



Ministero della Salute

DIREZIONE GENERALE DELLA SANITA' ANIMALE E DEI FARMACI VETERINARI
Ufficio III - Centro Nazionale di lotta ed emergenza contro le malattie animali -
Unità centrale di crisi

Registro – Allegati: n.1

*Alle Regioni e Province Autonome
Assessorati alla sanità
Servizi Veterinari*

Agli IIZZSS

*e p.c CEA – IZS Torino
izsto@legalmail.it*

*ISS Roma
protocollo-centrale@iss.mailcert.it*

Trasmissione via pec

Oggetto: TSE – Istruzioni sulle refertazione delle indagini diagnostiche per le Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili

In data 02.02.2016 con nota prot n.2563 sono state trasmesse a tutti gli IIZZSS operanti nelle TSE le istruzioni revisionate sulle refertazioni di laboratorio in materia di Encefalopatie Spongiformi trasmissibili.

Considerato il ruolo di ciascun servizio veterinario operante su territorio, applicativo degli interventi sanitari a seguito dei riscontri di refertazione, si inoltrano per opportuna conoscenza e acquisizione le istruzioni aggiornate, al fine di rendere chiare le azioni da intraprendere a fronte degli esiti delle prove diagnostiche di conferma e rendere l'attività sanitaria omogenea a livello nazionale.

Cordiali saluti.

IL DIRETTORE GENERALE

*F.to Silvio Borrello

* Firma autografa sostituita a mezzo stampa, ai sensi dell'art.3, comma 2, del D.lgs.39/1993

Referente/Responsabile del procedimento:
Pierdaveide Lecchini – DGSA Uff. III
p.lecchini@sanita.it - 06.5994.3126
Maria Gabriella Perrotta – ex DGSA Uff. III
mg.perrotta@sanita.it - 06.5994.6938

Refertazione delle indagini diagnostiche per Encefalopatia Spongiforme Trasmissibile

Test rapidi

1. Sono eseguibili i campioni relativi ai capi soggetti a sorveglianza attiva, nel dettaglio:

BSE

- a) bovini nati negli Stati Membri elencati nell'Allegato della Decisione della Commissione 2009/719/UE e s.m.i. (Dec. 2013/76/UE, Nota Ministero della Salute 11885 del 12/06/2013) di età superiore o uguale a quella prevista da normativa nazionale e comunitaria vigente (ora 48 mesi) soggetti:
- alla **macellazione d'urgenza** o che,
 - presentano segni di incidenti, gravi problemi fisiologici e funzionali ad un esame *ante mortem* (**macellazione differita**), quali descritti nell'allegato III, capitolo A, parte I, punto 2.1, del regolamento (CE) n. 999/2001 e gli animali con segni clinici o sospetti di malattie trasmissibili all'uomo o gli altri animali (sono esclusi gli animali abbattuti nelle campagne di eradicazione),
 - **morti** oppure **abbattuti** come descritti nell'allegato III, capitolo A, parte I, punto 3.1, del regolamento (CE) n. 999/2001;
- b) bovini nati al di fuori degli Stati Membri elencati nell'Allegato della Decisione della Commissione 2009/719/UE e s.m.i. (Dec. 2013/76/UE, Nota Ministero della Salute 11885 del 12/06/2013):
- **morti, macellati d'urgenza, macellati "in differita"** (categorie a rischio) di età superiore o uguale a quella prevista da normativa comunitaria vigente (ora 24 mesi) quali descritti nell'allegato III, capitolo A, parte I, punto 2.2 del regolamento (CE) n. 999/2001;
 - **regolarmente macellati** di età superiore o uguale a quella prevista da normativa comunitaria vigente (ora 30 mesi) quali descritti nell'allegato III, capitolo A, parte I, punti 2.1 e 3.1 del regolamento (CE) n. 999/2001.

