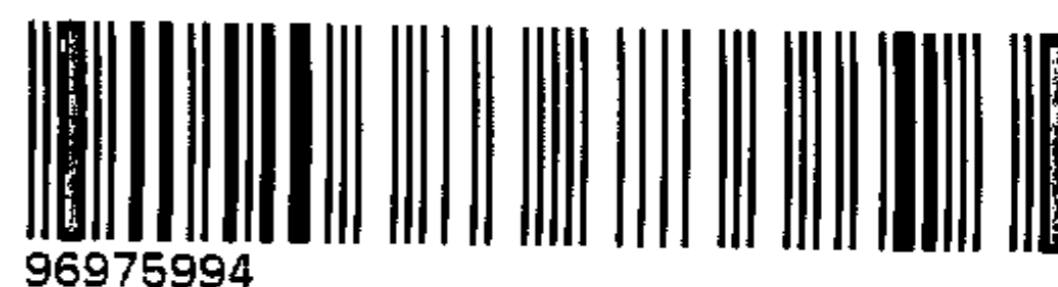




DIPARTIMENTO DELLA SANITA' PUBBLICA VETERINARIA, DELLA SICUREZZA
ALIMENTARE E DEGLI ORGANI COLLEGIALI PER LA TUTELA DELLA SALUTE
DIREZIONE GENERALE DELLA SANITA' ANIMALE E DEI FARMACI VETERINARI
Ex DGSA Ufficio III - Centro nazionale di lotta ed emergenza contro le malattie animali
Viale Giorgio Ribotta, 5 - 00144 Roma



96975994

Agli ASSESSORATI
REGIONALI e PROVINCE
AUTONOME
Servizi Veterinari

Agli IZZSS

E per conoscenza
CEA
ISS

LORO SEDI

Registro
Allegati: 1

Oggetto: Sorveglianza EST ovi-caprina. Aggiornamento modalità prelievo dei campioni.

Il Regolamento (CE) n. 999/2001 relativo a misure di controllo, sorveglianza ed eradicazione delle Encefalopatie spongiformi trasmissibili, detta precise istruzioni sulle procedure da seguire in caso di positività al test rapido effettuato nell'ambito della sorveglianza attiva per le EST ovi-caprine.

Per assicurare l'uniformità delle procedure e dei risultati delle analisi, considerati gli ulteriori sviluppi in materia di sorveglianza ovi-caprina e l'impiego di un nuovo test rapido TSE sull'intero territorio, si rende necessario aggiornare le modalità di esecuzione dei campioni ovi-caprini come definite in allegato alla nota DGVA.VIII/24382/P-I.8.d/48 del 28 giugno 2006.

Nel merito della sorveglianza nazionale EST negli ovini e caprini di età superiore ai 18 mesi, oppure con due incisivi permanenti già spuntati, sia regolarmente macellati sia morti, si raccomanda oltremodo di mantenere una procedura che consenta di garantire la rappresentatività del campione, nelle greggi e nella popolazione animale presenti sul territorio, in conformità anche alla numerosità campionaria comunicata annualmente dalla Scrivente.

Si ribadisce l'importanza di assicurare la corretta procedura di prelievo dell'obex per lo svolgimento delle prove di conferma e caratterizzazione molecolare, e di adottare misure finalizzate a prevenire eventuali fenomeni di cross-contaminazione durante lo svolgimento del campionamento.

Si ringrazia per la collaborazione e si resta a disposizione per ogni ulteriore chiarimento.

