

PRELIEVO, CONSERVAZIONE ED INVIO DEI CAMPIONI PER INDAGINI DI LABORATORIO IN PATOLOGIA SUINA

SAMPLE COLLECTION, HANDLING AND PRESERVATION IN SWINE PATHOLOGY

LUPPI A.

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna (IZSLER),
Sezione di Reggio Emilia*

Parole chiave: campioni, prelievo, conservazione, patologia suina

Key words: sample, collection, preservation, swine pathology

INTRODUZIONE

Il campionamento costituisce la prima importantissima fase del processo analitico ed è pertanto evidente che, per ottenere risultati attendibili, non si possa prescindere dall'applicazione di corrette pratiche di raccolta dei campioni, che garantiscano l'idoneità del materiale campionato da destinare all'esecuzione di indagini di laboratorio (quantità minima, numero di aliquote, ecc). Sono altrettanto importanti le fasi precedenti il campionamento e quelle di trasporto dopo il prelievo. Per quanto riguarda quest'ultimo punto occorre assicurarsi che dal momento del prelievo a quello della consegna al laboratorio di analisi, il campione sia adeguatamente confezionato, non subisca alterazioni di alcun tipo e sia conservato alla giusta temperatura.

Nel corso dell'esposizione verranno trattati i metodi di prelievo e di conservazione appropriati per l'esecuzione di indagini virologiche (isolamento), batteriologiche, biomolecolari e citostopatologiche. Saranno inoltre trattati gli aspetti concernenti il campionamento di sangue da destinare a prove sierologiche e biochimico-cliniche.

CRITERI GENERALI

Come accennato nell'introduzione, possiamo suddividere le fasi che precedono l'arrivo del campione al laboratorio di analisi in tre punti fondamentali:

1. Fase precedente il prelievo
2. Il prelievo
3. Invio dei campioni prelevati al laboratorio.

Fase precedente il prelievo

In questa fase risulta di particolare importanza l'inquadramento della problematica sanitaria presente in allevamento, che indirizzerà verso la scelta più appropriata degli animali da campionare, del tipo di prelievo e delle modalità di invio al laboratorio. In questa fase può essere di grande aiuto consultare il laboratorio, assicurandosi che le operazioni sopraccitate siano adeguate per le ricerche che si vogliono effettuare. In questo contesto, ad esempio, nel caso sia presente una patologia respiratoria in allevamento, la scelta degli animali da campionare dovrà ricadere su soggetti rappresentativi della problematica, che presentano la forma acuta della malattia, possibilmente non sottoposti a trattamenti antibiotici e correttamente identificati.

Il prelievo

Nella pratica quotidiana il prelievo di materiale patologico da inviare al laboratorio avviene, nella maggior parte dei casi, contestualmente all'esame necroscopico, che riveste un ruolo

fondamentale nell'indirizzare il patologo verso la scelta di appropriate indagini di laboratorio. Indipendentemente dal fatto che la necropsia venga eseguita in campo (per il successivo conferimento di visceri patologici al laboratorio) o che l'intera carcassa di animali morti o sacrificati sia inviata al laboratorio, è necessario considerare alcune norme fondamentali che differiscono a seconda del tipo di esame che si vuole affrontare.

Esame batteriologico

L'esame batteriologico viene eseguito partendo da tessuti patologici (polmone, intestino, rene, milza ecc.), da secreti e da escreti (feci e urine). Indipendentemente dalla matrice da campionare il prelievo per esame batteriologico deve soddisfare i seguenti criteri:

- eseguire il prelievo del materiale patologico prima dell'inizio della terapia antibiotica
- prelievo di materiale patologico in buono stato di conservazione
- invio appropriato di campioni in relazione al sospetto clinico/anatomopatologico
- indipendentemente dal sospetto clinico/anatomopatologico, in caso di campionamento durante l'esame necroscopico, includere sempre l'invio di milza e reni
- preferibilmente organi in toto, piuttosto che porzioni di questi
- evitare l'invio di visceri con lesioni croniche
- invio di materiale patologico accompagnato da accurata anamnesi

Gli escreti patologici (feci e urine) ed i secreti, possono essere campionati con l'utilizzo del tampone. In questo modo è possibile raccogliere campioni da diversi distretti, come ad esempio dalle diverse superfici mucose di numerosi apparati (tamponi nasali, rettali, vaginali, uterini, congiuntivali, ecc.) o dalle sierose (pleura, peritoneo, pericardio) (Fig.1).

