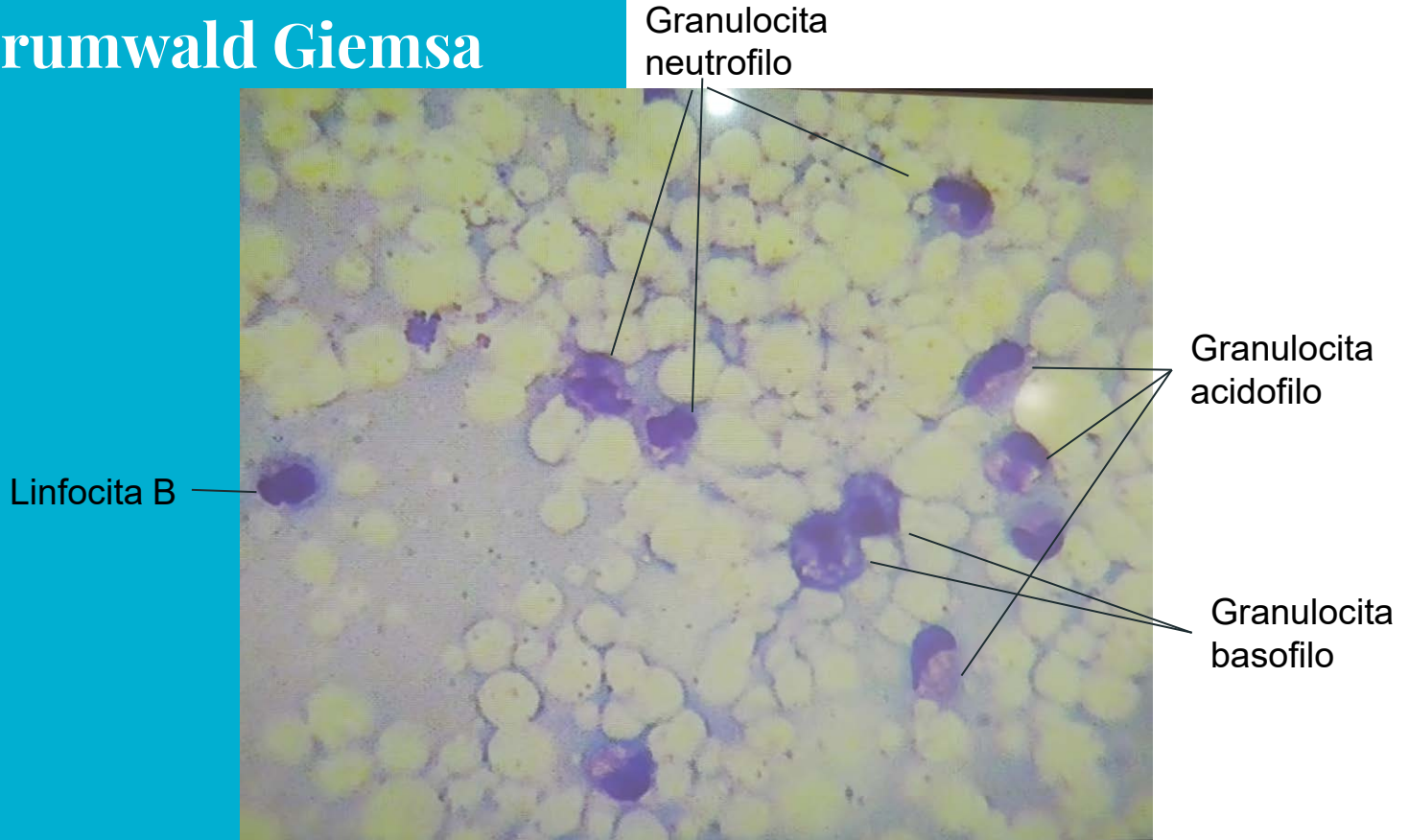


Striscio di latte colorazione

May Grumwald Giemsa



Rischio Mastite

La mastite è una patologia della ghiandola mammaria caratterizzata prevalentemente da batteri che ne determinano l'infiammazione.

