

Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili (EST): aggiornamenti epidemiologici, diagnostici e normativi



9 LUGLIO 2024



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana «M. Aleandri»
sede di Roma





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



Flusso delle attività del laboratorio TSE e criticità connesse

Esterina indino

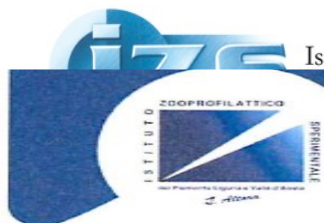
Laboratorio TSE Firenze

Unità Operativa Territoriale Toscana Centro

Istituto Zooprofilattico sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana «M.Aleandri»

Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili (EST): aggiornamenti epidemiologici, diagnostici e normativi

Roma, 9 luglio 2024



Istituto Zooprofilattico Sperimentale

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DEL PIEMONTE, LIGURIA E VALLE D'AOSTA

S.C. NEUROSCIENZE
Dott. ssa Maria Caramelli

Tel. n. +39 0112686296
e-mail: neuroscienze@izsto.it

Alla c.a.

Direttori Generali
degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali

LORO SEDI

aggiornamenti epidemiologici, diagnostici e normativi” – Torino, 27/28 settembre 2021.

Si comunica che il 27 e 28 settembre 2022 si terrà a Torino il corso di formazione “Gestione e controllo delle encefalopatie spongiformi trasmissibili (EST): aggiornamenti epidemiologici, diagnostici e normativi”, rivolto a tutti gli operatori sanitari impegnati nelle attività di Sorveglianza delle EST.

La richiesta del Ministero della Salute si ritiene opportuna la partecipazione di un responsabile per ogni Istituto che verrà formato durante il corso e dovrà a sua volta farsi carico della formazione a cascata sul territorio di propria competenza. Si richiede pertanto di voler dare comunicazione del nominativo del partecipante prescelto

Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili (EST): aggiornamenti epidemiologici, diagnostici e normativi

Roma, 9 luglio 2024



Ministero della Salute

DIREZIONE GENERALE DELLA SANITA' ANIMALE E
DEI FARMACI VETERINARI
Ufficio 3

Sanità animale e gestione operativa del Centro nazionale di lotta ed emergenza
contro le malattie animali e unità centrale di crisi

DGSAF-MDS-P 0024853 del 04.10.2023

Oggetto: TSE –Linee guida per il campionamento della porzione aborale del tronco-encefalico (obex) ai fini della sorveglianza e le analisi di laboratorio – Revisione 1 anno 2023

Con la presente si trasmette a codeste Regioni e Province autonome di Trento e Bolzano e agli IIZZSS, l'aggiornamento delle Linee guida di cui all'oggetto e schede verbali di prelievo rispetto alla normativa vigente e alle precedenti comunicazioni: note n.17806-21/07/22 e n.21528-09/09/2022.

Detto documento è uno strumento sintetico di aggiornamento ai sensi Regolamento CE n.999/2001 per i servizi veterinari e/o loro delegati, impegnati nelle attività di prelievo dell'obex, affinché le stesse vengano svolte uniformemente su tutto il territorio nazionale limitandone le criticità e relative conseguenze.

Preme precisare che questo documento non deve essere considerato sostitutivo delle attività di formazione; queste ultime, dovranno essere svolte attraverso il personale autorizzato competente e opportunamente formato di ciascun IIZZSS competente per territorio e/o direttamente per frequenza dei corsi tenuti dal centro di riferimento per le TSE (CEA—TO) come da indicazioni delle note ministeriali prot. n.11854 del 12.05.22 e n.29036 del 21.11.2018.



