimensioni
  - presenza/assenza di envelope
  - resistenza pH acido ed al calore
  - capacita HA
  - ecc.

*Per l'identificazione di specie si studiano gli effetti di antisieri su potere infettante, emoadsorbimento, emoagglutinazione, fissazione del complemento, comparsa di fluorescenza, test immunoenzimatici*

---

---

---

---

---

---

---

---

## ISOLAMENTO DI BATTERI



---

---

---

---

---

---

---

---

Colorazione dei batteri e prime prove biochimiche:  
catalasi, ossidasi, ecc

Scelta ed inoculazione di terreni differenziali

INCUBAZIONE

Letture dei tests differenziali - Identificazione sierologica

---

---

---

---

---

---

---

---



## IMMUNODIAGNOSI

- Si utilizza per:
  - diagnosi delle infezioni;
  - conoscenza dello status immunitario
- Le prove sierologiche più utilizzate sono:
  - precipitazione
  - agglutinazione
  - inibizione dell'emoagglutinazione
  - fissazione del complemento
  - sieroneutralizzazione
  - immunofluorescenza
  - tecniche immunoenzimatiche

---

---

---

---

---

---

---

---

## IMMUNODIAGNOSI

- Si suddividono in reazioni di legame e di attività

\* precipitazione  
\* agglutinazione  
\* AGI D  
\* fissazione del complemento  
\* immunofluorescenza  
\* tecniche immunoenzimatiche

^ inibizione dell'emoagglutinazione  
^ sieroneutralizzazione

---

---

---

---

---

---

---

---

## NUOVE TENDENZE NELLA DIAGNOSI DI LABORATORIO

Sono diversi i "nuovi" sistemi legati alla diagnosi delle malattie infettive:

- anticorpi monoclonali
- sonde di acidi nucleici
- polymerase chain reaction (PCR)
- ecc.

---

---

---

---

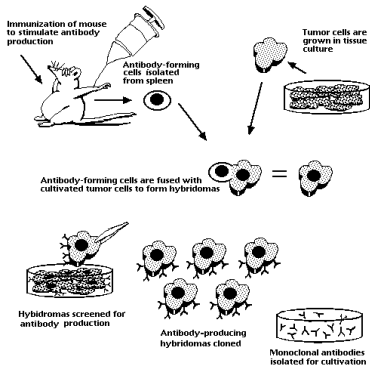
---

---

---

---

### Monoclonal Antibody Production



---

---

---

---

---

---

---

---