Figura 1. *Impiego del tampone nell'esecuzione di prelievi per l'esame batteriologico.*

Figure 1. *Collection of samples for the bacteriological examination.*



Indagini virologiche

La ricerca di agenti patogeni virali può essere attuata con l'impiego di diverse metodiche, tra le quali, quelle biomolecolari sono le più attuali e sicuramente le più impiegate. In modo particolare, la metodica PCR, nelle sue diverse applicazioni, per rapidità di esecuzione, costi contenuti, elevata sensibilità e specificità e per la possibilità di testare diversi campioni in un unico pool, trova largo impiego in patologia suina. I criteri da seguire nel campionamento per l'esecuzione di indagini virologiche, non differisce sostanzialmente da quanto già accennato per l'esame batteriologico. Indicazioni specifiche verranno trattate nella parte relativa alla patologia enterica, respiratoria e riproduttiva.

Indagini parassitologiche

L'esame parassitologico, in diagnostica suina, è praticamente confinato ad indagini su materiale fecale. In questo contesto è consigliabile il prelievo di feci fresche,

preferibilmente dall'ampolla rettale. Se il prelievo viene fatto sul pavimento del box, bisogna avere cura di prelevare le feci appena emesse, campionando esclusivamente la porzione superficiale. La quantità minima deve essere di 3-5 grammi, anche se sono consigliabili quantità non inferiori a 10 grammi, ripetendo il prelievo di feci a distanza di alcuni giorni per aumentare la sensibilità diagnostica dell'esame.

Esame istopatologico

Il prelievo di campioni tissutali da destinare ad indagini istopatologiche necessita di alcuni importanti accorgimenti:

- il materiale patologico deve essere in ottimo stato di conservazione (tessuti che presentano anche solo iniziali fenomeni autolitici possono evidenziare alterazioni microscopiche che rendono non idoneo il campione).
- il campionamento deve essere rappresentativo della lesione. Sono consigliati frammenti di 1-2 cm² di 5 cm di spessore.
- Sebbene esistano numerosi fissativi in commercio, quello più utilizzato è la formalina tamponata al 10%.
- il volume di formalina da utilizzare deve essere 10 volte quella del materiale da analizzare.