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

RETE DEI LABORATORI TEST RAPIDI IIZZSS

Firenze
IZSLT

Sassari
IZS Sardegna

Avellino
IZSM

Catanzaro
IZSM

Palermo
IZS Sicilia

Padova
IZS Ve

Matera
IZSPB

Torino
IZSPLV

Fermo
IZSUM

Brescia
IZSLER

Teramo
IZS Abruzzo



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



ASL

REGIONE TOSCANA

✓ REGIONE TOSCANA PROGRAMMAZIONE

✓ GESTIONE ESITI ANALITICI

✓ ACCREDIA

✓ CEA IZSPLV TEST DI CONFERMA E DIAGNOSI CWD

AUDIT ANNUALE

RING TEST

FLUSSO DELLE INFORMAZIONI

FORMAZIONE

✓ ISS :Piano conoscitivo PRNP, caratterizzazione dei
Ceppi delle EST

ASL

REGIONE LAZIO



✓ UOSD IZS LT ACCETTAZIONE E SERVIZI INTERDISCIPLINARI

✓ UOC IZS LT OSSERVATORIO EPIDEMIOLOGICO

✓ UOC IZS LT DIREZIONE OPERATIVA VIROLOGIA

✓ UOC IZS LT QUALITA' SICUREZZA E FORMAZIONE

ALCUNI NUMERI.....

SORVEGLIANZA SCRAPIE 2024	OVINI MACELLA TI	CAPRINI MACELLATI	OVINI MORTI	CAPRINI MORTI
LAZIO	1330	395	939	446
	{283}*	{54}	{360}	{109}
TOSCANA	474	198	472	241
	{112}	{104}	{597}	{72}
TOTALE N. 4495	1804 {395}	593 {158}	1411 {957}	687 {181}

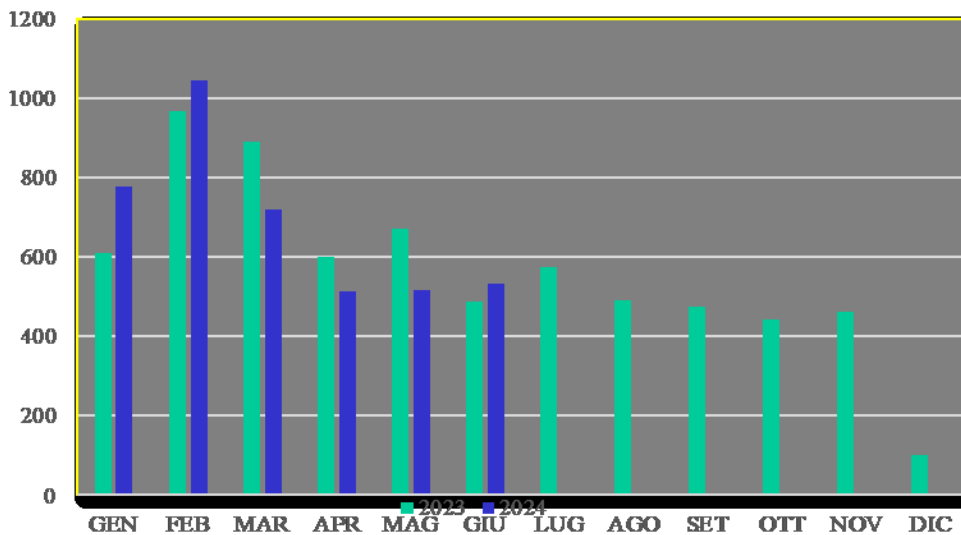
* {} DATI AVANZAMENTO PRIMO TRIMESTRE 2024



ALCUNI NUMERI.....

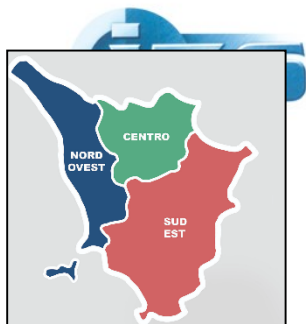
LABORATORIO TSE CAMPIONI ESAMINATI SORVEGLIANZA ATTIVA	2024 PRIMO SEMESTRE	2023	2022
SCRAPIE	3044	4877	5008

Campionamenti per mese 2023 vs 2024

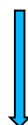
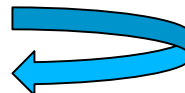


Flusso delle attività.....

