

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DEL LAZIO E DELLATOSCANA	ISTRUZIONI DI LAVORO CIP	IL CIP 004 Pagina 1 di 5
Titolo: LINEE GUIDA PER IL PRELIEVO DI CAMPIONI DI LATTE PER LA DIAGNOSTICA DELLE MASTITI		Revisione n. 0
Redatte da: Daniele Sagrafoli		Data 30/11/2017
Verificate da: Giuseppina Giacinti		
Approvate da: Simonetta Amatiste		

1. Scopo

Per la diagnosi microbiologica di mastite è importante che il prelievo sia eseguito nel rispetto di norme igieniche al fine di ridurre al minimo tutte le contaminazioni ambientali che potrebbero alterare e/o invalidare la prova. Il presente documento è stato redatto allo scopo di eseguire un corretto campionamento manuale del latte di capezzolo/individuale per la ricerca microbiologica di agenti mastidogeni, per la corretta conservazione, trasporto e consegna dei campioni al laboratorio di prova.

E' destinato al personale dell'IZSLT e all'utenza (veterinari, tecnici, allevatori ecc...) con l'obiettivo di garantire la qualità dei servizi erogati dall'Istituto e la sicurezza degli operatori in tutte le fasi di processo del campione.

2. Campo di applicazione

Campionamento del latte di capezzolo e/o individuale per la ricerca di agenti mastidogeni.

3. Definizioni e abbreviazioni

Latte di capezzolo: latte proveniente da singolo quarto (specie bovina, bufalina) o emi-mammella (specie ovina, caprina e asinina).

Latte individuale (pool dei 4 quarti o delle 2 emi-mammelle): latte proveniente dal singolo soggetto.

Mastite clinica: infiammazione a carico della mammella (uno o più distretti mammari) con sintomatologia locale, focale o generale.

Mastite sub-clinica: infiammazione a carico della mammella senza sintomatologia evidente, con alterazione del numero di cellule somatiche rispetto ad un individuo sano, con o senza diminuzione della produzione di latte

Richiesta di analisi per agenti mastidogeni: documento di accompagnamento dei campioni comprensivo di tutte le informazioni riportate al paragrafo 5

Scheda registrazione campioni: elenco dei soggetti sottoposti a campionamento (elenco progressivo dei numeri di matricola identificativi o dei numeri aziendali o dei nomi)

4. Riferimenti

- Microbiological Procedures for the Diagnosis of Bovine Udder Infection and Determination of Milk Quality - National Mastitis Council a Global Organization for Mastitis Control and Milk Quality. Fourth Edition. Chapter Sample Collection and Handling page 1.
- PG QUA 018 Uso di dispositivi di protezione individuale.

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DEL LAZIO E DELLATOSCANA	ISTRUZIONI DI LAVORO CIP	IL CIP 004 Pagina 2 di 5
Titolo: LINEE GUIDA PER IL PRELIEVO DI CAMPIONI DI LATTE PER LA DIAGNOSTICA DELLE MASTITI		Revisione n. 0
Redatte da: Daniele Sagrafoli		Data 30/11/2017
Verificate da: Giuseppina Giacinti		
Approvate da: Simonetta Amatiste		

- D.Lgs. 81/2008: Attuazione dell'articolo 1 della legge del 3 agosto, 2007, n. 123, in materia di tutela della salute e della sicurezza nei luoghi di lavoro.

5. Moduli allegati

I campioni effettuati dall'utenza devono essere accompagnati dalla richiesta del veterinario che deve includere le seguenti informazioni:

- Ragione sociale allevamento
- data del prelievo
- specie animale (bovina/ovina/caprina/asinina/bufalina)
- tipologia di campione (capezzolo/individuale)
- Stato del campione (fresco/congelato)
- Breve anamnesi con eventuali informazione sullo stato sanitario dell'allevamento relativamente alle patologie mammarie (analisi di controllo nell'ambito di un piano di profilassi per microrganismi contagiosi, verifica post-trattamento, o post-partum)
- Elenco con i numeri progressivi di prelievo e corrispondente numero di matricola sanitaria o codice aziendale dell'animale.
- Analisi richieste
- (N.B. la richiesta di ricerca di *Mycoplasma spp* deve essere esplicitata)

I campioni prelevati dal personale IZSLT devono essere accompagnati dal modulo PG ACC 007/2.

6. Modalità operative

6.1 Norme di igiene e sicurezza

Il personale incaricato ad effettuare il campionamento per l'analisi dei campioni dovrà adottare le norme di sicurezza in base al Decreto Legislativo 9 aprile 2008 n. 81 e s.m.i. ed essere provvisto di DPI necessari per le attività da svolgere.