SCRAPIE

- a) ovini e caprini **macellati per il consumo umano** di età superiore o uguale a quella prevista da normativa nazionale e comunitaria vigente (ora 18 mesi, oppure con due o più incisivi permanenti già spuntati) quali descritti nell'allegato III, capitolo A, parte II, punto 2 del regolamento (CE) n. 999/2001;
 - b) ovini e caprini trovati **morti o abbattuti per motivo diverso da TSE** di età superiore o uguale a quella prevista da normativa nazionale e comunitaria vigente (ora 18 mesi, oppure con due o più incisivi permanenti già spuntati) quali descritti nell'allegato III, capitolo A, parte II, punto 3 del regolamento (CE) n. 999/2001;
 - c) ovini e caprini di età superiore o uguale a quella prevista da normativa nazionale e comunitaria vigente (ora 18 mesi, oppure con due o più incisivi permanenti già spuntati) **abbattuti per essere distrutti o macellati** in conformità delle disposizioni di cui al capitolo B, parte 2, punto 2.2.1 e punto 2.2.2, lettera b) o c), dell'allegato VII.
- 2) I campioni eseguibili devono essere definiti come “**non valutabili**” qualora per una qualsiasi causa l'obex sia mancante o irricognoscibile.
- 3) Devono essere considerati “**non eseguibili**” i campioni sottoposti ad accettazione:
- a. non rientranti nei parametri di cui al precedente punto 1);
 - b. fuori dal campo di applicazione del metodo per assenza di tessuto nervoso;
 - c. sottoposti ad accettazione ma non pervenuti in laboratorio (es. contenitore vuoto);
 - d. da inviare al CEA per materiale insufficiente;
 - e. da inviare al CEA perché completamente fissati in formalina.
- 4) Relativamente alla trasmissione mensile dei dati della sorveglianza attiva al BEAR tramite **webupload**, le codifiche riguardanti il campo “esito della prova” del flusso dati, attualmente previste (P, per positivo; N, per negativo; I, per non valutabile su capo macellato d'urgenza, per differita, regolarmente; X , per non valutabile su capo morto in stalla) e riportate nel tracciato record disponibile all'url: <http://webupload.izsto.it/upload/>, dal 01/01/2016 verranno modificate come segue:
- a) **P** ---> per positivo;
 - b) **N** ---> per negativo;
 - c) **X** ---> per non valutabile.

Non vi sarà più la distinzione tra i campioni non valutabili su capo macellato (d'urgenza; per differita; regolarmente) e capo morto in stalla, in quanto questa potrà essere ricavata dal campo

“*morte/macell*” per la BSE e “*motivo prelievo*” per la Scrapie. Si introduce la codifica per campioni non eseguibili; in tal modo i dati di tutti i campioni accettati e refertati in sorveglianza TSE dai singoli IZZSS vengono trasmessi al CdR.

NB: relativamente alla trasmissione mensile dei dati della sorveglianza attiva al BEAR tramite webupload, qualora un campione di tessuto nervoso proveniente da animali **non** soggetti a sorveglianza attiva (inclusi i capi sotto età diagnostica) venisse comunque sottoposto a test rapido, allora si inserisca il codice **N, P, X**, a seconda del risultato analitico ottenuto, nel campo “*Esito della prova*” del flusso dati webupload (<http://webupload.izsto.it/upload/>).

Le indicazioni pratiche sono riportate in tabella:

Descrizione del campione	Come agire	Cosa riportare nel campo "Esito" del rapporto di prova del test rapido	Cosa inserire nel campo "Esito della prova" del flusso dati webupload (http://webupload.izsto.it/upload/)
Obex riconoscibile	Effettuare il test rapido	Positivo Negativo	P N
	In caso di esito negativo, riportare: Non valutabile	X	
Obex mancante o irriconoscibile	Effettuare il test rapido	* Test eseguito su porzione non riconoscibile come area target (Regolamento CE 999/2001, All. 10, Cap. C, punto I)	
Tessuto nervoso assente	NON effettuare il test rapido ma produrre il Rdp	Positivo Non eseguibile	P
Tessuto nervoso proveniente da animale soggetto a sorveglianza attiva	Materiale insufficiente (inferiore ad 1g)	* Fuori dal campo di applicazione del metodo (assenza di tessuto nervoso)	
	Completamente fissato in formalina	*Materiale insufficiente Non eseguibile	
	Non pervenuto in laboratorio	*Fissato in formalina Non eseguibile	Non essendo effettuato il test rapido, non viene trasmesso al BEAR con webupload
	Sotto età diagnostica	*Campione non pervenuto Non eseguibile	
Tessuto nervoso proveniente da animali NON soggetti a sorveglianza attiva	* Fuori dal campo di applicazione del piano di campionamento (sotto età diagnostica)	Non eseguibile	
	* Fuori dal campo di applicazione del piano di campionamento	Non eseguibile	

* Da riportare nel campo note del Rapporto di Prova

Conferme CEA

Il Centro per le Encefalopatie Animali (CEA) dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, in qualità di laboratorio di riferimento nazionale, ha il compito di accertare la presenza di una EST ricorrendo ad almeno uno dei metodi e protocolli analitici descritti nel manuale OIE (Reg. CE 999/2001- allegato X, Capitoli A e C).

