

In ottemperanza a quanto concordato durante la riunione di aprile 2016 presso il Ministero della Salute, in data 14 febbraio 2017 sono iniziate le procedure di armonizzazione per l'eradicazione della Tuberculosis in Regione Campania. Alla lezione frontale sono seguite due giornate per la standardizzazione sia a livello di macello che in allevamento. I colleghi Loris Alborali e Maria Grazia Zaroni, per il Centro di Referenza Nazionale sulla Tuberculosis, dell'IZSLER, hanno eseguito, unitamente a personale del Centro di Referenza Nazionale CRenBuf, presso il Macello Di Tella una lezione pratica su bufali macellati in macellazione ordinaria in data 16 febbraio e presso l'allevamento lemma Cesare, focolaio di TBC, sia su bufali da inoculare che su bufali già inoculati, in data 17 febbraio. Entrambe le giornate hanno visto ripetere la medesima lezione pratica per gruppi di colleghi non superiori a 15 per gruppo, consentendo a tutti i partecipanti di approfondire l'argomento in maniera frontale con il docente. Durante le lezioni, sia al macello che in allevamento, sono emerse numerose difformità operative, legate ai seguenti fattori, come dichiarato dai colleghi presenti: dispositivi in dotazione, dotazione organica del distretto, mancata erogazione di procedure armoniche distrettuali, eccessivo adattamento alle deficitarie condizioni di allevamento, sfiducia nelle prove nella specie. Il rilevamento di tali gap giustifica pienamente quanto erogato nelle tre giornate di lavoro, e impone la trasmissione di specifiche linee guida per la standardizzazione delle procedure, al fine di applicare una armonizzazione delle manualità e del comportamento operativo e di flussi durante e dopo il processo diagnostico. Scopo delle regole comportamentali dettate dalle procedure allegate è appunto standardizzare in maniera univoca le operazioni, a prescindere dalla validità di quelle effettuate fino ad ora, con l'unico intento di poter fornire alla Regione, al Centro di Referenza nazionale sulla TBC ed al Ministero della Salute, dopo due anni dall'applicazione di tali procedure, dati consistenti ed univoci nella specie bufalina su: specificità e sensibilità dell'intradermoreazione, percentuale reale di capi con lesioni non visibili al macello e positivi alla prova in vivo, corretta analisi delle criticità diagnostiche. I dati raccolti consentiranno di supportare eventuali richieste procedurali dedicate alla specie, supportando l'eventuale introduzione o esclusione definitiva della prova intradermica doppia, oltre a condurre ad una conoscenza più approfondita delle percentuali di prevalenza della malattia sul territorio. A tal fine è pertanto necessario ridurre ad una percentuale prossima allo zero il numero delle variabili dovute ai singoli operatori, lasciando quale variabile solo il risultato diagnostico. Il Centro di Referenza Nazionale Tuberculosis inoltre si rende disponibile a supportare la Regione Campania in eventuali controversie, qualora le procedure effettuate in corso di diagnosi rispettino quanto stabilito in fase di armonizzazione. I docenti hanno inoltre dato liberatoria all'esecuzione di filmati sia al macello che in allevamento, che costituiranno per la Regione Campania materiale didattico di approfondimento per specifiche esigenze ulteriori di formazione territoriale. Tale materiale è attualmente in dotazione di questo Ente e verrà trasmesso tramite CD, data la pesantezza dei files.

Di seguito sono riportate in maniera descrittiva le procedure dettate dal Centro di Referenza Nazionale Tuberculosis Bovina, per la successiva diffusione al territorio:

“PROCESSO DI STANDARDIZZAZIONE DELLE PROCEDURE PER L'ERADICAZIONE DELLA TUBERCOLOSI IN REGIONE CAMPANIA”

MACELLO:

Protocollo da applicare su carcasse di animali dubbi o positivi all'Intradermoreazione, animali provenienti da allevamento con qualifica sospesa oppure dichiarati infetti, animali in macellazione ordinaria con rilevamento di lesioni imputabili a TBC durante le operazioni di macellazione.

