

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 IIZZSS 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/) |
|--|---|---|--|---|
| Tessuto nervoso proveniente da animale soggetto a sorveglianza attiva | Obex riconoscibile | Effettuare il test rapido | Positivo Negativo | P N |
| | Obex mancante o irriconoscibile | Effettuare il test rapido | In caso di esito negativo, riportare: Non valutabile * Test eseguito su porzione non riconoscibile come area target (Regolamento CE 999/2001, All. 10, Cap. C, punto1) | X |
| | | | In caso di esito positivo, riportare: Positivo | P |
| | Tessuto nervoso assente | NON effettuare il test rapido ma produrre il RdP | Non eseguibile * Fuori dal campo di applicazione del metodo (assenza di tessuto nervoso) | Non essendo effettuato il test rapido, non viene trasmesso al BEAR con webupload |
| | Materiale insufficiente (inferiore ad 1g) | NON effettuare il test rapido ma inviare il campione al CEA | Non eseguibile *Materiale insufficiente | |
| | Completamente fissato in formalina | NON effettuare il test rapido ma inviare il campione al CEA | Non eseguibile *Fissato in formalina | |
| | Non pervenuto in laboratorio | NON effettuare il test rapido ma produrre il RdP | Non eseguibile *Campione non pervenuto | |
| Sotto età diagnostica | NON effettuare il test rapido | Non eseguibile * Fuori dal campo di applicazione del piano di campionamento (sotto età diagnostica) | | |
| Tessuto nervoso proveniente da animali NON soggetti a sorveglianza attiva | Altro | NON effettuare il test rapido | Non eseguibile * Fuori dal campo di applicazione del piano di campionamento | |

* 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 immunoistochimico (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 |
| Immunoistochimico (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 |

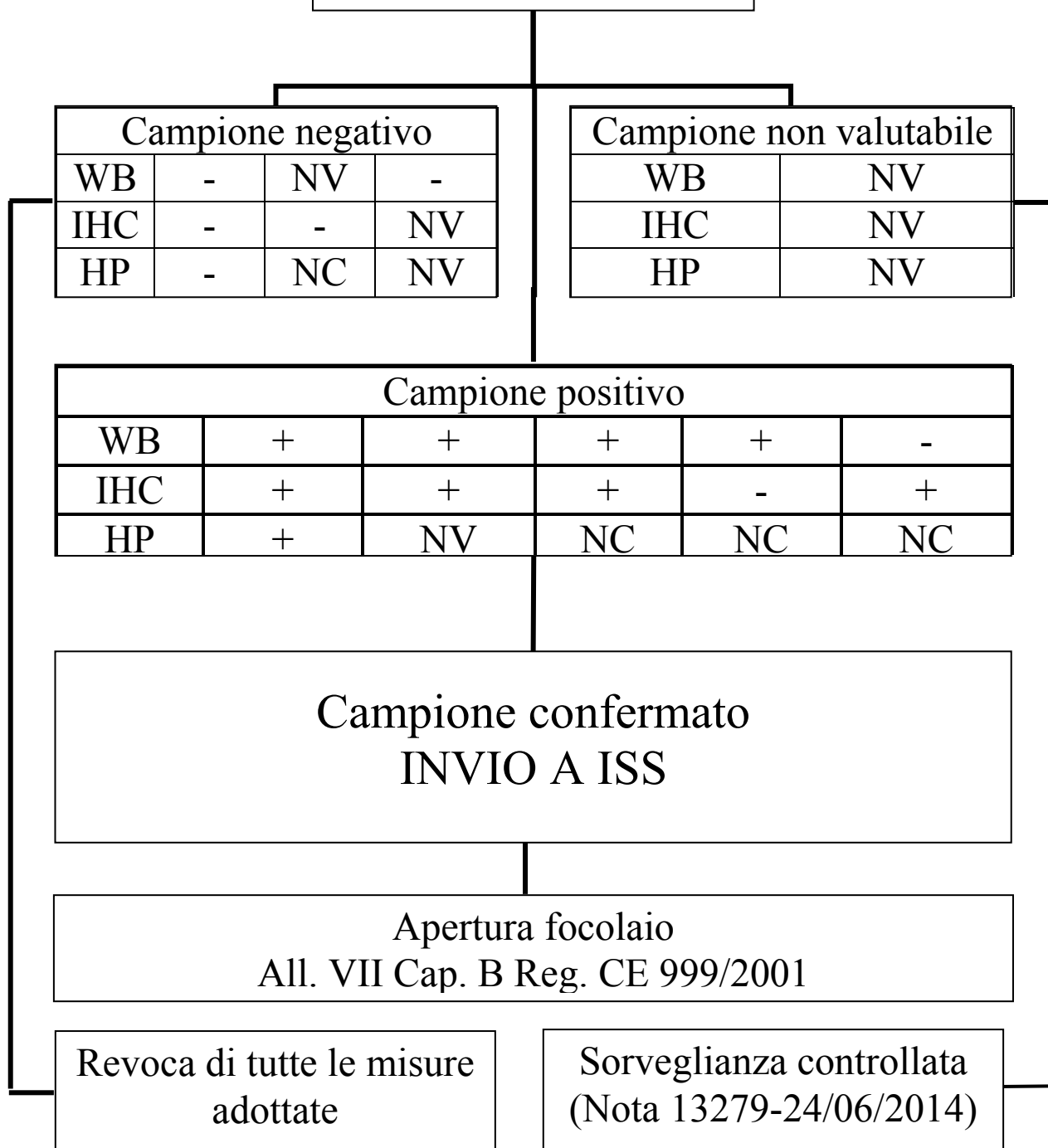
Azioni da intraprendere a fronte di esiti conclusivi delle conferme diagnostiche

