

PERCORSO E SIGNIFICATO DELL'ESITO DEL TEST DI CONFERMA

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 (Reg. CE 999/2001 – allegato X, Cap. A), ha il compito ufficiale di accertare la presenza di una Encefalopatia Spongiforme Trasmissibile (EST) ricorrendo ad almeno uno dei metodi e protocolli analitici descritti nel manuale WOA (Reg. CE 999/2001- allegato X, Cap. C).

Flusso dei campioni inviati al CEA

Sorveglianza passiva

In caso di sospetti clinici ufficiali di EST, il Veterinario competente deve provvedere al prelievo dell'intero encefalo dell'animale seguendo le procedure tecniche di campionamento riportate nella *nota/circolare ministeriale n.0024853 del 04/10/2023-DGSAF-MDS-P "TSE –Linee guida per il campionamento della porzione aborale del tronco-encefalico (obex) ai fini della sorveglianza e le analisi di laboratorio – Revisione 2023*.

Il campione dovrà essere subito fatto pervenire all'IZS territorialmente competente che avrà il compito di inviarlo al CEA.

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
	Scrapie atipica	Presenza di depositi di proteina prionica patologica (PrP ^{Sc}) con pattern diverso dalla scrapie classica
Western Blot (campione congelato)	Positivo	Presenza di tre bande di PrP ^{Sc} (30-20 kDa)
	Scrapie atipica	Presenza di bande di PrP ^{Sc} (30-12kDa)
	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 e campione di scrapie atipica: se il risultato di uno dei tre esami di conferma è positivo o di scrapie atipica l'animale deve essere considerato un caso positivo di EST.

Nel caso di scrapie atipica il referto dell'esame western blot e/o Immunoistochimico del CEA sarà sufficiente a revocare le misure sanitarie sul latte all'interno dell'azienda in cui è stata identificata la positività. Sulla base del Regolamento (CE) 999/2001 (Allegato X, Capitolo C) per i casi di scrapie atipica non è necessario procedere alla caratterizzazione molecolare della proteina prionica patologica per escludere l'agente della BSE. Mentre, nel caso di positività senza definizione di scrapie atipica, è necessario il mantenimento della registrazione del focolaio in SIMAN e le misure sanitarie ai sensi dell'Allegato VII, Capitolo A e Capitolo B del Regolamento (CE) 999/2001, fino alla caratterizzazione molecolare.

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/non eseguibile: 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”.

PERCORSO DEL CAMPIONE FINO ALL’ESITO DEL TEST RAPIDO

Schema n.1 Linee Guida campionamento tronco encefalico

Descrizione del campione		IIZZSS: 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 non identificabile per prelievo non eseguito correttamente	Effettuare il test rapido	In caso di esito negativo, riportare: Non valutabile per obex non identificabile * Test eseguito su porzione non riconoscibile come area target (Regolamento CE 999/2001, All. 10, Cap. C, punto1)	B
	Obex non identificabile per autolisi del campione	Effettuare il test rapido	In caso di esito negativo, riportare: Non valutabile per autolisi * Test eseguito su porzione non riconoscibile come area target (Regolamento CE 999/2001, All. 10, Cap. C, punto1)	A
	Obex non identificabile	Effettuare il test rapido	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 web upload
	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	
Tessuto nervoso proveniente da animali NON soggetti a sorveglianza attiva	Sotto età diagnostica	NON effettuare il test rapido	Non eseguibile * Fuori dal campo di applicazione del piano di campionamento (sotto età diagnostica o privo dell'ID univoco)	
	Privo dell'identificativo univoco dell'animale			
	Altro	NON effettuare il test rapido	Non eseguibile * Fuori dal campo di applicazione del piano di campionamento	

N.B. Laddove il Test rapido *non è eseguibile* viene registrata la inidoneità a carico del Servizio Veterinario competente per ASL che ha realizzato il prelievo.