La sua classificazione si basa su tre rilevazioni:

- presenza di eventuali **patogeni**
- quantità di **cellule somatiche**
- eventuale presenza di segni clinici

Infezione latente:

- esame batteriologico positivo
- cellule somatiche nella norma (<100.000 u/ml)
- assenza di segni clinici

Questa forma rappresenta la fase iniziale del processo patologico e può evolvere nelle forme più gravi (mastite subclinica o clinica) o guarire naturalmente grazie all'intervento delle difese immunitarie dell'animale.

Infiammazione:

- esame batteriologico negativo
- cellule somatiche tra 100.000 e 200.000 u/ml
- assenza di segni clinici

Questa forma può essere uno stadio iniziale o finale di una forma clinica o subclinica.

Mastite subclinica:

- esame batteriologico positivo o negativo
- cellule somatiche superiori a 200.000 u/ml
- assenza di segni clinici

Questa forma determina perdite produttive per la bovina.

Mastite clinica:

- esame batteriologico positivo o negativo
- cellule somatiche molto elevate
- segni clinici evidenti

Questa forma è rilevabile visivamente, si manifesta con alterazioni del latte (presenza di fiocchi, frustoli di fibrina, aspetto sieroso) e/o della mammella (aumento di volume, arrossamento, dolore, secrezione ridotta o assente).

Cellule somatiche

- + del 90% delle cellule somatiche nelle bovine sono riconducibili ai leucociti, mentre meno del 10% a cellule epiteliali

La conta di cellule somatiche nel latte (analisi citologica), anche in assenza di un isolamento di patogeni, può dare utili indicazioni sullo stato sanitario della mammella.

Nel latte sono presenti due categorie di cellule:

- cellule epiteliali: provenienti dalla desquamazione della mucosa che riveste internamente la mammella; questo tipo di cellule si riscontrano normalmente e non rivestono un significato patologico
- globuli bianchi o leucociti di origine ematica: presenti nel latte proveniente da mammelle sane in concentrazioni inferiori a 100-200.000 u/ml. Questo numero aumenta considerevolmente in situazioni patologiche potendo raggiungere e superare il milione u/ml.

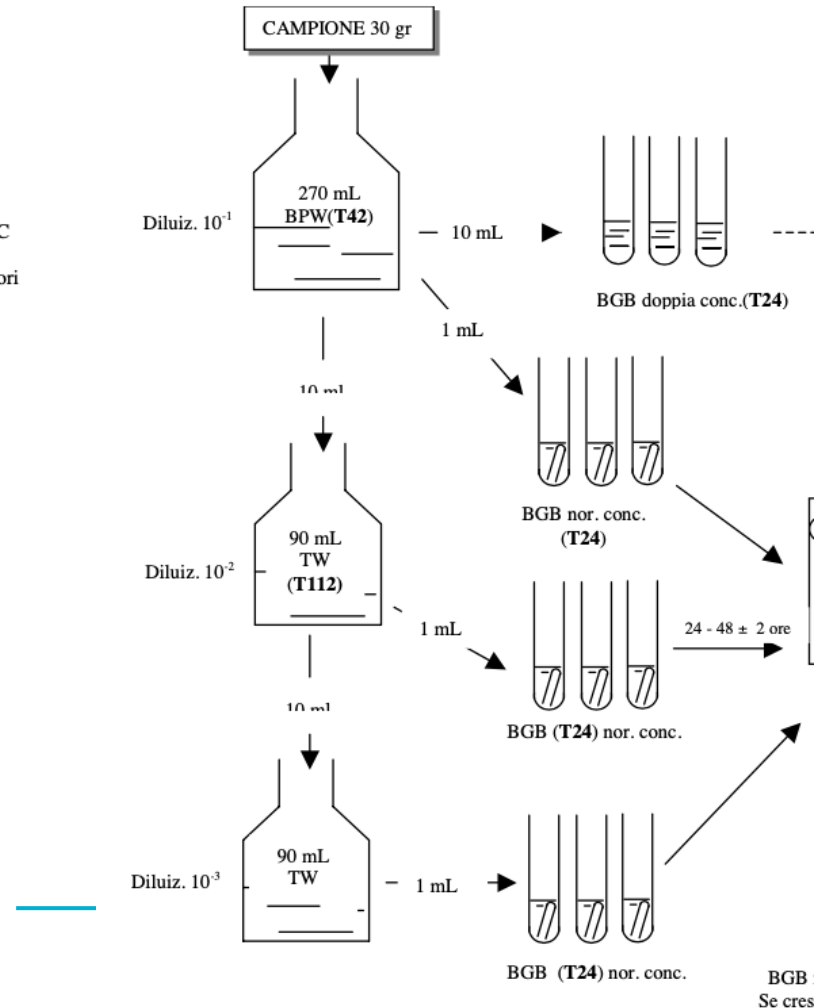
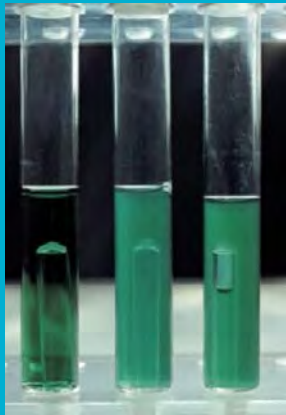
Numerazione Coliformi