Dispositivi di protezione individuali (DPI)

- Tuta e calzari monouso in classe di rischio 3, protezione per gli agenti chimici e biologici.
- Guanti monouso con classe di rischio minimo 2.
- Occhiali o visiera di protezione
- Mascherina di protezione in classe di rischio 3,

6.2 Materiali e apparecchiature

- provette sterili da minimo 10 ml per campioni di capezzolo
- provette sterili da minimo 50 ml per campioni individuali

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DEL LAZIO E DELLATOSCANA	ISTRUZIONI DI LAVORO CIP	IL CIP 004 Pagina 3 di 5
Titolo: LINEE GUIDA PER IL PRELIEVO DI CAMPIONI DI LATTE PER LA DIAGNOSTICA DELLE MASTITI		Revisione n. 0
Redatte da: Daniele Sagrafoli		Data 30/11/2017
Verificate da: Giuseppina Giacinti		
Approvate da: Simonetta Amatiste		

- contenitore porta provette o scatola alveolata
- pennarello indelebile
- scheda registrazione campioni
- salviette di carta monouso
- alcool etilico o analogo disinfettante
- frigorifero portatile/cassetta isoterma con piastre refrigeranti

6.3 Modalità prelievo dei campioni di latte di capezzolo e individuale

N.B. Prima di procedere al prelievo dei campioni prendere accordi con il Laboratorio di diagnostica e controllo delle mastiti della sede centrale o il Laboratorio di Diagnostica delle Sezioni Territoriali o Interprovinciali.

Per il prelievo utilizzare sempre contenitori sterili.

Per i campioni di capezzolo è consigliabile utilizzare provette apposite (15 ml) contenute in scatole alveolate e fornite dall'IZSLT.

Per i campioni individuali utilizzare le provette con capacità di circa 70 ml disponibili presso l'IZSLT.

Si suggerisce di eseguire il prelievo in fase di pre-mungitura (nella fase post-mungitura la quantità residua di latte potrebbe non essere sufficiente). Durante il prelievo NON toccare con le dita le parti interne della provetta o l'apice del capezzolo.

Procedere per il prelievo come di seguito indicato:

- 1) **PREPARAZIONE SCHEDA REGISTRAZIONE:** Per ogni sessione di prelievo registrare sulla scheda registrazione campioni, accanto al numero progressivo del campione, l'identificativo del soggetto corrispondente.
- 2) **PULIZIA:** Rimuovere il materiale organico eventualmente presente sulla superficie del capezzolo applicando un prodotto detergente e asportarlo con carta assorbente.
- 3) **DISINFEZIONE:** Disinfettare accuratamente l'apice del capezzolo con cotone/garze sterili imbevute con alcool etilico o analogo disinfettante.

Per la specie bovina e bufalina, procedere con la disinfezione dei capezzoli più distanti dall'operatore e poi passare a quelli più vicini per evitare di contaminare con le mani o l'avambraccio lo sfintere del capezzolo.

- 4) **PRELIEVO:** Il prelievo dei campioni segue l'ordine inverso, prima i capezzoli più vicini e poi quelli più distanti all'operatore.

Per ogni capezzolo eliminare e osservare i primi getti di latte annotando in elenco eventuali alterazioni.

Riempire la provetta per circa $\frac{3}{4}$ del suo volume tenendola inclinata di circa 45°.

Per i campioni di latte individuali, il latte di ogni capezzolo (15-20 ml) viene raccolto in una sola provetta.

Richiudere accuratamente la provetta.

6.4 Identificazione dei campioni di capezzolo e individuali

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DEL LAZIO E DELLATOSCANA	ISTRUZIONI DI LAVORO CIP	IL CIP 004 Pagina 4 di 5
Titolo: LINEE GUIDA PER IL PRELIEVO DI CAMPIONI DI LATTE PER LA DIAGNOSTICA DELLE MASTITI		Revisione n. 0
Redatte da: Daniele Sagrafoli		Data 30/11/2017
Verificate da: Giuseppina Giacinti		
Approvate da: Simonetta Amatiste		

6.4.1 Campioni individuali

Le provette devono sempre essere contrassegnate con pennarello indelebile: segnare sulla singola provetta il n. progressivo del campione (rispettando quanto riportato nella Scheda registrazione campioni) prima dell'inserimento nel portaprovette.

6.4.2 Campioni di capezzolo/emimammella

Scrivere su ciascuna provetta il numero progressivo o l'identificativo del soggetto e la sigla del capezzolo corrispondente se si usa un porta provette generico o in assenza di porta provette.