Flusso dei campioni inviati al CEA

Sorveglianza passiva

In caso di sospetti clinici ufficiali di EST, l'IZS competente deve provvedere all'invio dell'encefalo al CEA seguendo le procedure tecniche di campionamento riportate nella nota ministeriale DGSA 0020017-P-16/11/2011.

Sorveglianza attiva

In caso di esito positivo o non conclusivo al test rapido per BSE o Scrapie tutti i tessuti disponibili (tronco encefalico, cervelletto, encefalo) devono essere inviati immediatamente al CEA per l'espletamento delle conferme diagnostiche.

Indagini diagnostiche espletate dal CEA

Il CEA provvede a confermare i casi sospetti di BSE o di Scrapie basando le indagini diagnostiche sui seguenti tre metodi analitici:

1. metodo immunostochimico (IHC);
2. Western Blot;
3. esame istologico.

Il giudizio diagnostico conclusivo si basa su un esito certo di almeno uno dei tre test di conferma. Lo stesso viene inoltre esplicitato dal CEA nella lettera di comunicazione ufficiale degli esiti in accompagnamento ai rapporti di prova.

Possibili esiti dei test di conferma e significato

Esame diagnostico	Esito	Descrizione esito
Istologico (campione in formalina)	Positivo	Presenza di vacuolizzazione neuronale e/o spongiosi del neuropilo
	Negativo	Assenza di vacuolizzazione neuronale e/o spongiosi del neuropilo
	Non valutabile	Scarsa rappresentazione dei siti target / autolisi / congelamento
	Non conclusivo	Insufficiente vacuolizzazione del neuropilo
Immunostochimico (campione in formalina)	Positivo	Presenza depositi di proteina prionica patologica (PrP ^{Sc})
	Negativo	Assenza di depositi di PrP ^{Sc}
	Non valutabile	Scarsa rappresentazione dei siti target / autolisi / congelamento
Western Blot (campione congelato)	Positivo	Presenza di PrP ^{Sc}
	Negativo	Assenza di PrP ^{Sc} a livello di obex
	Non valutabile	Assenza di obex /obex non riconoscibile
	Non eseguibile	Sospetta cross-contaminazione/campione fissato in formalina

Azioni da intraprendere a fronte di esiti conclusivi delle conferme diagnostiche

Campione positivo: se il risultato di uno dei tre esami di conferma è positivo l'animale deve essere considerato un caso positivo di EST. Questo comporta l'apertura del focolaio e la sua gestione ai sensi dell'Allegato VII, Capitolo A del Regolamento (CE) 999/2001.

Campione negativo: se il risultato dei tre esami di conferma è negativo, oppure se il risultato di almeno uno dei tre esami di conferma è negativo in presenza di esito non conclusivo o non valutabile dei restanti esami di conferma, l'animale deve essere considerato esente da EST e pertanto si procede con la revoca di tutte le misure adottate nei confronti dell'azienda di provenienza del caso.

Campione non valutabile: se nessuno degli esami di conferma consente di giungere ad un giudizio diagnostico conclusivo deve essere intrapresa nei confronti dell'azienda di provenienza dell'animale una "sorveglianza controllata" sulla base di quanto comunicato con Nota Ministeriale 13279 del 24/06/2014.