Tecnica MPN

Famiglia enterobacteriaceae. Sono resistenti ai derivati della bile e ai coloranti trifenilmetanici. Utilizzano il Lattosio a 35-37°C Gram – catalasi + ossidasi – riducono i nitriti a nitriti. I CF crescono a 46°C.
E. coli è betaglucuronidasi e indolo pos. Alcuni sono associati alla diarrea infantile (EPEC enteropatogeni E.coli) altri produttori di enterotossine (ETEC enterotossigeni E.coli), altri a malattie dissenteriche (EIEC enteroinvasivi E.coli).

Prova Presuntiva in Brodo Bile Verde Brillante
Semina campione diluito 10, 100 e 1000 volte
Incubazione a 37 gradi C

Risultato positivo = Gas in campanella



Conferma in EMB levine agar

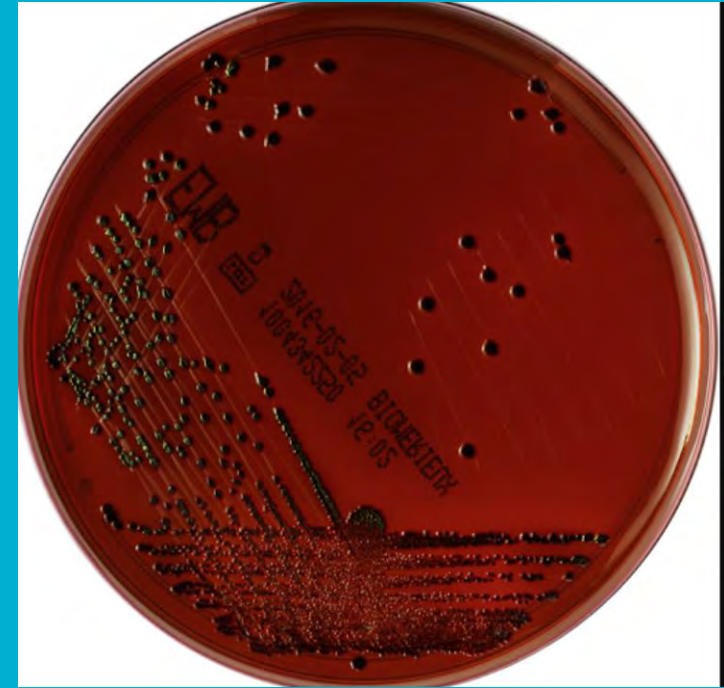
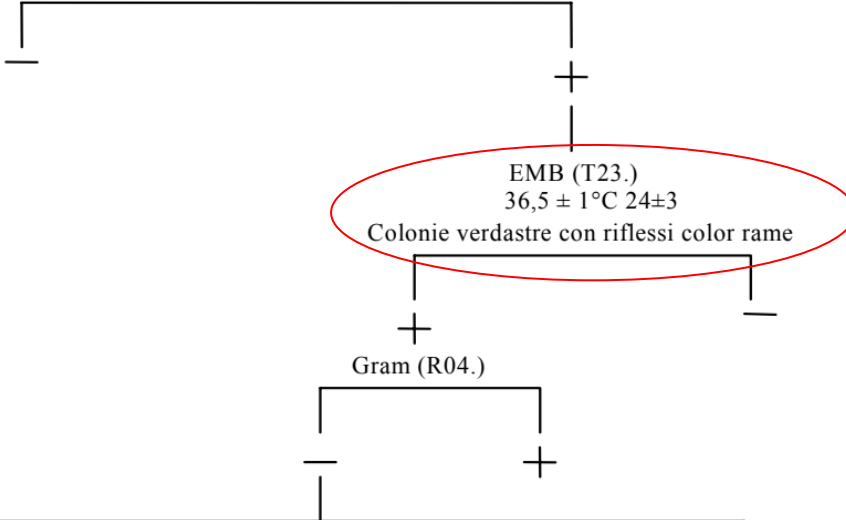
TECNICA DI ISOLAMENTO

