

Protocollo d'indagine diagnostica nei focolai di brucellosi bovina, bufalina o ovi-caprina

Istruzioni per il prelievo, conservazione ed invio dei campioni al Laboratorio

Organi e tessuti di elezione da prelevare per la ricerca della *Brucella* spp.

Al mattatoio: linfonodi sopramammari (nelle femmine), linfonodi inguinali superficiali (nei maschi), linfonodi mandibolari, linfonodi retrofaringei, linfonodi iliaci interni, milza, mammella (nelle femmine), vescicole seminali (nei maschi), testicoli (nei maschi). Nel caso di femmine gravide: utero gravido, liquido amniotico.

Su animali vivi: sangue intero, tamponi vaginali ad animali che hanno partorito da non più di 30 giorni, latte/colostro/placenta ove disponibile dagli animali per i quali l'infezione brucellare è sospettata o confermata.

In caso di aborto: feto abortito, placenta.

Inoltre, in caso di presenza di formaggi ed altri derivati del latte, prodotti da latte crudo non trattato termicamente, e con meno di 30 giorni di stagionatura.

Durante il prelievo, è importante evitare eventuali contaminazioni tra i campioni e identificare i contenitori con l'identificativo dell'animale sottoposto a prelievo, numero da ripetere anche su provette e sacchetti utilizzati per la raccolta. Nel prelievo degli organi seguire le istruzioni seguenti:

- I linfonodi devono essere prelevati ed inviati integri, possibilmente con abbondante tessuto adiposo peri-linfonodale.
- Dal parenchima splenico deve essere prelevata ed inviata una porzione di circa 4 cm².
- L'utero gravido deve essere asportato a livello della cervice in maniera da non permettere la fuoriuscita dei liquidi intra-uterini ed inviato tal quale.
- La porzione di placenta da prelevare e da inviare deve comprendere almeno due cotiledoni.
- Dal parenchima mammario prelevare una porzione di circa 4 cm² di parenchima.
- I testicoli possono essere prelevati integri ed in numero di uno per animale.
- Le vescicole seminali devono essere prelevate integre ed inviate nella loro totalità.
- Il latte ed il liquido amniotico devono essere prelevati con una siringa sterile per un volume pari a 10-20 ml e posti in provette con chiusura ermetica e assicurarsi che siano chiuse perfettamente.

Allegato 2

Si raccomanda di eseguire le operazioni di prelievo avendo cura di:

- Usare strumenti puliti e sterili (es. bisturi monouso) per il prelievo di organi e di parti d'organo;
- sanificare gli strumenti non a perdere con apposito disinfettante (es. Virkon 1% per 10 minuti) dopo ogni prelievo e prima di un successivo utilizzo.

Si raccomanda di osservare scrupolosamente le norme di biosicurezza per garantire la salute delle persone ed evitare contaminazione dell'ambiente durante tutte le fasi di prelievo e stoccaggio dei campioni e di evitare, in particolare, imbrattamenti esterni degli involucri di trasporto del materiale raccolto (sacchetti, contenitori, cassetta, ecc.)

Le provette utilizzate per la raccolta del sangue devono essere riempite per metà della loro capacità ed essere poste, subito dopo il prelievo, in posizione orizzontale per favorire la separazione del siero. I contenitori con il sangue non devono essere agitati né refrigerati prima che si sia formato il coagulo.

Conservazione ed invio dei campioni

I campioni devono essere conservati ed inviati refrigerati se il tempo che intercorre tra il prelievo e l'invio non supera le 24h, altrimenti devono essere conservati a -20°C ed inviati refrigerati entro 48h ai laboratori, garantendo la catena del freddo.

I campioni devono essere posti in contenitore a tenuta termica contenente panetti refrigeranti, e pervenire al laboratorio ancora congelati o comunque a temperatura refrigerata ($\leq 4^{\circ}\text{C}$).

I campioni dovranno essere confezionati singolarmente in contenitori sterili a tenuta ed identificati con etichettatura riportante il n° di matricola dell'animale e la descrizione dell'organo contenuto. Il confezionamento dei campioni diagnostici per il trasporto prevede l'utilizzo di 3 involucri (recipiente primario, secondario ed esterno). Si raccomanda di accertare sempre la corretta chiusura del contenitore primario per evitare fuoriuscite.

Per le modalità di confezionamento e trasporto dei campioni attenersi alle regole ADR, che definiscono le modalità di classificazione, confezionamento e trasporto di campioni biologici, e riportare sempre il codice di classificazione della merce sul contenitore esterno (es. UN3373).

Per quanto non espressamente previsto dal presente protocollo si rinvia a quanto disposto dal decreto del Ministro della Salute 2 maggio 2024.

NRG _____	Data ____/____/____
-----------	---------------------

Scheda di accompagnamento campioni per isolamento di *Brucella* spp.