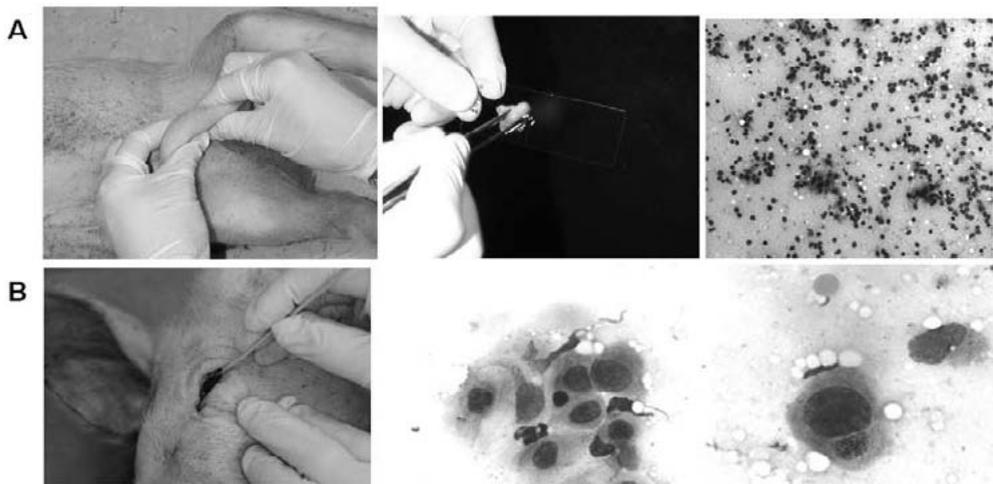
Esame citologico

Sebbene l'esame citologico trovi attualmente larga applicazione soprattutto nel settore degli animali da compagnia, potrebbe costituire anche in patologia suina un importante ausilio per il patologo. L'esame citologico è infatti rapido, economico e di facile allestimento. L'esame citologico può essere eseguito previo campionamento di organi parenchimosi (ad es. fegato), organi linfatici (ad es. linfonodi e milza) e di liquidi (urina, trasudati, essudati). Esistono pertanto diverse tecniche di allestimento dei preparati citologici: per apposizione, con l'impiego del tampone, per scarificazione e attraverso agoaspirazione.

La tecnica di apposizione, probabilmente quella che trova maggior impiego in patologia suina, consiste nell'appoggiare la superficie del tessuto da campionare sul vetrino. In tal modo il tessuto, preventivamente asciugato su carta, cede sul vetrino un numero variabile di cellule, che possono essere valutate previa colorazione in base alla loro morfologia. I tessuti linfoidei (milza e linfonodi) e diversi parenchimi (renale, epatico, polmonare) possono essere facilmente valutati applicando la tecnica dell'apposizione. Questa metodica può essere impiegata con successo anche durante o subito dopo l'esame necroscopico (Fig. 2). L'uso del tampone è indicato quando non è possibile eseguire il campionamento impiegando le altre metodiche elencate precedentemente. L'impiego del tampone trova pertanto applicazione nel campionamento di superfici mucose (congiuntivale, nasale, vaginale ecc.) o delle sierose.

Figura 2: *A. Preparato per impronta da linfonodo inguinale di suino. Citologicamente si osserva la presenza di numerose cellule macrofagico-istiocitarie compatibili con una diagnosi di PMWS (May-Grunwald-Giemsa, 20X). B. Tampone congiuntivale nel suino. Nelle due immagini tratte dai preparati citologici (May-Grunwald-Giemsa, 60X e 100X rispettivamente) si osservano cellule squamose congiuntivali con corpo iniziale di Chlamydia suis.*

Figure 2: *A. Swine inguinal lymph-node imprint slide. Cytological examination shown macrofagic hystiocitic cells compatible with a PMWS diagnosis (May-Grunwald-Giemsa, 20X). B. Swine conjunctival smear. Chlamydia suis initial body in the cytoplasm of a conjunctival squamous epithelial cell (May-Grunwald-Giemsa, 60X and 100X respectively).*



La tecnica per scarificazione è indicata soprattutto quando il tessuto da campionare cede poche cellule e viene applicata per lo più su lesioni cutanee e nell'animale in vita. Allo stesso modo l'applicazione dell'agoaspirazione, impiegando aghi di 21-25G e siringhe da 3 a 20 ml, viene prevalentemente eseguita su neoformazioni, per lo più di tipo cutaneo.

Indagini sierologiche

I campioni di sangue prelevati per indagini sierologiche devono essere qualitativamente e quantitativamente idonei. La quantità di sangue da prelevare deve essere adeguata al numero di prove che si intendono richiedere.

Esistono alcune semplici norme che permettono di ottenere un buon campione di siero:

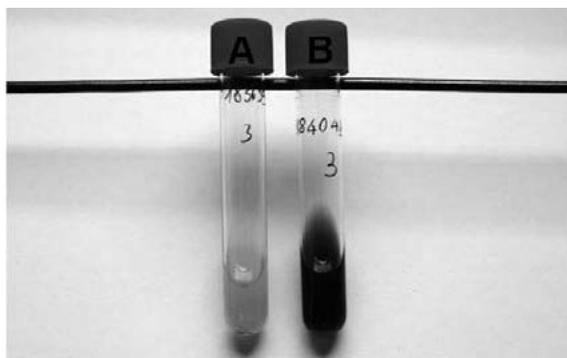
- utilizzare preferibilmente provette in vetro, in ogni caso senza anticoagulante (tappo rosso)
- dopo il prelievo conservare il sangue a +4°C e consegnarlo al laboratorio entro 24 ore
- nel caso non fosse possibile consegnare il campione con i tempi sopraccitati, attendere la formazione del coagulo e centrifugare a 1500 g per 10 minuti per separare il siero
- trasferire il siero ottenuto in una seconda provetta e congelare a -20°C