Dalla soluzione. madre del campione in esame e dalle opportune diluizioni. scalari successive allestite, preparare, per ognuna, 3 tubi con 10 ml di BGB 2% (T12.) con campanula di Durham

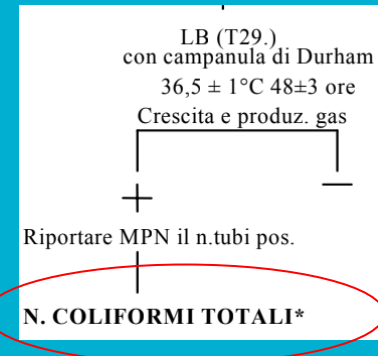
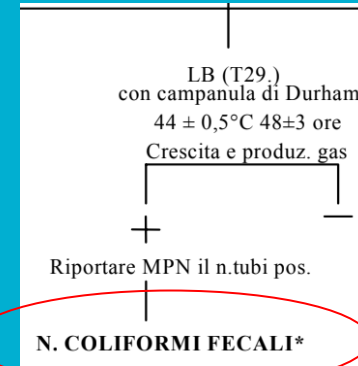
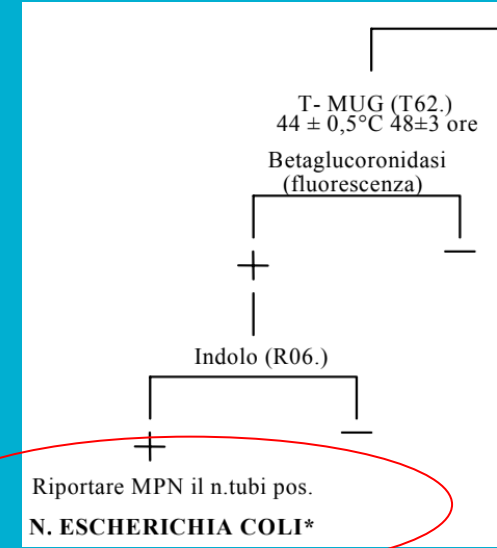
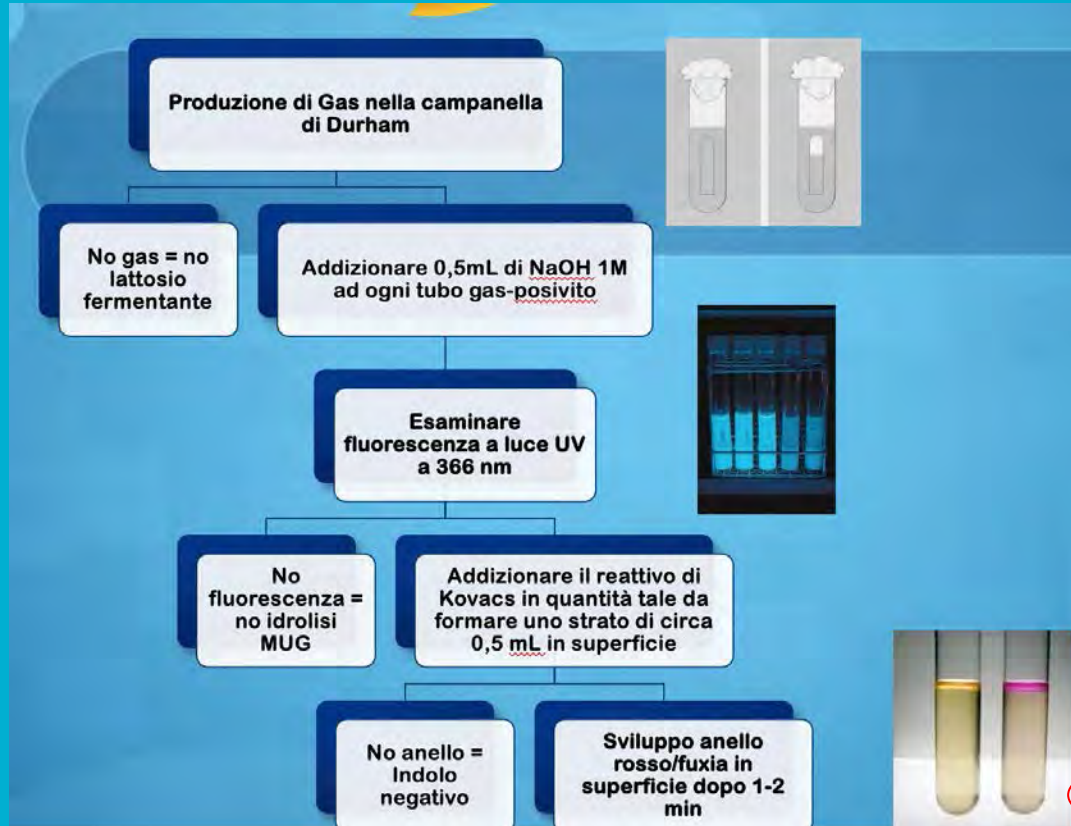
Trasferire 1 ml di ogni diluizione nei rispettivi tubi. A $36,5 \pm 1^\circ\text{C}$ per 48 ± 3 ore