**CEA
CONFERMA
DIAGNOSTICA**

Campione negativo			
WB	-	NV	-
IHC	-	-	NV
HP	-	NC	NV

Campione non valutabile	
WB	NV
IHC	NV
HP	NV

Campione positivo					
WB	+	+	+	+	-
IHC	+	+	+	-	+
HP	+	NV	NC	NC	NC

**Campione confermato
INVIO A ISS**

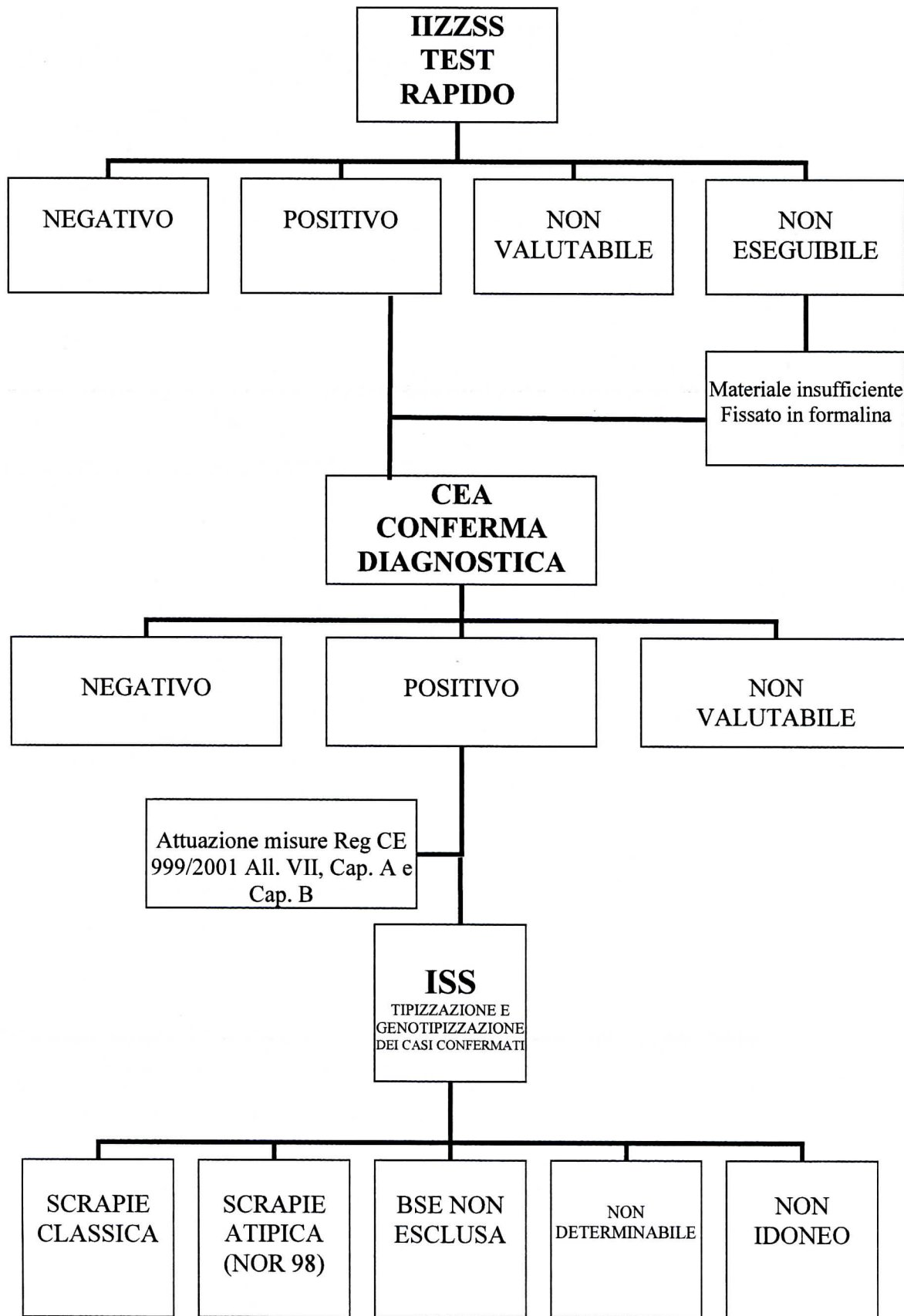
**Apertura focolaio
All. VII Cap. B Reg. CE 999/2001**