Per la valutazione dell'avvenuta sieroconversione è necessario recapitare un secondo prelievo, 2-3 settimane dopo il primo. In tal modo sarà possibile evidenziare l'eventuale incremento anticorpale nei confronti di un determinato patogeno, tra il campione prelevato all'esordio dell'infezione (acuto) e quello in fase di convalescenza (convalescente). Nel caso del doppio prelievo, realizzato con le modalità sopraccitate, è consigliabile eseguire gli esami in un'unica sessione, quindi dopo la consegna del secondo prelievo.

La maggior parte dei conferimenti non conformi sono costituiti da sieri emolitici, campioni consegnati in provette contenenti sostanze anticoagulanti (eparina o acido etilendiaminotetracetico - EDTA), campioni congelati in presenza del coagulo, siero insufficiente in relazione alle prove richieste e conferimenti di cui mancano i dati anamnestici (Fig.3).

Figura 3: A. Campione di siero idoneo; B. Campione di siero molitico ed inidoneo per l'esecuzione di indagini di laboratorio.

Figure 3: Suitable (A) and unsuitable (B) sera for laboratory investigations.



Esami chimico-clinici

I campioni devono essere raccolti in provette contenenti litio-eparina. La quantità minima di sangue da prelevare, per ottenere un'idonea quantità di plasma su cui eseguire le determinazioni, è di 5 ml. I parametri chimico-clinici comprendono esami atti a valutare il bilancio idrico, elettrolitico e minerale ed i profili muscolare, renale ed epatico.

Cause biologiche, chimiche, fisiche e meccaniche possono determinare l'emolisi del campione. E' importante evitare l'invio di campioni emolitici, in quanto l'emolisi può causare errori di tipo analitico.

Parametri ematologici

I principali parametri ematologici comprendono l'ematocrito, l'emoglobina, l'esame emocromocitometrico e la formula leucocitaria. Per questo tipo di indagini la quantità minima di sangue da prelevare è di 3 ml, utilizzando provette contenenti EDTA.

Conservazione ed invio dei campioni al laboratorio

I campioni conferiti al laboratorio devono essere accompagnati da un documento in cui deve essere riportato, oltre alle notizie anagrafiche, un'anamnesi accurata, che comprenda anche il sospetto diagnostico, eventuali terapie in corso e la richiesta relativa alle indagini da eseguire.

In termini generali i campioni destinati all'esecuzione di indagini batteriologiche possono essere consegnati freschi (subito dopo il prelievo) o conservati a temperatura di refrigerazione (+4°C) fino al conferimento al laboratorio per l'esecuzione delle appropriate indagini. Nel caso dell'utilizzo di tamponi occorre evitare l'essiccamento di questi dopo il prelievo. E' pertanto consigliabile il conferimento in terreno di trasporto (nel quale deve essere assente Carbonio, Azoto e agenti di crescita per evitare la replicazione di batteri inquinanti) o in provette contenenti 2 ml di soluzione fisiologica. Il conferimento di tamponi senza terreno o liquido di trasporto è accettabile entro 30 minuti dal prelievo. E' preferibile non sottoporre a congelamento i campioni destinati ad indagini batteriologiche (Tabella 1).

I tessuti o i fluidi biologici raccolti per indagini virologiche, possono pervenire freschi, refrigerati o congelati a seconda che il conferimento al laboratorio avvenga rispettivamente subito dopo il prelievo, entro 48 ore o in tempi superiori a 48 ore dal prelievo. Se il campionamento viene eseguito con l'impiego del tampone valgono le indicazioni già riportate per l'esame batteriologico, alle quali si rimanda. Come accennato precedentemente, il materiale prelevato per indagini virologiche, può essere congelato a -20°C in attesa della consegna al laboratorio. Tale pratica non presenta controindicazioni per le successive indagini analitiche (microscopia elettronica, isolamento, PCR).

Tabella 1: Prospetto riassuntivo relativo al tipo di campione ed alle modalità di conservazione ottimali a seconda della prova prevista.