IL DIRETTORE GENERALE
DOTT.SSA GAETANA FERRI

Gaetana Ferri

Referente:

[Signature]
Vincenzo Ugo Santucci - ex DGSA Uff. III
u.santucci@sanita.it - 06.5994.6734
Dorotea de Gennaro - ex DGSA Uff. III
d.degennaro@sanita.it - 06.5994.2925
Maria Gabriella Perrotta - ex DGSA Uff.III
Mg.perrotta@sanita.it - 06.5994.6839

SORVEGLIANZA DELLE EST NEGLI OVINI E CAPRINI: LINEE GUIDA PER IL PRELIEVO DEI CAMPIONI

Allegato A **INDICAZIONI PER I VETERINARI** **DELLE AZIENDE SANITARIE**

A) MODALITA' DI PRELIEVO DEI CAMPIONI IN SORVEGLIANZA PASSIVA (ovini e caprini con sintomatologia clinica sospetta)

- 1) In caso di sospetto clinico ufficiale di EST, i veterinari delle AA.SS.LL prelevano ed inviano l'intero encefalo dell'animale, in condizioni di refrigerazione, all'IZS territorialmente competente. In alternativa potrà essere inviata la testa ed il personale dell'IZS provvederà al prelievo.

B) MODALITA' DI PRELIEVO DEI CAMPIONI IN SORVEGLIANZA ATTIVA (prelievi effettuati al macello oppure sugli animali trovati morti)

- 1) I veterinari delle AA.SS.LL. eseguono il prelievo del tronco encefalico e del cervelletto, mediante inserimento del cucchiaino apposito nel Forame Magnum. Il cucchiaino e l'eventuale altro strumentario utilizzato **deve essere monouso**. Nel caso in cui questo non sia assolutamente possibile, è necessario prevenire ogni potenziale cross-contaminazione adottando le seguenti precauzioni dopo ogni prelievo e prima del prelievo successivo:
 - pulire lo strumentario con carta assorbente **monouso**, verificando di rimuovere ogni residuo di tessuto
 - sciacquare con abbondante candeggina del commercio, non diluita
 - sciacquare in acqua di fonte
- 2) Il campione prelevato deve essere immediatamente refrigerato (non congelato) e mantenuto in condizioni di refrigerazione fino al momento della consegna all'IZS competente.
- 3) Le teste degli animali campionati devono essere conservate in attesa dell'esito del test rapido, con assicurazione di una precisa connessione con il campione prelevato.
- 4) In caso di esito negativo le teste potranno essere smaltite.
- 5) In caso di positività la testa o l'intero encefalo dovrà essere inviata/o all'IZS competente in condizioni di refrigerazione.

**C) MODALITA' DI PRELIEVO DEI CAMPIONI SUGLI ANIMALI ABBATTUTI NEI
FOCOLAI CONFERMATI DI EST**

- 1) I veterinari delle AA.SS.LL provvedono al prelievo del tronco encefalico e del cervelletto sugli animali abbattuti. Il cucchiaino e l'eventuale altro strumentario utilizzato **deve essere monouso**. Nel caso in cui questo non sia assolutamente possibile, è necessario prevenire ogni potenziale cross-contaminazione adottando le seguenti precauzioni dopo ogni prelievo e prima del prelievo successivo:
 - pulire lo strumentario con carta assorbente **monouso**, verificando di rimuovere ogni residuo di tessuto
 - sciacquare con abbondante candeggina del commercio, non diluita
 - sciacquare in acqua di fonte
- 2) Il materiale prelevato deve essere refrigerato ed inviato all'IZS competente per essere sottoposto a test rapido.

