

BRUCELLOSI

1. Diagnosi clinica e definizioni di caso

Agente eziologico	<i>Brucella melitensis</i> ; <i>Brucella abortus</i> ; <i>Brucella suis</i>
Sospetto clinico	
Criteri clinici	Periodo di incubazione variabile (da alcuni giorni a diversi mesi). Qualsiasi persona presenti febbre e almeno una delle sette seguenti manifestazioni: • Sudorazione (abbondante, maleodorante, specialmente notturna) • Brividi • Artralgia • Debolezza • Depressione • Cefalea • Anoressia Complicanze: • Forme respiratorie da lievi fino a polmoniti, ascessi e versamenti pleurici • Epato e splenomegalia • Malattia osteo-articolare
Sospetto epidemiologico	
Criteri epidemiologici	Almeno una delle cinque seguenti correlazioni epidemiologiche: - Esposizione ad alimenti contaminati: • latte non trattato • formaggi a stagionatura inferiore a 3 mesi • ricotta artigianale • gelato • panna • yogurt - Esposizione ad acqua da bere contaminata - Trasmissione da animale infetto • secrezioni o organi contaminati • perdite vaginali • aborti e placenti - Esposizione ad una fonte comune - Esposizione in laboratorio
Caso probabile: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e presenti una correlazione epidemiologica.	

2.1 Conferma di laboratorio Diagnostica di prima istanza	
Tipo di campione: SANGUE	
Modalità di prelievo	• Prelievo effettuato nel rispetto delle norme di asepsi • Prelevare quantità sufficiente di sangue in appositi flaconi contrassegnati contenenti brodi per emocoltura (10ml per gli adulti, 5ml per i bambini) • Effettuare 2-3 prelievi in rapida successione (5-10') • Prelievo da effettuare prima dell'inizio della terapia antimicrobica
Modalità di trasporto e conservazione	• Inviare i campioni per emocoltura al laboratorio nel più breve tempo possibile e conservarli a temperatura ambiente per non più di 16-18 ore oppure incubati a 35-37°C • I campioni non vanno refrigerati
Tipo di esame	• Emocoltura con isolamento di <i>Brucella</i> spp. patogena per l'uomo • Sieroagglutinazione rapida (SAR) • Prova di fissazione del complemento • Test ELISA • Metodiche di biologia molecolare
Criteri di laboratorio Almeno uno dei tre seguenti criteri: • isolamento della <i>Brucella</i> spp. patogena per l'uomo da un campione clinico • risposta anticorpale specifica alla <i>Brucella</i> patogena per l'uomo (prova standard di agglutinazione, prova di fissazione del complemento, test ELISA) • identificazione dell'acido nucleico della <i>Brucella</i> spp. patogena per l'uomo in un campione clinico.	
Caso confermato → NOTIFICA Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e di laboratorio.	

2.2 Conferma di laboratorio Diagnostica di seconda istanza	
Tipo di campione: CEPPO BATTERICO	
Modalità di prelievo	• Ceppo batterico isolato in appositi terreni
Modalità di trasporto e conservazione	• I ceppi batterici vanno trasportati al laboratorio nel più breve tempo possibile e conservati alla temperatura di 4°C.
Tipo di esame	• Metodiche di biologia molecolare

BRUCELLOSI – Note tecniche

Diagnostica di prima istanza - SANGUE

Emocultura

Esame su sangue che permette di evidenziare la presenza di microrganismi nel torrente circolatorio, importante per la diagnosi di batteriemia o di sepsi. Con i sistemi automatici attualmente i flaconi vengono incubati a 35°C per 15 giorni oppure la diagnosi di brucella viene fatta utilizzando metodi di coltura alternativi come ad esempio il metodo di lisi e centrifugazione, per cui non si ritiene più necessario prolungare l'incubazione. I sistemi automatici provvedono alla lettura ogni 10'-24', segnalando eventuali campioni positivi che vanno prontamente rimossi dallo strumento per procedere con la colorazione. Le emocolture positive vengono sottoposte a sub-coltura su un set appropriato di terreni in grado di assicurare anche la crescita di germi più esigenti e lasciate ad incubare per 24 ore. Si sono sviluppate inoltre tecniche innovative, da affiancare alle tecniche tradizionali, rapide e altamente specifiche che consentono una notevole riduzione dei tempi di refertazione per l'identificazione del patogeno in seguito a positività del flacone, quali la tecnologia FISH, MALDI-TOF, multiplex PCR.

Sieroagglutinazione rapida

Reazione sierologica in cui la formazione di immunocomplessi, tra un anticorpo in sospensione e un antigene corpuscolato, si apprezza con l'individuazione di agglutinati macroscopicamente visibili.

Fissazione del complemento

E' una reazione in cui, tra due sistemi antigene-anticorpo (immuno-complesso), oscilla il complemento. Il primo sistema è formato da un antigene noto e dall'anticorpo corrispondente eventualmente presente nel siero in esame; il secondo sistema è costituito da globuli rossi di montone ed anticorpi anti-GR di montone (emolisina). Nel caso in cui nel siero in esame non vi siano anticorpi rivolti verso l'antigene noto, non si formerà l'immuno-complesso ed il complemento rimarrà totalmente libero di fissarsi al secondo sistema, provocando emolisi.

Diagnostica di seconda istanza – CEPPPO BATTERICO

Identificazione molecolare con PCR e RT-PCR

Le tecniche di identificazione molecolare si basano sull'estrazione del DNA genomico dei batteri cresciuti su terreni colturali solidi mediante bollitura, amplificazione delle sequenze geniche mediante primer specifici e valutazione della positività o negatività del campione mediante elettroforesi su gel di agarosio e lettura al transilluminatore oppure per elaborazione automatica con formazione di curve di fluorescenza.

[Versione ...1.1.]



DOWNLOAD DA WEB



Il materiale documentale del Progetto Zodiac, diffuso da Sanità Pubblica Veterinaria, è coperto da Licenza Creative Commons Attribuzione 4.0 Internazionale. [Based on a work at <http://spvet.it/zodiac.html>]