Table 1: Type of samples and method of preservations related to the laboratory examinations.

TIPO DI CAMPIONE	TIPO DI PROVA	MODALITA' DI CONSERVAZIONE OTTIMALI PRIMA DELLA CONSEGNA AL LABORATORIO
Carcassa/organi	Anatomopatologico	Refrigerazione
Carcassa/organi	Batterologico	Refrigerazione
Feci		Refrigerazione
Tamponi		Refrigerazione (evitare essiccamento)
Organi	Parassitologico	Refrigerazione
Feci		Refrigerazione (eventualmente fissare in formalina al 5%)
Sangue (EDTA)		Refrigerazione (eseguire lo striscio entro poche ore dal prelievo)
Organi	Virologico	Refrigerazione o congelamento a -20°C
Feci		Refrigerazione o congelamento a -20°C
Tamponi		Refrigerazione o congelamento a -20°C
Organi	Istopatologico	Formalina 10% - Temperatura ambiente
Sangue (eparina - tappo verde)	Chimico-clinici	Refrigerazione
Sangue (EDTA - tappo viola)	Emocromo	Refrigerazione
Sangue (tappo rosso)	Sierologico	Refrigerazione (congelamento solo dopo separazione del siero dal coagulo)

Il materiale prelevato per indagini istologiche dovrebbe rimanere immerso nel fissativo (formalina) il tempo necessario per una completa fissazione (la velocità di penetrazione nel campione è generalmente di 0,8 mm/h., con un rapporto volumetrico ottimale campione/formalina di 1/10), al termine della quale è necessario che il campione venga sezionato ed incluso in paraffina. Il tempo di fissazione deve essere valutato accuratamente onde non incorrere negli inconvenienti di ipofissazione o iperfissazione che si riflettono negativamente su tutte le successive fasi di lavorazione del campione, ivi comprese le colorazioni speciali (istochimica ed immunoistochimica), oltre che precludere una adeguata valutazione della morfologia cellulare.

I campioni da destinare ad indagini citologiche devono essere consegnati al più presto al laboratorio, in quanto il materiale non sottoposto a striscio su vetrino ha la tendenza a deteriorarsi, con la comparsa di fenomeni autolitici che alterano irrimediabilmente la morfologia cellulare, rendendo inidoneo il campione. I campioni che vengono consegnati già strisciati su vetrino, possono essere fissati lasciandoli essiccare all'aria e conservati per lunghi periodi a temperatura ambiente, avendo cura di proteggerli dalla polvere.

I campioni di sangue destinati ad indagini sierologiche possono essere consegnati al laboratorio freschi o refrigerati. Come accennato in precedenza il congelamento è riservato al siero dopo la separazione dal coagulo. I campioni in provette di litio-eparina, destinati ad indagini chimico-cliniche devono essere conservati a +4°C durante il trasporto ed il plasma separato e

successivamente congelato a -20°C fino al suo utilizzo. I campioni prelevati in EDTA da destinare alla valutazione dei parametri ematologici devono pervenire refrigerati al laboratorio che esegue le analisi, entro lo stesso giorno in cui è stato eseguito il prelievo.

PATOLOGIA ENTERICA E CAMPIONAMENTO.

Il tipo prelievo e le modalità di conservazione e di invio dei campioni al laboratorio, in caso di indagini inerenti alla patologia enterica, differiscono a seconda del sospetto diagnostico e quindi dei patogeni che si vogliono ricercare (Tabelle 2 e 3). Esistono tuttavia alcuni accorgimenti con valenza generale che è consigliabile seguire:

- nel caso di conferimento dell'intestino occorre campionare materiale fresco, il tratto gastro-enterico va rapidamente incontro a fenomeni autolitici
- nel caso che il campionamento preveda il prelievo di feci è consigliabile eseguirlo direttamente dagli animali (ampolla rettale)
- è possibile prelevare i campioni direttamente dal pavimento del box, campionando esclusivamente le feci presenti nella porzione superficiale
- evitare di conferire il materiale in pool preformati (sarà il laboratorio ad eseguire gli esami in pool numericamente idonei a seconda delle indagini richieste)
- l'utilizzo dei tamponi rettali non ha particolari controindicazioni, eccezion fatta per la ricerca di *Salmonella* sp., per cui sarebbe stata dimostrata una minor sensibilità rispetto al prelievo di feci (1).