Materiale di cui disporre: Coltello, sterilizzatore, bisturi, sacchetti/contenitori identificati

Verbale di prelievo: Allegato 4 o 3 del DD 226/2016

Procedura:

L'ispezione deve avvenire in una zona dedicata solo all'ispezione dei sospetti, possibilmente con un tavolo di marmo su cui stendere il pacchetto intestinale e gli altri organi; qualora ciò non fosse possibile è necessario far stendere un telo a terra dove poter dedicare almeno 40 minuti all'ispezione dedicata. Dato il tempo da dedicare alle operazioni, è necessario che, in caso di invii al macello di numerosi capi provenienti da un allevamento, ci sia organizzazione su squadre di supporto da inviare in sede di macello, considerando, come si evince di seguito, che seppur in un gruppo di animali sospetti si dovesse rilevare una prima positività all'esame anatomopatologico, è necessario esaminare anche i restanti capi con la medesima procedura e accuratezza. Sarebbe auspicabile che in casi di macellazione di questa tipologia di soggetti, uno dei veterinari del macello, sia dedicato esclusivamente all'ispezione in sala separata, degli organi. **Ai fini dell'armonizzazione è rilevante non trovare le lesioni ma applicare uniformemente le procedure.** La maggiore accuratezza crea un momento di sinergia tra Veterinari di Area A e Veterinari di Area B, lavorando uno a sostegno dell'altro.

E' necessario dare indicazioni al personale del macello, già in fase di macellazione di capi sospetti, dubbi o infetti, sull'asportazione dei linfonodi poplitei e prescapolari, che viaggeranno insieme ai restanti organi, nella zona dedicata all'ispezione dedicata con apposito cartellino identificativo.

FASI

- Verifica dell'**identificazione** dell'animale, verifica della presenza delle **targhette identificative** su ogni pacchetto d'organo e la testa
- Ispezione della testa: asportazione dei linfonodi retrofaringei, delle amigdale e dei linfonodi mandibolari; posizionare quanto asportato sul piano prescelto
- Ispezione organi toracici: Palpazione del polmone e ispezione della pleura parietale; in caso di lesioni palpabili si procede ad asportazione della zona coinvolta con un ampio margine di escissione; asportazione dei linfonodi tracheobronchiali, mediastinici anteriori, mediastinici posteriori; posizionare quanto asportato sul piano prescelto;
- Ispezione del fegato: asportazione di zone con lesione; asportazione dei linfonodi periportal; posizionare quanto asportato sul piano prescelto;
- Ispezione dei restanti visceri addominali: asportazione di eventuali porzioni d'organo con lesioni; taglio di almeno tre linfonodi inseriti ancora nel mesentere in diversi distretti dell'intestino; asportazione di almeno 3 linfonodi meseraici ancora integri (uno nella zona del tenue, uno nella zona ciecale ed uno nella zona del colon); posizionare quanto asportato sul piano prescelto;
- Asportazione dei linfonodi sovramammari; posizionare quanto asportato sul piano prescelto;
- Asportazione linfonodi prescapolari e poplitei; posizionare quanto asportato sul piano prescelto;
- Se si è presenti dopo la pulizia della carcassa, asportare anche i linfonodi subiliaci

Non aprire in questa fase i linfonodi, limitarsi solo a riporli sul piano, ad eccezione di una parte di quelli meseraici, diversi da quelli che verranno asportati. I linfonodi indicati devono essere tutti prelevati, sia in caso di presenza di lesioni che in caso di assenza. Non fermarsi all'organo che presenta lesioni, poiché può accadere che l'isolamento avvenga da linfonodi apparentemente negativi e non da quelli con lesione. Il posizionamento sul ripiano dedicato al sezionamento, deve essere effettuato suddividendoli per regione, al fine di non confondere la zona di provenienza. Al

fine di non confondersi, si consiglia di preparare singoli sacchetti riportanti la dicitura dei linfonodi prelevabili, e posizionare i linfonodi in prossimità del corrispettivo sacchetto.

