
L'isolamento e la sierotipizzazione dell'HPS

Padova, 27 maggio 2010

**Maurizio Cesa Bianchi
N V M**

Premesse

- La Malattia di Glasser è un problema probabilmente sottostimato e sotto diagnosticato
- Scopo: aumentare la % di isolamenti di una Malattia di difficile diagnosi di laboratorio, benchè più diffusa di quanto si possa immaginare
- Invio dei ceppi isolati dalle sezioni provinciali, quindi a Parma per la liofilizzazione ed infine ad Hannover

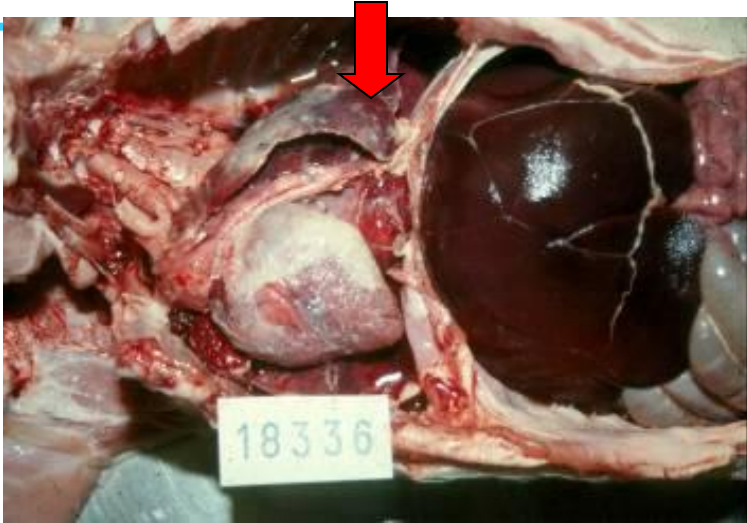
Perché è importante?

- Per essere certi che sia un HPS
- Per la diagnosi differenziale
- Per l'antibiogramma
- Per la sierotipizzazione
- Per determinare se è un ceppo patogeno
- Per sapere se il ceppo è omologo o eterologo rispetto al vaccino

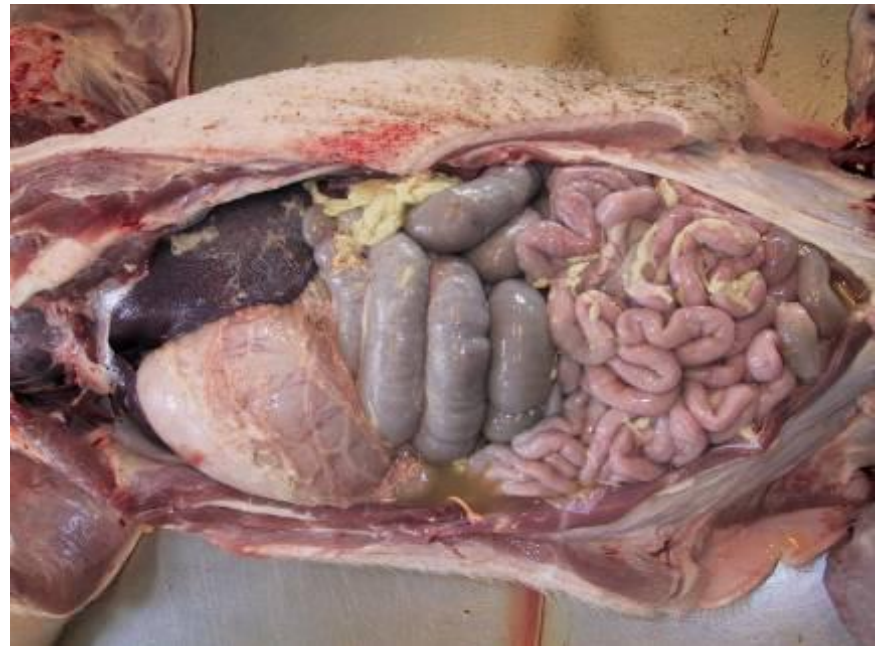
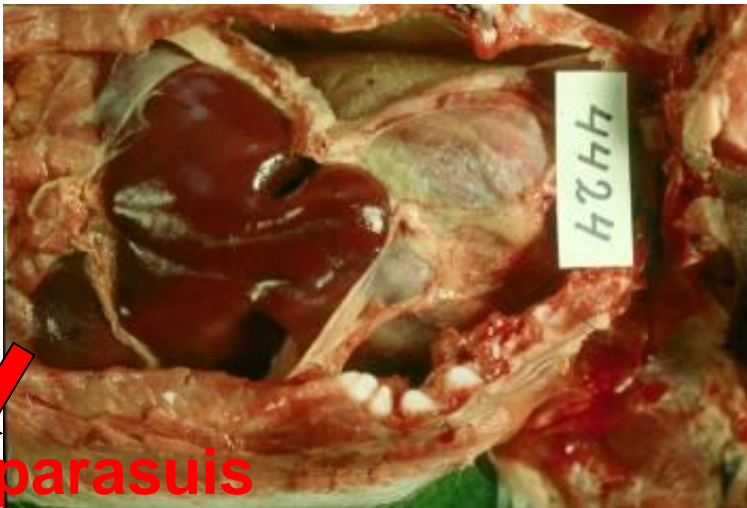
Diagnosi differenziale