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.

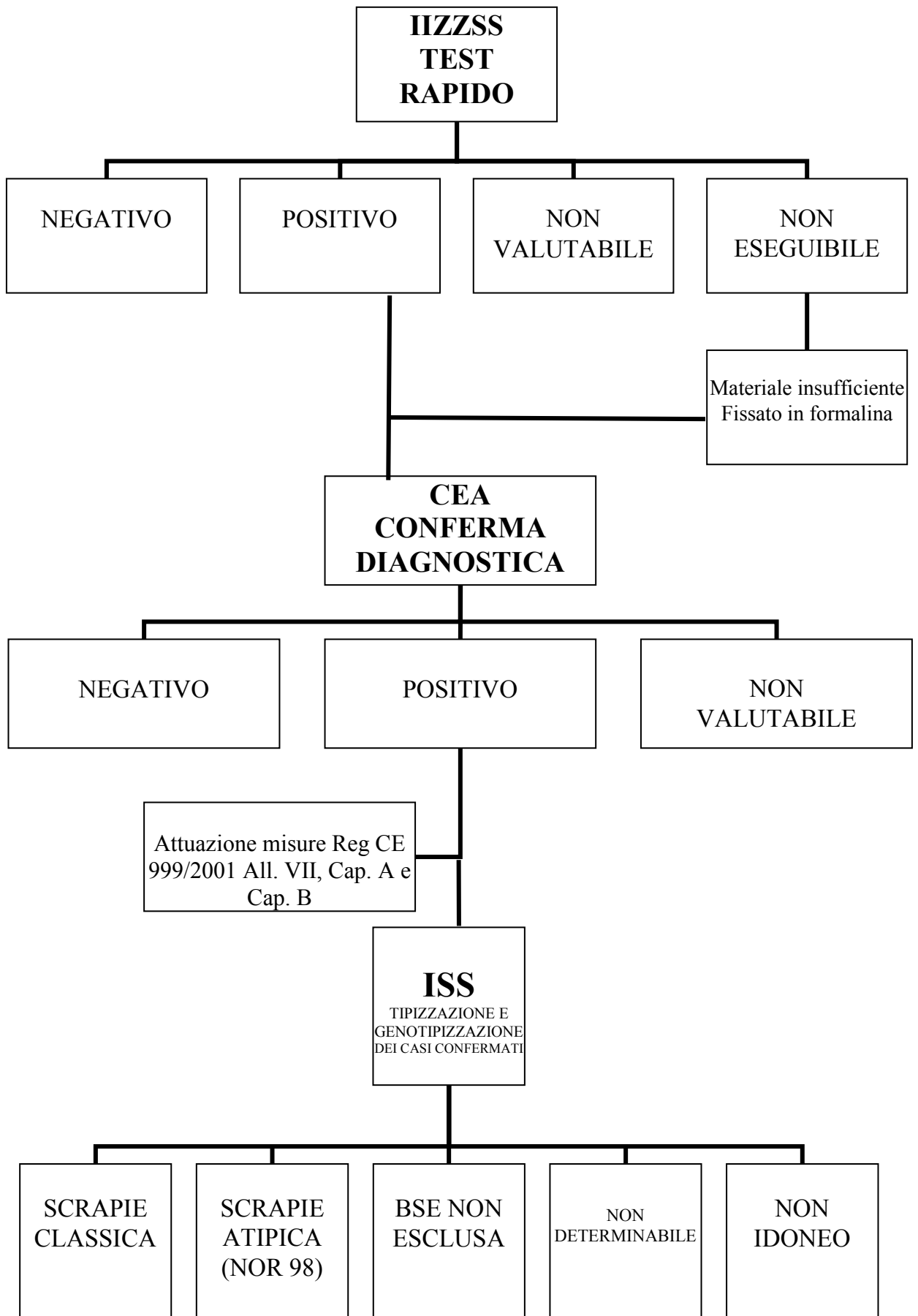
Campione non valutabile: se nessuno degli esami di conferma consente di giungere ad un giudizio diagnostico conclusivo deve essere intrapresa nei confronti dell'azienda di provenienza dell'animale una "sorveglianza controllata" sulla base di quanto comunicato con Nota Ministeriale 13279 del 24/06/2014.