Tabella 2: *Principali patogeni enterici batterici in relazione con le specifiche indicazioni relative al prelievo ed ai metodi diagnostici impiegati.*

Table 2: *Bacterial enteric diseases, sampling and diagnostic methods used.*

RICERCA	NECESSARIO PER LA DIAGNOSI	COMMENTO	METODICHE
<i>Clostridium difficile</i>	Intestino crasso	Materiale ben conservato	1. Esame colturale: porzione refrigerata 2. Ricerca tossine (ELISA)**: porzione congelata
<i>Escherichia coli</i> (ETEC, EPEC, EDEC)*	Carcasse, intestino, feci, tamponi rettali	Non conferire materiale proveniente da animali trattati	Esame colturale, tipizzazione sierologica (Fattori di adesività)
<i>Clostridium perfringens</i>	Carcasse o intestino tenue con contenuto	Materiale fresco, ben conservato e non congelato	Esame colturale, prove di conferma, genotipizzazione, esame istologico
<i>Salmonella</i> spp.	Feci, intestino crasso	Quantità di feci non < a 10 gr. Tamponi meno sensibili	Esame colturale, prove di conferma e sierotipizzazione
<i>Brachyspira</i> spp.	Feci fresche, cieco/colon	5-10 campioni da animali sintomatici, non congelare	Esame colturale, PCR per conferma e tipizzazione
<i>Lawsonia intracellularis</i>	Carcasse, intestino, feci	-	Nested PCR, Esame istologico

* *Escherichia coli* enterotossigeni (ETEC), enteropatogeni (EPEC), edemigeni (EDEC)

** ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)

Tabella 3: Principali patogeni enterici virali e parassitari in relazione con le specifiche indicazioni relative al prelievo ed ai metodi diagnostici impiegati.

Table 3: Viral and parasitic enteric diseases, sampling and diagnostic methods used.

RICERCA	NECESSARIO PER LA DIAGNOSI	COMMENTO	METODICA
PEDV	Carcasse o feci (Sangue)	Non eseguire pool di feci; scegliere animali nella fase acuta della malattia	Rt-PCR, ELISA antigene, (ELISA anticorpi)
ROTA VIRUS	Carcasse o feci	Prelevare campioni di animali nella fase acuta della malattia	Microscopia elettronica; ELISA antigene
TGEV	Carcasse o feci	Non eseguire in pool; scegliere animali nella fase acuta della malattia	Rt-PCR Microscopia elettronica, ELISA antigene
<i>Isospora spp.</i>	Feci o intestino con contenuto	Prelievi ripetuti nel tempo, eliminazione intermittente	Microscopico
<i>Ascaris suum</i>	Feci	-	Microscopico dopo flottazione
<i>Trichuris suis</i>	Feci, carcasse	-	Microscopico dopo flottazione

PATOLOGIA RESPIRATORIA E CAMPIONAMENTO.

La diagnosi delle malattie respiratorie del suino passa attraverso la correlazione e la comprensione dei risultati delle indagini di laboratorio dirette ed indirette. In questo contesto, la dimostrazione diretta dei patogeni con metodi colturali o biomolecolari e l'evidenziazione della sierconversione nei confronti di un determinato agente eziologico, con l'impiego del doppio prelievo, costituiscono l'approccio generalmente in uso.

Per la diagnosi diretta le matrici d'elezione su cui eseguire le indagini sono i polmoni di animali deceduti con sintomatologia rappresentativa del problema, tamponi nasali, tamponi tracheali e lavaggi bronco alveolari. Nelle tabelle 4 e 5 sono riportate schematicamente le indicazioni per l'esecuzione di un prelievo appropriato a seconda del sospetto diagnostico.

Tabella 4: Principali patogeni respiratori (batteri e micoplasm) in relazione con le specifiche indicazioni relative al prelievo ed ai metodi diagnostici impiegati.