Strep. suis

C
A
S
I



A
C
U
T
I



**Quadro cronico
Strep. suis o H. parasuis???**

H. parasuis

Pictures by B. Svensmark. DS / LUS

HPS:

patogenicità dei diversi sierotipi

Tabella dei diversi sierotipi di Haemophilus parasuis in funzione della gravità dei sintomi presenti

Sierotipi	Sintomi
1/5/10/12/13/14	Morte entro 96 ore
2/4/15	Severe polisierositi ed artriti
8	Sintomi clinici e lesioni leggere
3/6/7/9/11	Nessun segno clinico o lesione

Cosa fare?

In allevamento



sospetto di Malattia di Glasser



necropsia

scelta degli animali idonei



Selezionare gli animali idonei



Quali animali? Con quali sintomi?

- Animali con:
 - zoppie
 - difficoltà respiratorie
 - animali defedati
 - scarti?
- Non dimenticare gli animali con sintomatologia acuta:
 - dispnea
 - ipertermia

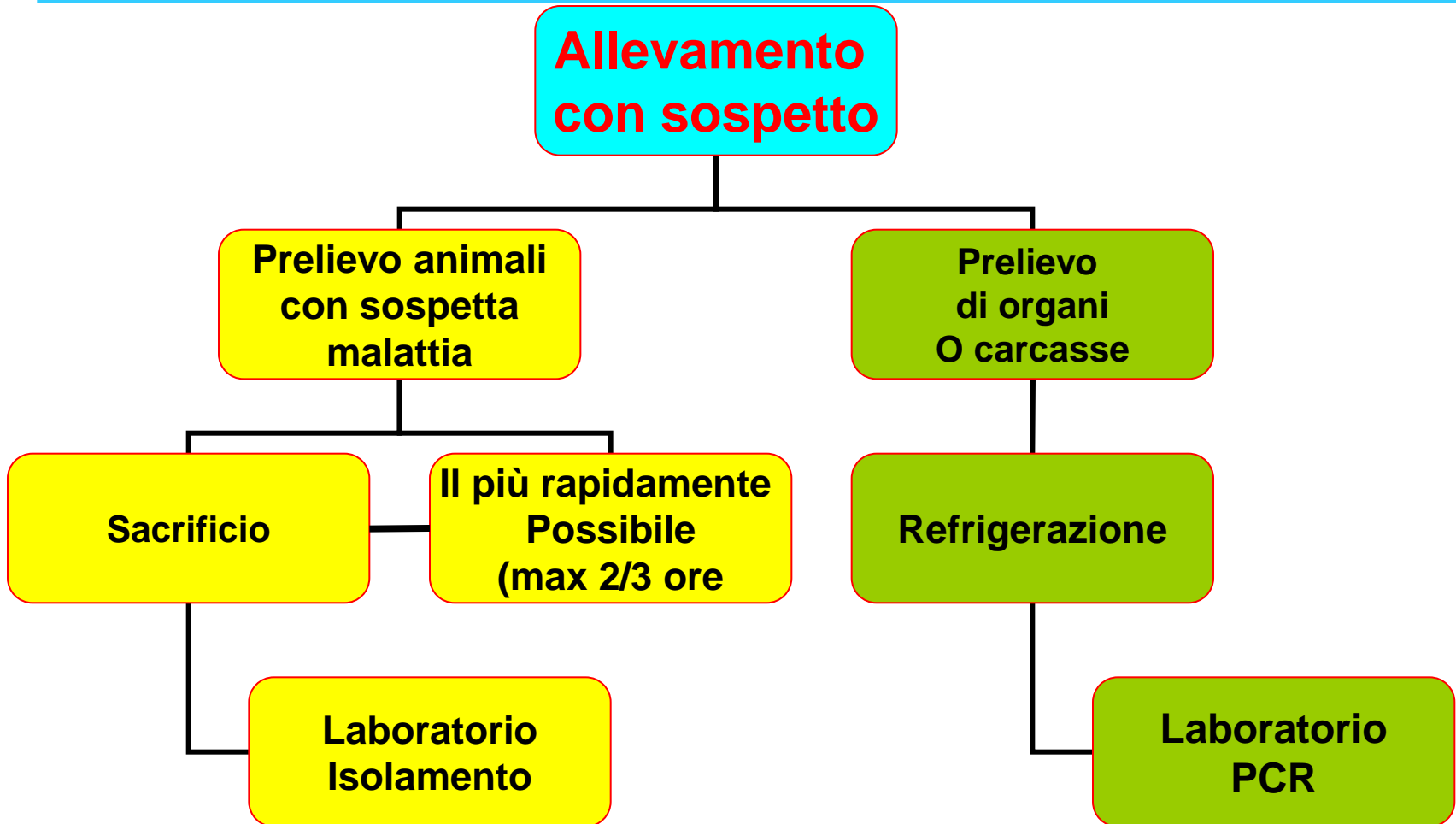
Sciogliere gli animali idonei



Fondamentale per il successo dell'isolamento

- La tempestività nel portare il materiale al laboratorio
- La freschezza del materiale portato
- La prontezza nella semina da parte del laboratorio

Schema di diagnosi di laboratorio



Schema di diagnosi di laboratorio 2

**Laboratorio
IZS o altro**

**Sezione provinciale
degli IZS → Isolamento**

Parma → Liofilizzazione

Hannover → Sierotipizzazione

Prelievo

- Carcasse intere, meglio se sopprresse direttamente all'IZS
- Trasporto dall'allevamento all'IZS il più veloce possibile
- Organi da cui prelevare:
 - **Pericardio**
 - **Polmone/bronchi (dai bronchi meglio che dai polmoni)**
 - **Liquido sinoviale (vantaggio della sterilità del prelievo)**
 - **Tamponi meningei dal foro occipitale**
- Per animali con forme croniche l'isolamento è più difficile, salvo accanirsi e tentare da più organi

Isolamento

- Agar sangue + supplemento C infine trapianto con AS e colture di stafilococchi
- Agar sangue + supplemento C con semina diretta con colture di stafilococchi