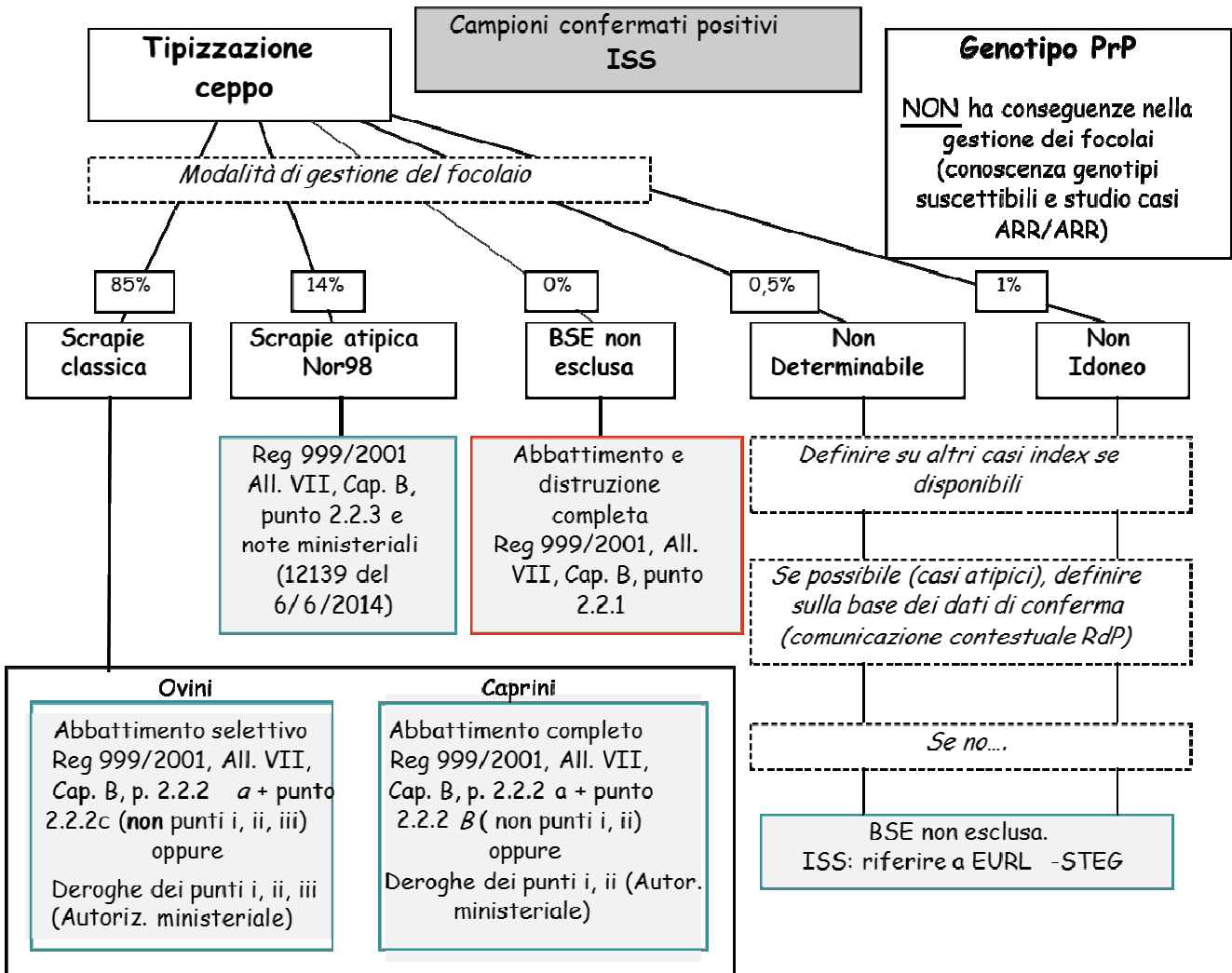
**CEA
CONFERMA
DIAGNOSTICA**



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.



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

Trasmissione elettronica
 N. prot. DGSAF in Docspa/PEC

Registro – Allegati: n.1

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

Agli IZZSS

*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 IZZSS 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:
 Pierdavide 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