Sezionamento :

Tutti i linfonodi devono essere sezionati con più tagli. Se si individuano organi o linfonodi sedi di lesioni, questi verranno aperti per ultimi, evitando così la contaminazione di tutti i distretti, che altrimenti risulteranno tutti positivi. Va da sé che se il coltello passa per zone con lesioni non evidenziate all'ispezione esterna, questo deve essere messo alla sterilizzazione e per i tagli successivi sarà necessario utilizzare altri coltelli o bisturi; è pertanto opportuno partire nel sezionamento degli organi e dei linfonodi apparentemente sani; il rilevamento di una prima lesione non deve indurre a non ispezionare i restanti organi e linfonodi, tutti comunque da sezionare, raccogliere e inviare al laboratorio.

Confezionamento:

I campioni devono essere confezionati per settore nella seguente maniera:

- Una busta/barattolo sterile contenente i linfonodi recuperati nella regione della testa;
- Una busta/barattolo sterile contenente i linfonodi della regione toracica;
- Una busta/barattolo sterile contenente i linfonodi meseraici;
- Una busta/barattolo sterile contenente i linfonodi periportalari;
- Una busta/barattolo sterile contenente i linfonodi prescapolari;
- Una busta/barattolo sterile contenente i linfonodi poplitei;
- Una busta/barattolo sterile contenente i linfonodi sovramammari
- Eventualmente una busta contenete i linfonodi sub iliaci, se recuperati;
- Qualora ci fossero pezzi d'organo con lesioni e linfonodi con lesioni, questi vanno introdotti in una busta/barattolo sterile a parte, indicando il contenuto ed apponendo il simbolo + sulla busta, per consentire al laboratorio di individuarli subito; se ci sono più distretti positivi, fare più buste alla stessa maniera, per poi racchiudere in una busta più grande tutti i reperti positivi.

Tutti i sacchetti dei linfonodi, più eventualmente la busta raccoglitrice di tutti i campioni positivi, vanno riposti in un'unica busta più capiente che possa essere chiusa e riportante all'esterno la data di macellazione, il macello di provenienza, la matricola dell'animale, gli organi contenuti, specificando se ospita organi con lesioni evidenti di TBC.

Gli organi così prelevati vanno inviati al più presto all'IZSM, potendo restare refrigerati per 48 ore senza essere sottoposti a congelamento. Il modello di accompagnamento deve essere compilato in ogni sua parte. Le sezioni periferiche dell'IZSM riceventi gli organi devono considerare prioritario l'invio degli organi in sede centrale, evitando il più possibile di ricorrere al congelamento. Procedere al congelamento solo se si supera la 72esima ora dal prelievo.

ALLEVAMENTO: ESECUZIONE IDT

Nonostante all'allegato 1 del D.M. n. 592/95 e all'allegato B del Dl.vo 196/99 (come modificato dal Regolamento CE n. 1226/2002 dell'8 luglio 2002), siano previste anche ulteriori modalità di inoculo, è necessario attenersi scrupolosamente a quanto previsto dal processo di standardizzazione descritto. E' necessario che l'unica variabile possibile debba essere la reazione allergica. **Pertanto se sussistono**

ostacoli insormontabili per l'esecuzione delle procedure come descritte, ad esempio l'utilizzo del lato destro per l'inoculo singolo, è necessario notificare alla Regione, per il tramite dell'OEV, l'azienda in cui si è operato in maniera difforme, il numero degli animali inoculati e la motivazione. Si richiede la massima collaborazione dei Servizi Veterinari a prescrivere ai singoli allevatori la predisposizione di presidi idonei a svolgere la profilassi in maniera armonizzata.

IDT SINGOLA

E' necessario recarsi in allevamento con la stampa del modello 2/33, oltre al tablet, al fine di annotare di volta in volta eventuali difformità di inoculo rispetto alle seguenti linee guida.