Tubi in cui è avvenuta crescita batterica.e produzione di gas



Discriminazione in LB-MuG



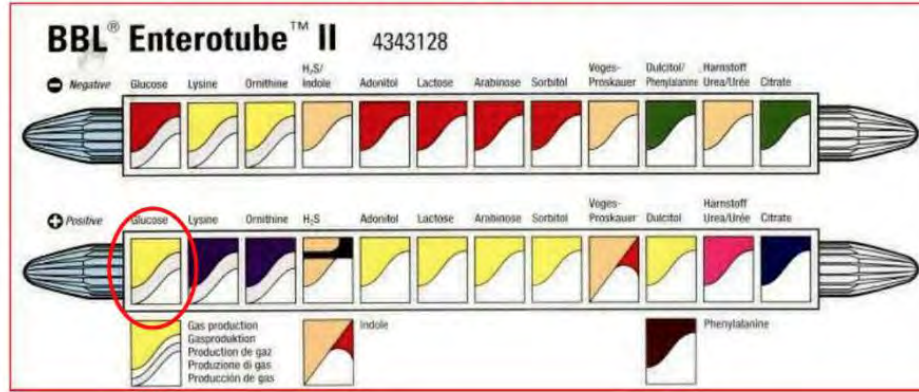
Risultati

Coliformi e Escherichia coli

Vacca	Coliformi	RANGE DI VALORI	Giudizio Qualità
Bellezza	0 MPN/30mL	Assente in 25 mL	Soddisfacente
Pioggia	0 MPN/30mL	Assente in 25 mL	Soddisfacente
Fiurinà	0 MPN/30mL	Assente in 25 mL	Soddisfacente
Furba	0 MPN/30mL	Assente in 25 mL	Soddisfacente
Milva	0 MPN/30mL	Assente in 25 mL	Soddisfacente