- Agar cioccolato con Isovitalex (Sali minerali e altro)
- Prove biochimiche:
 - **Urea**
 - **Catalasi**
 - **Gram/morfologia**

Conservazione

- Congelamento
- Congelamento in atmosfera controllata
- Durata del congelamento
- Scongelamento (accorgimenti particolari)
- Liofilizzazione
- Altri metodi di conservazione
- Accorgimenti da mettere in atto per il trasporto delle semine (piastre) nelle 24 ore

Conservazione

- Poche esperienze
- Congelamento con vitalità allo scongelamento di circa l'80% in microbank per periodi di circa 3 mesi.
- Non si hanno esperienze, bisognerebbe provare per più anni con i ceppi ancora congelati in microbank
- Lo scongelamento dai microbank avviene direttamente su terreni di coltura (agar sangue) + stafilococchi

Conservazione

L'unico sistema per la conservazione ed il trasporto del *Haemophilus parasuis* è la:

Liofilizzazione

Scheda accompagnatoria

Da compilarsi
a cura del
veterinario

SCHEDA		<i>Haemophilus parasuis</i>				
DATA	Codice IZS (Sez./N° acc.)					
ALLEVAMENTO	TIPO		SCROFE			
	Ciclo chiuso	<input type="checkbox"/>	< 300	<input type="checkbox"/>		
	Ciclo aperto	<input type="checkbox"/>	300 - 500	<input type="checkbox"/>		
	Ingrasso	<input type="checkbox"/>	500 - 1000	<input type="checkbox"/>		
		> 1000	<input type="checkbox"/>			
Patologie in allevamento	PMWS	<input type="checkbox"/>	Stato sanitario	Alto	<input type="checkbox"/>	
	PRRS	<input type="checkbox"/>		Medio	<input type="checkbox"/>	
	Aujeszky	<input type="checkbox"/>		Basso	<input type="checkbox"/>	
Forma patologica in atto	acuta	<input type="checkbox"/>	Morbilità	%	Mortalità	%
	cronica	<input type="checkbox"/>				
ESAME NECROSCOPICO						
	ETA':		PESO:			
	FIGLIO DI:	Primipara	<input type="checkbox"/>	Pluripara	<input type="checkbox"/>	
Descrizione anatomopatologica:						
<div style="border: 1px solid black; height: 80px;"></div>						