- ✓ ACCETTAZIONE: RICEVIMENTO DEI CAMPIONI E DOCUMENTAZIONE
- ✓ GESTIONE DEL CAMPIONE: TEST RAPIDI
- ✓ EMISSIONE E TRASMISSIONE DEL RAPPORTO DI PROVA campioni Negativi
- ✓ GESTIONE DEI CAMPIONI POSITIVI AL TEST RAPIDO
- ✓ GESTIONE DEI CAMPIONI GENOTIPO PRNP
- ✓ GESTIONE CAMPIONI CWD



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



LABORATORIO TSE



Sistema nazionale di Sorveglianza epidemiologica della Scrapie: VERBALE/SCHEDA DI ACCOMPAGNAMENTO CAMPIONI

Verbale n. _____ ASL _____ Prelevatore _____ Data prelievo

Luogo di prelievo: ☐ allevamento; ☐ macello; ☐ altro; e Ragione Sociale: _____

Num. Autorizzazione (macello) / Codice azienda (allevamento) Comune _____ Provincia _____

N. progr.	Specie O, C	Codice identificativo UNIVOCO del capo/animale	Codice azienda o Paese estero di allevamento (1)	Motivo prelievo (2)	Sospetto ufficiale S, N	Anno di nascita	Sesso M, F	Razza	Detentore azienda di provenienza (1)	Comune/cod. azienda di allevamento (1)	Spazio per codice a barre IZS (se presente)
1											
2											
3											
4											
5											

(1) Non compilare solo nel caso il/i dato/i sia/siano presente/i in altre voci

NB (I) L'ID deve essere univoco dell'animale

(II) In caso di mancanza del dato relativo all'anno di nascita, indicare l'anno di nascita presuntivo in base alla dentizione: presenza del 2° incisivo permanente

(2) Per il motivo del prelievo utilizzare i seguenti codici:

- 1 macellazione per il consumo umano (età superiore a 18 mesi)
- 2 morte in allevamento o nel trasporto (età superiore a 18 mesi)
- 3 abbattimento per TSE (in caso di sospetto o estinzione del focolaio)
- 4 abbattimento per malattia diversa da TSE (età superiore a 18 mesi), ma non nel quadro di un'epidemia (es. non per Afta epizootica)
- 5 macellazione per sorveglianza intensificata (deroga 2.2.2 c)iii) o d) (età 18 mesi)

Firma
del Titolare dello stabilimento

Medico Veterinario prelevatore o Suo Delegato
Timbro e Firma

Sistema nazionale di Sorveglianza epidemiologica della BSE: VERBALE/SCHEDA DI ACCOMPAGNAMENTO CAMPIONI

Verbale n. _____ ASL _____ Prelevatore _____ Data prelievo

Luogo di prelievo: ☐ allevamento; ☐ stalla di sosta; ☐ macello; ☐ altro; e denominazione: _____

Num. Autorizzazione/ Codice azienda Comune _____ Provincia _____

N. progr	Codice identificativo univoco animale	Codice azienda o Paese estero di provenienza	Motivo del prelievo (1)	Data di nascita	Sesso M F	Nazione di nascita	Detentore ultima azienda di provenienza	Comune/cod. ultima azienda di provenienza	Spazio per codice a barre IZS (se presente)
							è possibile omettere il/i dato/i in caso sia/siano presente/i nelle voci precedenti		
1				/ /					
2				/ /					
3				/ /					
4				/ /					
5				/ /					

(1) Riportare i seguenti codici (se l'animale rientra in più categorie inserire i codici corrispondenti separati da punto e virgola):

- 1 età superiore a * macellato regolarmente

2 età superiore a ** soggetto a macellazione d'urgenza

3 età superiore a ** soggetto a macellazione differita

4 animale sospetto clinicamente

5 età superiore a ** morto in allevamento o durante il trasporto
- 7 animale presente nell'azienda infetta

8 animale figlio dell'animale infetto

9 animale esposto al medesimo rischio alimentare (coetaneo ± 12 mesi)

N.B. per le categorie 2,3,5 indicare la causa:

Firma
del Titolare dello Stabilimento

Medico Veterinario o Suo Delegato
Timbro e Firma

* 30 mesi per i capi nati nei Paesi **ESCLUSI** dalla lista della Dec. 2009/719/EU s.m.i.
** 48 mesi per i capi nati nei Paesi **INCLUSI** nella lista della Dec. 2009/719/EU s.m.i.; 24 mesi per i capi nati nei Paesi **ESCLUSI** dalla lista della Dec.2009/719/EU