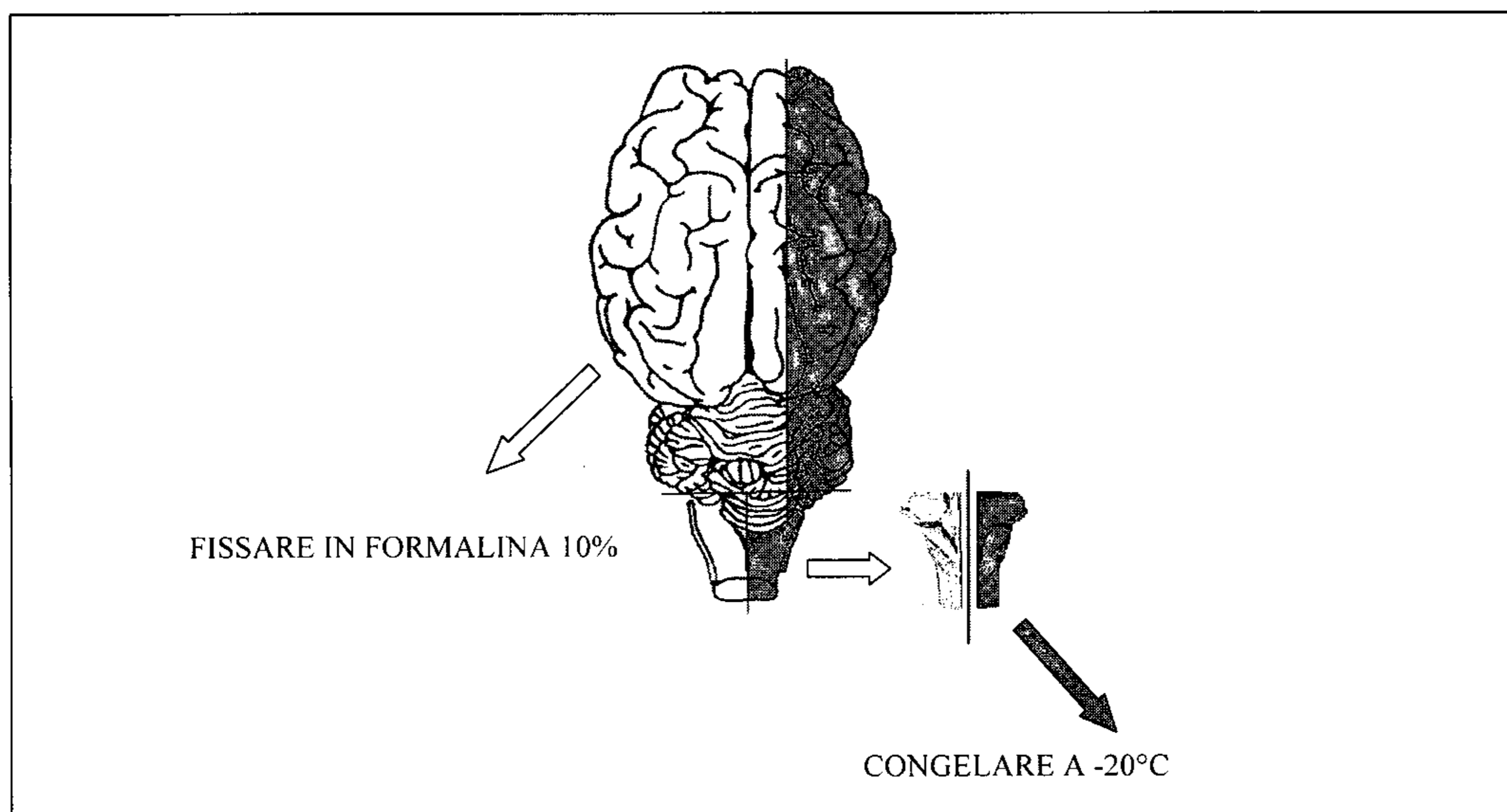
Allegato B INDICAZIONI PER GLI IZZSS

A) MODALITA' DI PRELIEVO DEI CAMPIONI IN SORVEGLIANZA PASSIVA (ovini e caprini con sintomatologia clinica sospetta)

- 1) In caso di sospetto clinico ufficiale di EST, l'IZS competente deve provvedere all'invio dell'encefalo al CEA seguendo le procedure tecniche di campionamento riportate nella figura 1.
- 2) Il test rapido ed i test di conferma verranno eseguiti presso il CEA.