STOCCAGGIO DELLE PROVETTE IN SCATOLE ALVEOLATE:

Scatole da 56 campioni con provette bianche

effettuare il prelievo seguendo lo schema seguente:

Latte vaccino e bufalino

ordine dei soggetti (numeri da 1 a 14) e dei quarti da cui effettuare il prelievo

AS=anteriore sinistro; PS=posteriore sinistro; AD=anteriore destro; PD=posteriore destro

immaginando di guardare la scatola dall'alto iniziare dalla provetta in basso a sinistra, prelevare i campioni del primo soggetto rispettando l'ordine dei capezzoli AS/PS/AD/PD e procedere con i soggetti successivi come riportato nell'esempio

2 PD	4 PD	6 PD	8 PD	10 PD	12 PD	14 PD
2 AD	4 AD	6 AD	8 AD	10 AD	12 AD	14 AD
2 PS	4 PS	6 PS	8 PS	10 PS	12 PS	14 PS
2 AS	4 AS	6 AS	8 AS	10 AS	12 AS	14 AS
1 PD	3 PD	5 PD	7 PD	9 PD	11 PD	13 PD
1 AD	3 AD	5 AD	7 AD	9 AD	11 AD	13 AD
1 PS	3 PS	5 PS	7 PS	9 PS	11 PS	13 PS

Latte ovino, caprino e asinino

ordine dei soggetti (numeri da 1 a 28) e delle emimammelle da cui effettuare il prelievo

SX=emimammella sinistra; DX=emimammella destra

immaginando di guardare la scatola dall'alto iniziare dalla provetta in basso a sinistra, prelevare i campioni del primo soggetto rispettando l'ordine delle emimammelle SX/DX e procedere con i soggetti successivi.

4 DX	8 DX	12 DX	16 DX	20 DX	24 DX	28 DX
4 SX	8 SX	12 SX	16 SX	20 SX	24 SX	28 SX
3 DX	7 DX	11 DX	15 DX	19 DX	23 DX	27 DX
3 SX	7 SX	11 SX	15 SX	19 SX	23 SX	27 SX

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DEL LAZIO E DELLATOSCANA	ISTRUZIONI DI LAVORO CIP	IL CIP 004 Pagina 5 di 5
Titolo: LINEE GUIDA PER IL PRELIEVO DI CAMPIONI DI LATTE PER LA DIAGNOSTICA DELLE MASTITI		Revisione n. 0
Redatte da: Daniele Sagrafoli		Data 30/11/2017
Verificate da: Giuseppina Giacinti		
Approvate da: Simonetta Amatiste		

2 DX	6 DX	10 DX	14 DX	18 DX	22 DX	26 DX
2 SX	6 SX	10 SX	14 SX	18 SX	22 SX	26 SX
1 DX	5 DX	9 DX	13 DX	17 DX	21 DX	25 DX
1 SX	5 SX	9 SX	13 SX	17 SX	21 SX	25 SX

E' importante eseguire il prelievo rispettando il seguente ordine per garantire la corrispondenza del quarto/emimammella alla posizione della provetta nella scatola alveolata.

Scatole da 40 campioni con provette con tappo colorato

Latte vaccino e bufalino

Verde	1 PD	2 PD	3 PD	4 PD	5 PD	6 PD	7 PD	8 PD	9 PD	10 PD
Arancio	1 AD	2 AD	3 AD	4 AD	5 AD	6 AD	7 AD	8 AD	9 AD	10 AD
Blu	1 PS	2 PS	3 PS	4 PS	5 PS	6 PS	7 PS	8 PS	9 PS	10 PS
Bianco	1 AS	2 AS	3 AS	4 AS	5 AS	6 AS	7 AS	8 AS	9 AS	10 AS

Latte ovino, caprino e asinino

Verde	2 DX	4 DX	6 DX	8 DX	10 DX	12 DX	14 DX	16 DX	18 DX	20 DX
Arancio	2 SX	4 SX	6 SX	8 SX	10 SX	12 SX	14 SX	16 SX	18 SX	20 SX
Blu	1 DX	3 DX	5 DX	7 DX	9 DX	11 DX	13 DX	15 DX	17 DX	19 DX
bianco	1 SX	3 SX	5 SX	7 SX	9 SX	11 SX	13 SX	15 SX	17 SX	19 SX

6.5 Modalità di conservazione dei campioni e inoltro al laboratorio

N.B. I campioni effettuati dall'utenza devono essere accompagnati dalla richiesta del veterinario.

I campioni una volta prelevati devono essere conservati in frigorifero e inoltrati entro le 24 ore al laboratorio utilizzando per il trasporto una cassetta isotermica con piastre refrigeranti o un frigorifero portatile.

Se la consegna non può avvenire entro le 24 ore congelare immediatamente i campioni e consegnarli appena possibile al laboratorio.