Sistema Nazionale di Sorveglianza epidemiologica della BSE: VERBALE/SCHEDA DI ACCOMPAGNAMENTO CAMPIONI

Verbale n. **450917**

ROMA 4

Prelevatore **TOMA ICI**

Data prelievo **14/06/2024**

Luogo di prelievo: **Allevamento**

e denominazione **AZ. AGRO E ST O SS**

Codice Azienda: **036R**

Comune **FIANO ROMANO**

Provincia **RM**

SERVIZIO DIAGNOSI

240xxxxxx

N. progr.	Codice identificativo UNIVOCO animale	Codice azienda o Paese estero di provenienza	Motivo del prelievo (1)	Data di nascita	Sesso M, F	Nazione di nascita	Detentore ultima azienda di provenienza	Comune/cod. ultima azienda di provenienza	Spazio per codice a barre IZS (se presente)
è possibile omettere il/i dato/i in caso sia/siano presenti nelle voci precedenti									
1	IT0589	03xxxx01	5	12/02/2014	F	IT	AZ. AGR. xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx5	FIANO ROMANO	

1) Riportare i seguenti codici (se l'animale rientra in più categorie inserire i codici corrispondenti separati da punto e virgola):

- 1 età superiore a * macellato regolarmente
- 2 età superiore a ** soggetto a macellazione d'urgenza
- 3 età superiore a ** soggetto a macellazione differita
- 4 animale sospetto clinicamente
- 5 età superiore a ** morto in allevamento o durante il trasporto

- 7 animale presente nell'azienda infetta
- 8 animale figlio dell'animale infetto
- 9 animale esposto al medesimo rischio alimentare (coetaneo \pm 12 mesi)

N.B. per le categorie **2,3,5** indicare la causa:

Firma
del Titolare dello Stabilimento

* 30 mesi per i capi nati nei paesi **ESCLUSI** dalla Lista della Dec. 2009/719/EU s.m.i.

** 48 mesi per i capi nati nei paesi **INCLUSI** nella Lista della Dec. 2009/719/EU s.m.i.; 24 mesi per i capi nati nei paesi **ESCLUSI** dalla Lista della Dec. 2009/719/EU s.m.i.

Medico Veterinario o suo Rappresentante
AZIENDA USL RM1
Firma
Servizio Veterinario Area A
Dott. Iolite Tomesetti





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Sistema nazionale di Sorveglianza epidemiologica della BSE: VERBALE/SCHEDA DI ACCOMPAGNAMENTO CAMPIONI

24052767

18:05

26/17:55

Verbale n. 335

ASL: AZIENDA USL TOSCANA SUD-EST Prelevatore: CHIARA ~~CARFONE~~

Data prelievo: 18/06/2024

Luogo di prelievo:

☒ Allevamento

☐ Stalla di sosta

☐ Stabilimento di macellazione




☐ Altro

e denominazione: ~~XXXXXX~~ KATIUSCIA

Codice aziendale: IT0100 ~~XXXX~~

Comune: GAVORRANO

Provincia: GR

Prog.	Codice identificativo univoco animale	Codice azienda o Paese estero di prov.	Motivo del prelievo (1)	Data di nascita	Sesso (M, F)	Razza	Nazione di nascita	Detentore ultima azienda di provenienza	Comune ultima azienda di provenienza	Spazio per codice a barre IZS (se presente)
								è possibile omettere il/i dato/i in caso sia/siano presenti nelle voci precedenti		
1	IT0539900XXXX 	010XXXX 		02/02/2006	F	LMS			GAVORRANO	

(1) Utilizzare i seguenti codici (se l'animale rientra in più categorie inserire i codici corrispondenti separati da punto e virgola):

1 età superiore a * macellato regolarmente

4 animale sospetto clinicamente

7 animale presente nell'azienda infetta

2 età superiore a ** soggetto a macellazione d'urgenza

5 età superiore a ** morto in allevamento o durante il trasporto

8 animale figlio dell'animale infetto

3 età superiore a ** soggetto a macellazione differita

9 animale esposto al medesimo rischio alimentare (coetaneo \pm 12 mesi)

N.B. per le categorie 2,3 e 5 indicare la causa:

Firma del Titolare dello stabilimento

Medico Veterinario o Suo Delegato
Timbro e Firma

* 30 mesi per i capi nati nei Paesi ESCLUSI dalla lista della Dec. 2009/719/EU s.m.i.