Prove d'identificazione della specie *Escherichia coli*, ceppo di controllo positivo

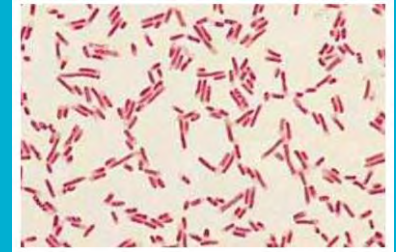
Enterotube



Gas production: Wax separates from agar OR

	destrosio	gas	lisina	ornitina	indolo	H ₂ S	adonitolo	lattosio	arabinosio	sorbitolo	Voges-P	dulcitol	fenilalanina	urea	citrato
reazione															

Gram -



Catalasi +



Numerazione Staphylococcus aureus

Semina per spatolamento su Baird
Parker agar

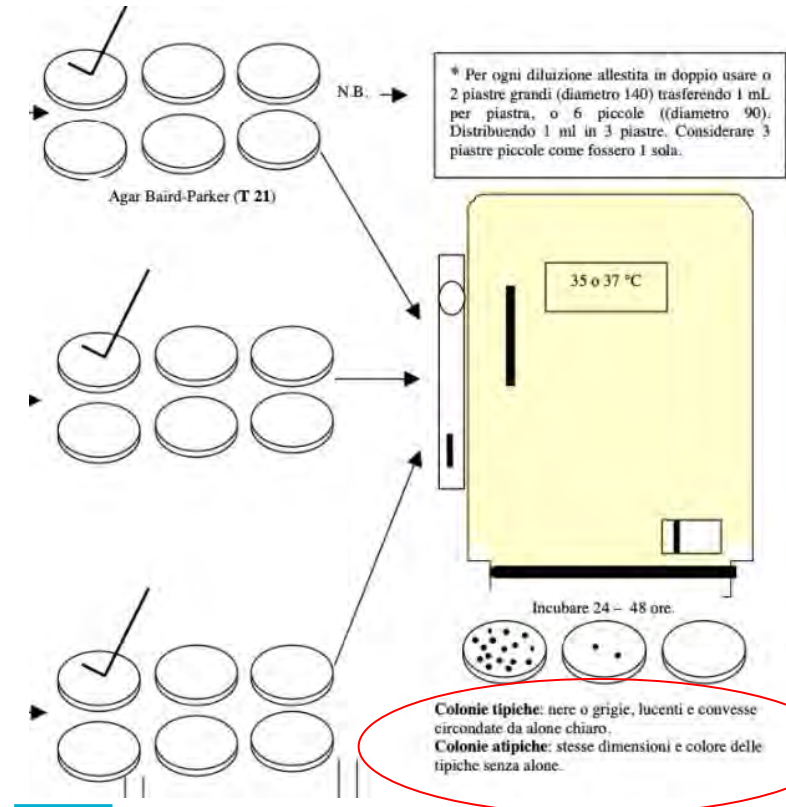
Attenzione a sterilizzare la spatola e
raffreddarla!!!