Figura 1

Suddividere l'encefalo con un taglio paramediano; la più piccola delle parti così ottenute deve essere congelata a -20°C , l'altra deve essere fissata in formalina al 10%. Il tronco encefalico deve essere tagliato a metà lungo il piano sagittale mediano. Anche in questo caso metà deve essere congelata a -20°C e metà fissata in formalina al 10%. **Tutte le procedure devono essere eseguite utilizzando strumentario monouso. Si raccomanda inoltre di provvedere all'invio delle aliquote congelate ed in formalina in imballaggi separati.**



B) MODALITA' DI PRELIEVO DEI CAMPIONI IN SORVEGLIANZA ATTIVA E SU ANIMALI ABBATTUTI NEI FOCOLAI CONFERMATI DI EST

- 1) L'IZS competente provvede al prelievo del campione per l'esecuzione del test rapido. Prima di procedere al campionamento, il tronco encefalico deve essere suddiviso lungo il rafe mediano. Il campionamento per il test rapido deve essere eseguito a livello dell'obex, **utilizzando rigorosamente materiale monouso rinnovato per ciascun campione** (bisturi, pinze e supporto) e prestando attenzione alla conservazione dei nuclei target (figura 2A).
- 2) In caso di iniziale reattività il test deve essere ripetuto in doppio a partire dall'omogenato, **SENZA** procedere ad un secondo campionamento.
- 3) In caso di positività anche ad una sola delle due repliche, inviare al CEA l'omogenato rimanente, il tronco encefalico, parte del cervelletto (figura 2B) e l'encefalo (figura 2C) se presente, secondo le procedure tecniche di seguito riportate:

Figura 2A

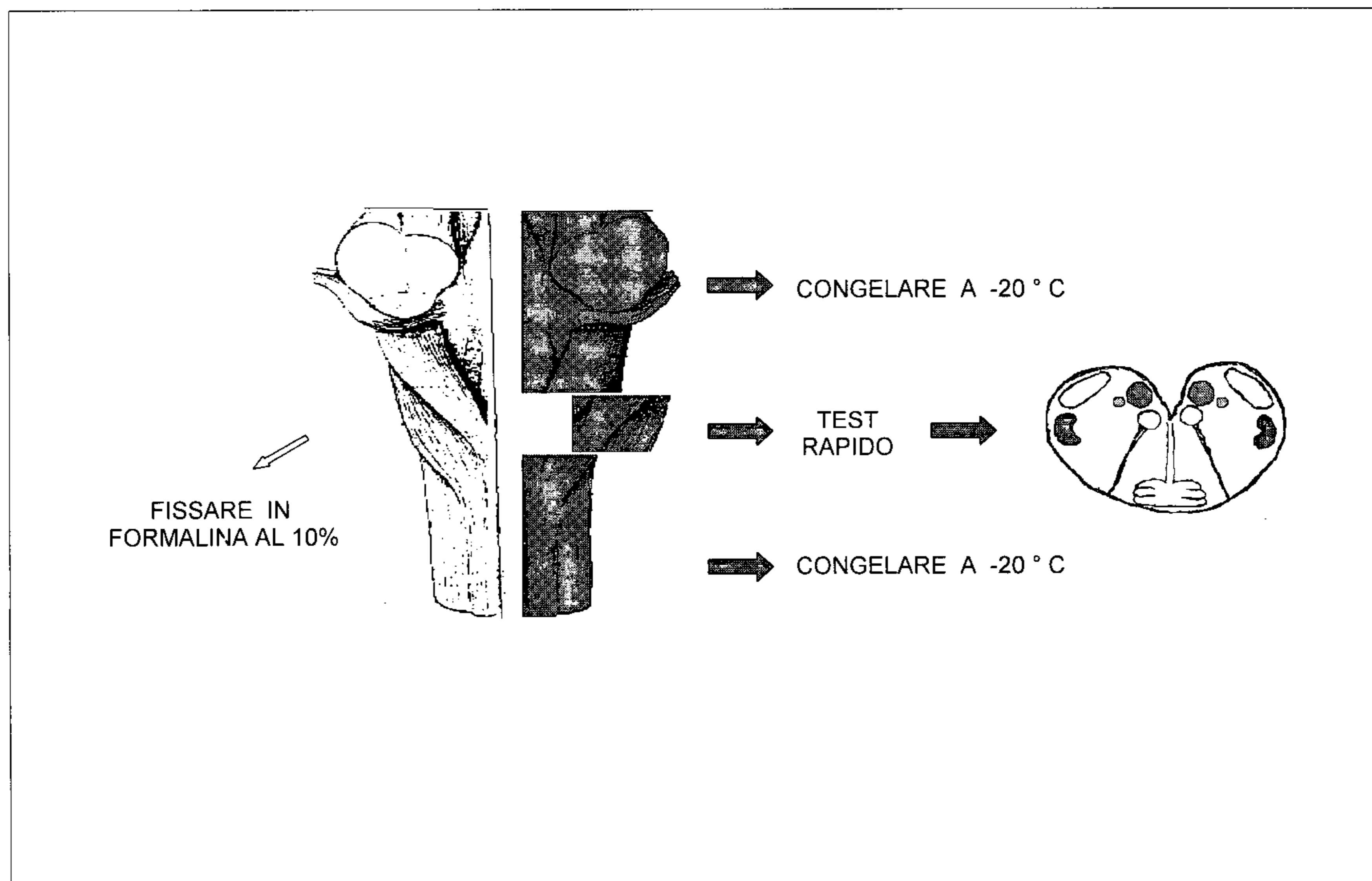


Figura 2B

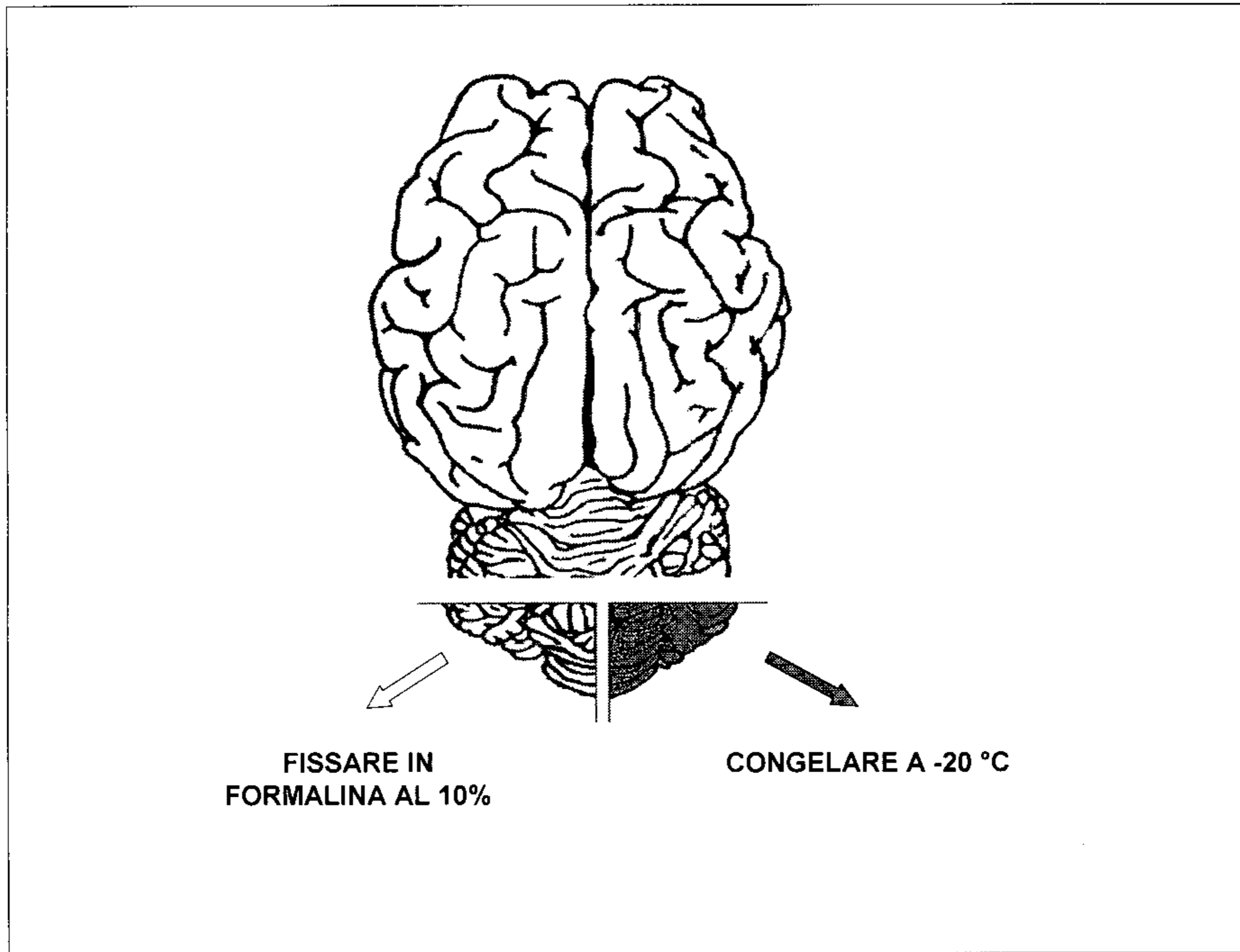