laboratorio

Da compilarsi
a cura del
laboratorio
e/o
veterinario

Scheda accompagnatoria

Da compilarsi
a cura del
laboratorio

SEDE DI PRELIEVO

Polm./Bronco
T. meningeo

Pericardio
Altro

Liquido sinoviale

VIROLOGIA

PRRS PCR

HPS PCR

PMWS (PCR/IHC/IF)

Altro

BATTERIOLOGIA

P. multocida
Salmonella

APP
S. suis

E.coli emol
E. coli

ANTIBIOGRAMMA

Sensibile:

Resistente:

SIEROTIPIZZAZIONE

SIEROTIPO:

Hannover

Laboratorio 2

Procedimento: schema riassuntivo

Veterinario → **Sospetto e Prelievo**
Scelta di animali da sacrificare



Sezione provinciale degli IZS → **Isolamento**



Parma → **Liofilizzazione**



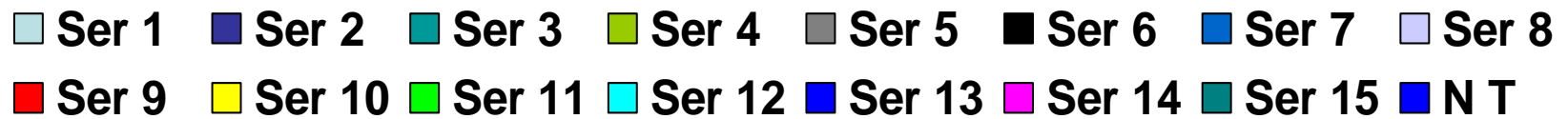
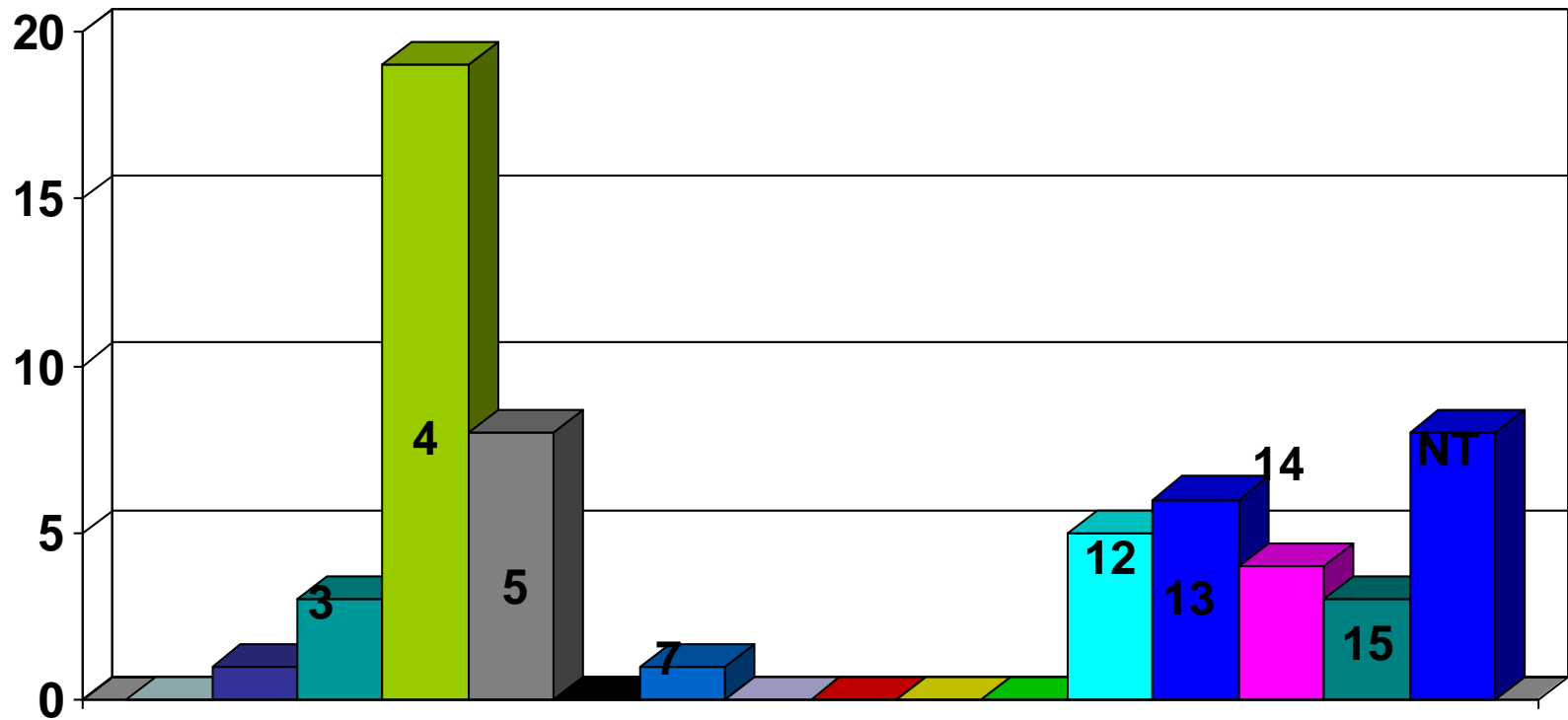
Hannover → **Sierotipizzazione**