Omogenizzare il campione in superficie



Colonie nere =
riduzione tellurito

Alone di
chiarificazione =
degradazione tuorlo
d'uovo



Conteggio colonie tipiche di S.aureus



Determinare il numero di UFC/mL

Vacca	Carica S.aureus	GIUDIZIO QUALITÀ	RANGE DI VALORI
Bellezza	1075 UFC/mL	Accettabile	tra 500 - 2000 UFC/mL
Pioggia	975 UFC/mL	Accettabile	tra 500 - 2000 UFC/mL
Fiurinà	250 UFC/mL	Soddisfacente	<500 UFC/mL
Furba	675 UFC/mL	Accettabile	tra 500 - 2000 UFC/mL
Milva	825 UFC/mL	Accettabile	tra 500 - 2000 UFC/mL

Prova dell'emolisi

Semina in agar Sangue per discriminare emolisi

alpha =decolorazione verdastra nel terreno stesso, dovuta alla riduzione dell'emoglobina a metaemoglobina.

beta =lisi delle cellule rosse del sangue e provoca la formazione di una zona chiara attorno alle colonie.

gamma =assenza di emolisi

S.aureus solitamente produce beta emolisi dovuta all'azione di citotossine prodotte dal batterio



Emolisi

Risultati isolamento colonie *S. aureus* nei campioni di latte su agar sangue

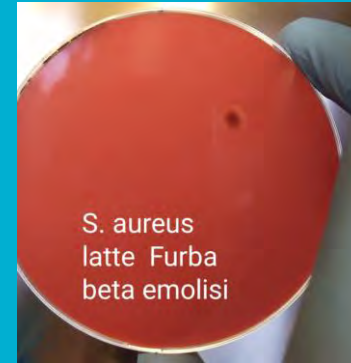


Latte Pioggia *S. aureus*
gamma emolisi

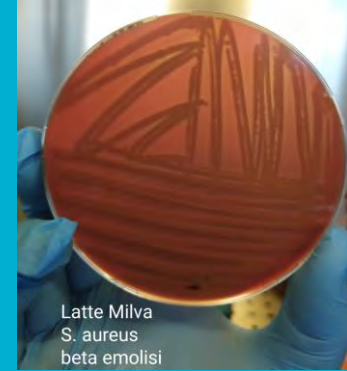
Latte Bellezza *S. aureus*
beta emolisi



controllo *S. aureus*
gamma emolisi



S. aureus
latte Furba
beta emolisi



Latte Milva
S. aureus
beta emolisi

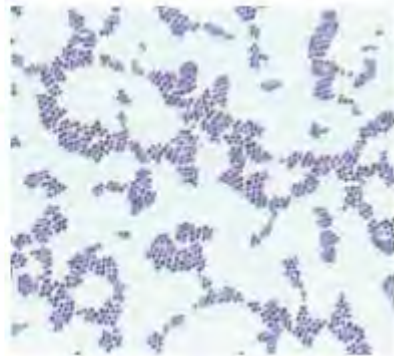


Latte Fiurina
S. aureus
beta emolisi

DIAGNOSI DI LABORATORIO: ISOLAMENTO DI *Staphylococcus aureus*

Esame batterioscopico:

Colorazione di Gram:
cocchi Gram positivi in
ammassi irregolari



Catalasi positivo



Mette in evidenza la produzione di catalasi
mediante la formazione di bolle (O_2) in
seguito all'aggiunta di H_2O_2 sulla coltura.

Test biochimici (*Staphylococcus aureus*)



API STAPH	V4.0	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR
<i>Staphylococcus aureus</i>		0	100	100	95	96	88	91	80	0	0	83	97	78	1	0	97	2	90	80	80	0

Riepilogo giudizi di qualità in base ai parametri ricercati in laboratorio

Vacca	CBM	Resazurina	Blu di metilene	Coliformi	Stafilococcus aureus
Bellezza	Ottimo	Buono	Ottimo	Assenti	Accettabile
Pioggia	Ottimo errori durante l'analisi	Mediocre	Buono	Assenti	Accettabile
Fiurinà	Buono	Ottimo	Ottimo	Assenti	Soddisfacente
Furba	Buono	Ottimo	Ottimo	Assenti	Accettabile
Milva	Mediocre	Buono	Ottimo	Assenti	Accettabile

Il latte delle nostre 5 vacche è
Conforme al regolamento CE n° 853 del 2004.

Classifica latte migliore qualità