Servizio veterinario di _____

Luogo del prelievo (barrare la casella specifica) : Prelievo al mattatoio Prelievo in azienda

Data Prelievo ____/____/____

Codice Macello _____ Telefono _____

Via _____ N° _____ Comune _____ Prov. _____

Codice identificativo azienda¹: |_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|

Denominazione azienda: _____

Proprietario: _____

Detentore: _____

Comune _____ Provincia _____

Specie animale²: _____ Numero totale capi prelevati |_|_|

Numero totale campioni conferiti |_|_|

Veterinario responsabile:

Nome e cognome _____

Telefono _____ email _____

¹ Nel caso di prelievi al mattatoio riportare l'azienda di provenienza degli animali

² Utilizzare schede diverse se sono prelevati campioni a specie diverse di animali

Allegato 2

Contrassegno identificazione animale (marca auricolare)	Campioni prelevati (1)		
_____	<input type="checkbox"/> Ln. sopramammari (F) <input type="checkbox"/> Ln. inguinali superf. (M) <input type="checkbox"/> Ln. mandibolari <input type="checkbox"/> Ln. retrofaringei <input type="checkbox"/> Ln. iliaci interni <input type="checkbox"/> Milza	<input type="checkbox"/> Utero gravido <input type="checkbox"/> Liquido amniotico <input type="checkbox"/> Placenta <input type="checkbox"/> Mammella <input type="checkbox"/> Vescicole seminali <input type="checkbox"/> Testicoli	<input type="checkbox"/> Sangue <input type="checkbox"/> Latte <input type="checkbox"/> Formaggi <input type="checkbox"/> Tampone vaginale <input type="checkbox"/> Colostro <input type="checkbox"/> Altro (specificare)
_____	<input type="checkbox"/> Ln. sopramammari (F) <input type="checkbox"/> Ln. inguinali superf. (M) <input type="checkbox"/> Ln. mandibolari <input type="checkbox"/> Ln. retrofaringei <input type="checkbox"/> Ln. iliaci interni <input type="checkbox"/> Milza	<input type="checkbox"/> Utero gravido <input type="checkbox"/> Liquido amniotico <input type="checkbox"/> Placenta <input type="checkbox"/> Mammella <input type="checkbox"/> Vescicole seminali <input type="checkbox"/> Testicoli	<input type="checkbox"/> Sangue <input type="checkbox"/> Latte <input type="checkbox"/> Formaggi <input type="checkbox"/> Tampone vaginale <input type="checkbox"/> Colostro <input type="checkbox"/> Altro (specificare)
_____	<input type="checkbox"/> Ln. sopramammari (F) <input type="checkbox"/> Ln. inguinali superf. (M) <input type="checkbox"/> Ln. mandibolari <input type="checkbox"/> Ln. retrofaringei <input type="checkbox"/> Ln. iliaci interni <input type="checkbox"/> Milza	<input type="checkbox"/> Utero gravido <input type="checkbox"/> Liquido amniotico <input type="checkbox"/> Placenta <input type="checkbox"/> Mammella <input type="checkbox"/> Vescicole seminali <input type="checkbox"/> Testicoli	<input type="checkbox"/> Sangue <input type="checkbox"/> Latte <input type="checkbox"/> Formaggi <input type="checkbox"/> Tampone vaginale <input type="checkbox"/> Colostro <input type="checkbox"/> Altro (specificare)
_____	<input type="checkbox"/> Ln. sopramammari (F) <input type="checkbox"/> Ln. inguinali superf. (M) <input type="checkbox"/> Ln. mandibolari <input type="checkbox"/> Ln. retrofaringei <input type="checkbox"/> Ln. iliaci interni <input type="checkbox"/> Milza	<input type="checkbox"/> Utero gravido <input type="checkbox"/> Liquido amniotico <input type="checkbox"/> Placenta <input type="checkbox"/> Mammella <input type="checkbox"/> Vescicole seminali <input type="checkbox"/> Testicoli	<input type="checkbox"/> Sangue <input type="checkbox"/> Latte <input type="checkbox"/> Formaggi <input type="checkbox"/> Tampone vaginale <input type="checkbox"/> Colostro <input type="checkbox"/> Altro (specificare)
_____	<input type="checkbox"/> Ln. sopra-mammari (F) <input type="checkbox"/> Ln. inguinali superf. (M) <input type="checkbox"/> Ln. mandibolari <input type="checkbox"/> Ln. retrofaringei <input type="checkbox"/> Ln. iliaci interni <input type="checkbox"/> Milza	<input type="checkbox"/> Utero gravido <input type="checkbox"/> Liquido amniotico <input type="checkbox"/> Placenta <input type="checkbox"/> Mammella <input type="checkbox"/> Vescicole seminali <input type="checkbox"/> Testicoli	<input type="checkbox"/> Sangue <input type="checkbox"/> Latte <input type="checkbox"/> Formaggi <input type="checkbox"/> Tampone vaginale <input type="checkbox"/> Colostro <input type="checkbox"/> Altro (specificare)

(1) Barrare le caselle corrispondenti agli organi prelevati per ciascun animale e indicare il numero di organi prelevati o la quantità in ml (se sangue o latte) o in grammi (se formaggio). Se necessario, aggiungere ulteriori pagine con l'elenco dei capi prelevati.

Conservare gli organi prelevati e il latte a temperatura di refrigerazione. Se l'invio non è effettuabile entro 24 ore dal prelievo, sottoporre i campioni a congelamento. **I contenitori con il sangue non devono né essere agitati né essere refrigerati prima che si sia formato il coagulo.**