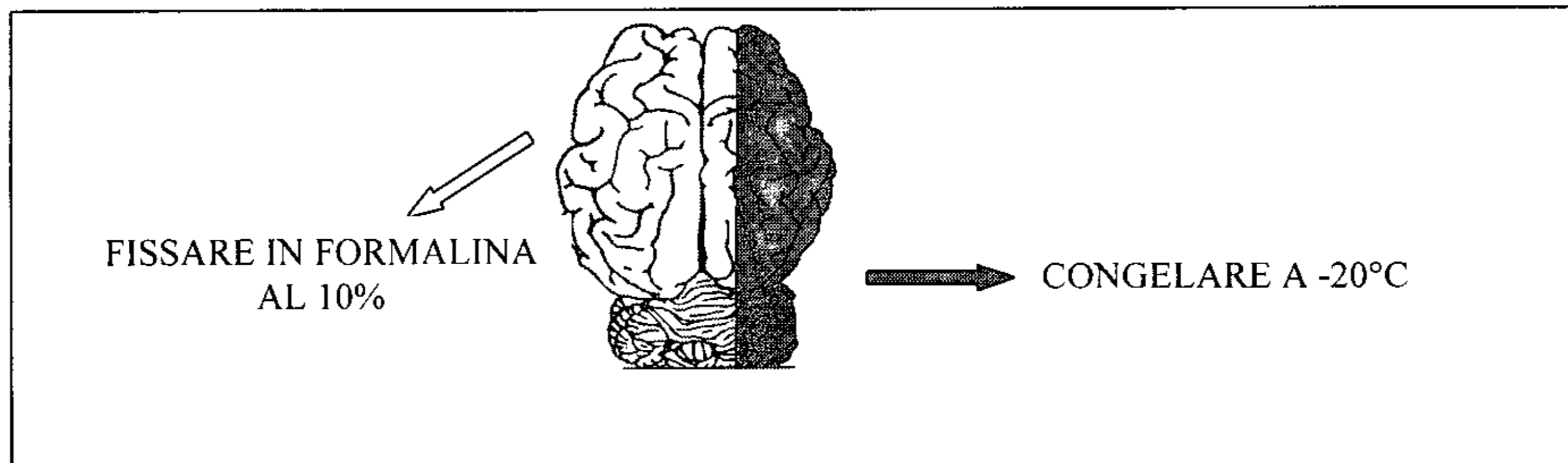


Figura 2C



Tutte le procedure devono essere eseguite utilizzando strumentario monouso.