Diagnosi: Procedura di campionamento

Figure 2. Procedura di campionamento da seguire in caso di sospetto di Malattia di Glässer



Sierotipi HPS isolati nel 2009 in Italia



Una riflessione sulla riservatezza

- Nell'accompagnare i campioni isolati non viene trascritto né il nome dell'Allevatore, né quello del Veterinario
- I referti trasmessi dagli IZS hanno un codice di riferimento della sezione stessa
- Al ricevimento dei risultati da Hannover vengono trasmessi a tutte le sezioni

Ceppi isolati da Hannover

Befund zum Auftrag F/09Vak/000259/I

23. März 2009, Seite 2 von 3

Ziel: **Indirect hemagglutination test for analysing the serotype of a Haemophilus parasuis culture**


Untersuchungsnummer	Tieridentifikation	Following Hps serotype was analysed by IHA:
09Vak/259-11	Hps 123895 04.03.09	serotype 5
09Vak/259-12	Hps 80826-3 04.03.09	serotype 4
09Vak/259-13	Hps 20837-3 04.03.09	non analysable , no bacterial growth
09Vak/259-14	Hps 20825-3 04.03.09	non analysable , no bacterial growth
09Vak/259-15	Hps 75594 04.03.09	serotype 4
09Vak/259-16	Hps 1 PD 04.03.09	serotype 5
09Vak/259-17	Hps 2 PD 04.03.09	serotype 5
09Vak/259-18	Hps 3 PD 04.03.09	serotype 5
09Vak/259-19	Hps 4 PD 04.03.09	serotype 5
09Vak/259-20	Hps 818-1 PD 04.03.09	non typeable
09Vak/259-21	Hps 818-2 PD 04.03.09	non typeable

- Aufbewahrung von Bakterienstämmen

Ziel: **Indirect hemagglutination test for analysing the serotype of a Haemophilus parasuis culture**

Untersuchungsnummer	Tieridentifikation	Following Hps serotype was analysed by IHA:
09Vak/259-1	Hps 146640-2 04.03.09	serotype 4
09Vak/259-2	Hps Az Brasile 04.03.09	non typeable
09Vak/259-3	Hps 279648 04.03.09	non typeable
09Vak/259-4	Hps 311775-1 04.03.09	serotype 4
09Vak/259-5	Hps 304747-2 04.03.09	serotype 4
09Vak/259-6	Hps 287007-3 04.03.09	serotype 12 cross reacting with serotype 5
09Vak/259-7	Hps 316769 04.03.09	non typeable
09Vak/259-8	Hps 322P56-3 04.03.09	non typeable
09Vak/259-9	Hps 321509-3 04.03.09	serotype 13
09Vak/259-10	Hps 29788-2 04.03.09	non analysable , no bacterial growth

Grazie!

Two dead wild boars are lying on a dirt ground. The boar on the left is facing left, and the boar on the right is facing right. Both have dark, coarse fur and prominent snouts. Two speech bubbles are overlaid on the image. The first speech bubble, on the left, contains the text 'Stanno ancora parlando di noi?'. The second speech bubble, on the right, contains the text 'No credo che abbiano finito'.

**Stanno ancora
parlando di
noi?**

**No credo che
abbiano finito**