- Identificare il soggetto attraverso lettura del bolo, verifica della marca auricolare.
Posizionarsi **sul lato sinistro** del soggetto
- Individuare la spina acromiana della scapola; portarsi al centro della stessa (ossia alla metà della sua altezza) e spostandosi di 5 cm posteriormente si localizza il punto di inoculo;
- Effettuare in tale punto la tricotomia con forbice smussa o rasoio elettrico (evitare il rasoio a mano) di un'area quadrata di 5 cm;
- Effettuare la pulizia della parte con carta assorbente; assicurarsi che non ci sia materiale organico o polverulento; se necessario intervenire con una spugna umida o con carta umida e poi procedere ad adeguata asciugatura;
- Effettuare la misurazione della cute con cutimetro esclusivamente a molla, sollevando la plica cutanea e misurando verticalmente, facendo arrivare la cute all'esatta metà della cremagliera del cutimetro. Chiudere sempre il cutimetro prima di estrarlo. Annotare la lettura;
- Sollevare la plica cutanea ed inoculare 0,1 ml di PPD bovina utilizzando esclusivamente una siringa monouso da insulina e non da tuberculina, inclinando l'ago di 45°C. Ai fini dell'armonizzazione delle procedure, non è consentito l'utilizzo di siringhe automatiche con ago intercambiabile né l'utilizzo di siringhe per IDT in campo umano;
- Assicurarsi, passando il dito sulla parte, che sia residuo un piccolo ponfo lenticolare
- Qualora non si avverta il piccolo ponfo, ripetere tutte le operazioni sul lato destro e procedere ad **annotare la difformità di esecuzione sul modello 2/33.**

Se esiste una lesione che non consenta l'esecuzione dell'inoculo perfettamente nella zona mediana posteriore della scapola, a 5 cm verso l'esterno, spostarsi inferiormente o superiormente alla zona mediana ed **annotare la difformità sul modello 2/33.**

IDT DOPPIA

Resta quanto detto per l'inoculo della PPD singola

- La PPD aviare va effettuata **sul lato destro**, seguendo le stesse istruzioni valide per l'inoculo a sinistra della PPD bovina ed inoculando 0,2 ml di PPD Aviare.

Qualora in corso di IDT doppia, sul lato preposto per ogni PPD, sia verificata la mancata presenza del piccolo ponfo post inoculo, non potendosi spostare sull'altro lato, sarà necessario ripetere le operazioni a 10 cm più in basso rispetto all'inoculo fallito, e segnalare l'accaduto sul modello 2/33.

LETTURA

La lettura va effettuata rigorosamente dopo 72 ore (\pm 4-6 ore)

Il controllo va effettuato su singolo capo, dopo cattura e identificazione. Non basarsi mai sulla lettura sommaria basata sull'esperienza maturata.

- Palpare la zona inoculata per rilevare il calore della parte ed il linfonodo prescapolare. In condizioni di non reazione il linfonodo è difficilmente palpabile. Percepirlo indica una reazione all'inoculo;
- Misurare la cute sempre rigorosamente con cutimetro a molla e sempre bloccandolo prima dell'estrazione;
- Annotare il risultato.

Tutti i risultati vanno interpretati come da normativa e per le azioni successive si rimanda al DD. 236/2016

FLUSSI

I Servizi veterinari di Area A che rilevano positività all'IDT singola, inviano richiesta di intervento per inoculazione comparativa all'indirizzo: direzione@cert.izsmportici.it, salerno@cert.izsmportici.it, indicando la data presunta di intervento, il numero di capi da inoculare, il codice aziendale.

A seguito di positività in allevamento, i Servizi Veterinari di Area A, inviano richiesta di intervento presso il macello agli indirizzi della Sezione dell'IZSM in cui insiste il macello e per conoscenza all'indirizzo direzione@cert.izsmportici.it. Nel caso di invio tempestivo al macello, sarà necessario preavvisare l'IZSM territoriale anche per via telefonica.