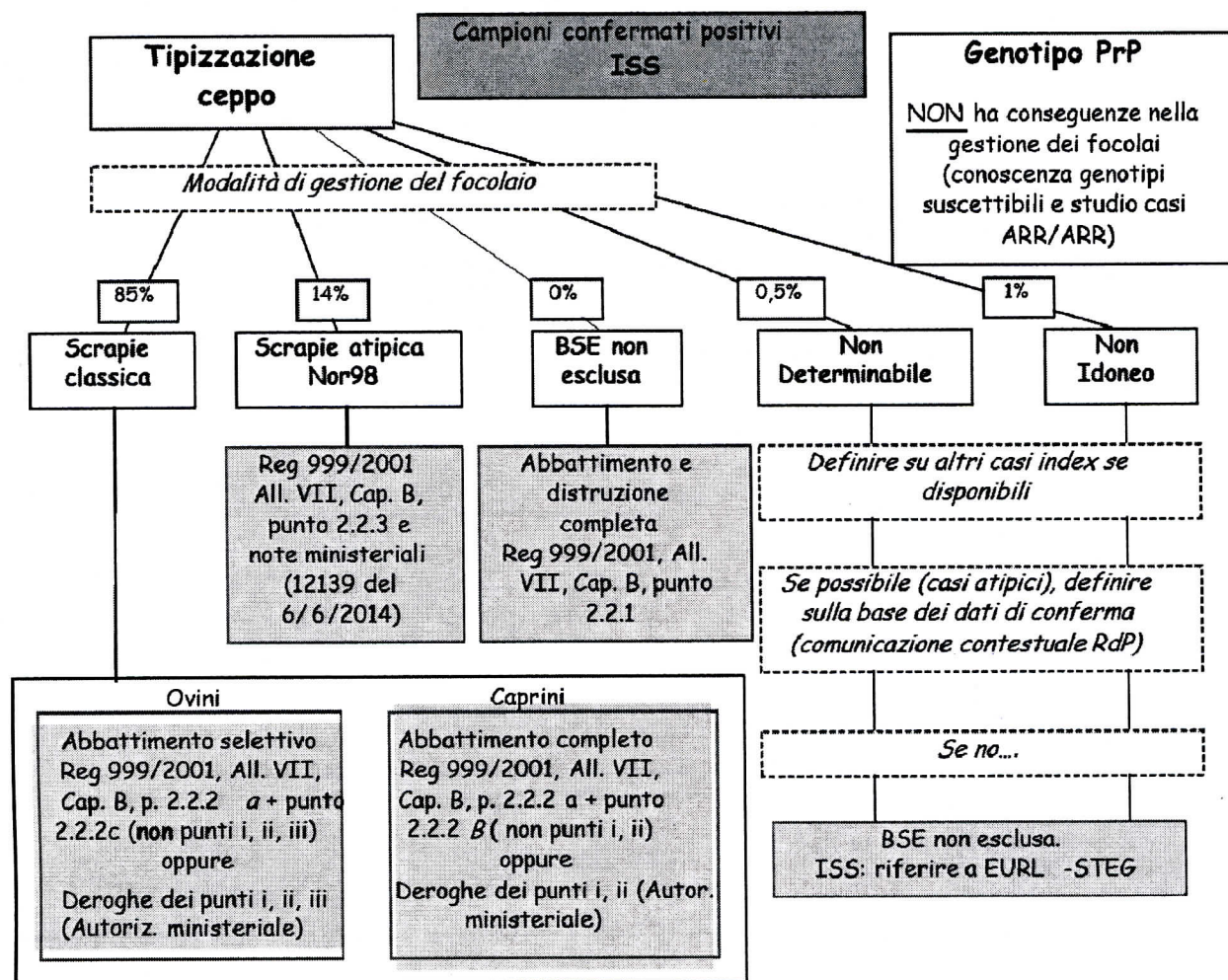
**Revoca di tutte le misure
adottate**

**Sorveglianza controllata
(Nota 13279-24/06/2014)**

WB: esame western blot; IHC: esame immunoistochimico; HP: esame istologico;
NC: esito non conclusivo; NV: campione non valutabile

ITER DIAGNOSTICO DELLE EST





N.B L'abbattimento totale dei capi ovini diverso da quello del punto 2.2.1 del cap.,B All. VII può essere applicato solo previa autorizzazione del Ministero della salute in presenza di valide motivazioni come disposto nelle note DGVA VIII/ 43501/ P- I.8.d/48 del 1/12/2006 e DGVA VIII/ 7516/ P- I.8.d/48 del 11/7/2007.