Table 4: Bacterial and *Mycoplasma hyopneumoniae* respiratory diseases, sampling and diagnostic methods used.

RICERCA	NECESSARIO PER LA DIAGNOSI	METODICA
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	Carcassa, polmoni, tonsille (sangue)	Esame colturale, identificazione del biotipo e sierotipo. (ELISA anticorpi)
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Carcassa, polmoni, BAL, tamponi nasali	Esame colturale
<i>Pasteurella multocida</i>	Carcassa, polmoni, tamponi nasali e tonsillari	Esame colturale
<i>Haemophilus parasuis</i>	Carcassa, polmoni (meglio da soggetti sacrificati); conferire materiale fresco, non congelato	Esame colturale, sierotipizzazione, PCR
<i>Streptococcus suis</i>	Carcassa, polmoni, rene e milza	Esame colturale
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	Carcassa, polmoni, tamponi nasali e tracheobronchiali/BAL (sangue)	Esame istologico, PCR, IF (ELISA anticorpi)

Tabella 5: *Principali patogeni respiratori virali in relazione con le specifiche indicazioni relative al prelievo ed ai metodi diagnostici impiegati.*

Table 5: *Viral respiratory diseases, sampling and diagnostic methods used.*

RICERCA	NECESSARIO PER LA DIAGNOSI	METODICA
<i>PRRSV</i>	Polmone, campioni di saliva, seme, sangue	Rt-PCR, isolamento virale (coltura cellulare), indagini sierologiche (ELISA)
<i>SHV1 (virus della malattia di Aujeszky)</i>	Tamponi nasali, faringei, tonsillari, campioni di polmone, cervello	PCR; isolamento virale (coltura cellulare); esame istologico
<i>SIV (virus influenzali suini H1N1, H3N2, H1N2)</i>	Tamponi nasali, polmone (consegna entro 48 ore dal prelievo a +4°C; se consegna o esecuzione delle prove previste in tempi superiori conservare a -70°C (a -20°C il virus non è stabile; questo influisce sulla percentuale di isolamento)	Rt-PCR; isolamento virale (coltura cellulare, uova embrionate di pollo)
<i>PCV2</i>	Carcassa, organi linfatici (linfonodi in particolare), polmoni, intestino, ileo, reni	Esame istologico e IHC, isolamento virale, PCR

PATOLOGIA RIPRODUTTIVA

Il materiale patologico raccolto da episodi di aborto nella scrofa (feti e placenta) costituisce una matrice spesso in uno stato di conservazione non ottimale ed in preda a fenomeni autolitici. La raccolta tempestiva di questo materiale, per il successivo conferimento al laboratorio, evita l'instaurarsi di processi putrefattivi, nonché fenomeni di cannibalismo ed eviscerazione dei feti, che di fatto limitano le possibilità diagnostiche. In caso di materiale prelevato in seguito ad aborto nella scrofa occorre considerare alcune norme fondamentali:

- raccogliere ed inviare al laboratorio tutti i feti appartenenti ad un determinato aborto
- se possibile evitare il congelamento (questo limita l'esecuzione di eventuali esami istologici)
- associare al conferimento dei feti un'accurata anamnesi ed un prelievo di sangue per indagini sierologiche nelle scrofe che hanno abortito.

BIBLIOGRAFIA

1. Gardner I.A., Blanchard P.C. (2006). Interpretation of Laboratory Results. Disease of Swine. Section I, Chapter 10, 219-239.
2. Sibila M., Pieters M., Molitor T., Maes D., Haesebrouck F., Segalés J. (2009). Current perspectives on the diagnosis and epidemiology of Mycoplasma hyopneumoniae infection. Veterinary Journal, 181, 221-231.
3. Prickett J., Simer R., Christopher-Hennings J., Yoon K.J., Evans R.B., Zimmerman J.J. (2008). Detection of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in porcine oral fluid samples: a longitudinal study under experimental conditions. J Vet Diagn Invest. 20(2):156-163.
4. Oliveira S. and Pijoan C. (2004). Haemophilus parasuis: new trends on diagnosis, epidemiology and control. Veterinary Microbiology 99, 1-12.