** 48 mesi per i capi nati nei Paesi INCLUSI nella lista della Dec. 2009/719/EU s.m.i.; 24 mesi per i capi nati nei Paesi ESCLUSI dalla lista della Dec. 2009/719/EU





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Sistema nazionale di Sorveglianza epidemiologica della BSE: SCHEDA DI ACCOMPAGNAMENTO CAMPIONI

SERVIZIO VETERINARIO ASL LATINA COMPRENSORIO

Verbale N 45 (2024)

Prelevatore: Dr. Emilio M. ~~M. Sidoro~~

prelievo del 24/06/2024

Luogo di prelievo: ☒ allevamento; ☐ stalla di sosta; ☐ macello; ☐ altro; Denominazione Az. ~~ITA~~ ~~XXX~~ ~~XXX~~ ~~ITALO~~

N. progr	Codice identificativo animale	Codice azienda o Paese estero di Provenienza (1)	Motivo del prelievo (2)	Data di nascita	Sesso M/F	Detentore ultima azienda di provenienza (1)	Comune ultima azienda di provenienza (1)
						È possibile omettere il dato in caso di macellazioni regolari	
1	170599930000	0324500	2	05/10/2018	F	1* XXX XXX ITALO	TERRACINA
3							
4							
5							

(1) Non compilare nel caso di prelievo eseguito in allevamento (il dato è già presente alle voci precedenti).

(2) Utilizzare i seguenti codici (se l'animale rientra in più categorie inserire i codici corrispondenti separati da punto e virgola).

1 Età superiore a 30 mesi macellati regolarmente

2 Età superiore a 30 mesi macellati d'urgenza

3 Età superiore a 30 mesi soggetto a macellazione differita

4 Animale sospetto clinicamente

6 Animali che ha avuto accesso a mangimi contenenti farine di carne

7 Animale presente nell'azienda infetta

8 Animale figlio dell'animale infetto

9 Animale esposto al medesimo rischio alimentare (contatto > 6 mesi)



la nazionale di Sorveglianza epidemiologica della Scrapie: SCHEDA DI ACCOMPAGNAMENTO CAMPIONI

Verbale n. 113 ASL FR Prelevatore L.M. PAOLO ROKKAS Data prelievo 03/11/2023

Luogo di prelievo: ☒ allevamento; ☐ macello; ☐ altro; e Regione Sociale: Apulia Lecce 23090 113

Num. Autorizzazione (macello) / Codice azienda (allevamento) 022FR 0104FR 23090 Comune Alvito Provincia FR

N. progr.	Specie O. C.	Codice identificativo del capo	Codice azienda o Paese estero di allevamento (1)	Motivo prelievo (2)	Sospetto ufficiale S. N.	Anno di nascita	Sesso M. F.	Razza	Detentore azienda di allevamento	Comune azienda di allevamento (1)
1	0	06000023		5	N	2018	F	Met		
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										

(1) Non compilare nel caso di prelievo eseguito in allevamento (il dato è già presente alle voci precedenti).

N.B.: In caso di mancanza del dato relativo all'anno di nascita indicare l'anno di nascita presuntivo in base alla dentizione
verificare comunque la presenza del 2° incisivo permanente

Firma Antoni
del Titolare dell'impianto

(2) Per il motivo del prelievo utilizzare i seguenti codici:

- 1 macellazione per il consumo umano (età superiore 18 mesi)
- 2 morte in allevamento o nel trasporto (età superiore 18 mesi)
- 3 abbattimento per TSE (in caso di sospetto o estinzione del focolaio)
- 4 abbattimento per malattia diversa da TSE (età superiore 18 mesi), ma non nel quadro di un'epidemia (es. non per Afta epizootica)

Veterinario prelevatore
Firma e Firma

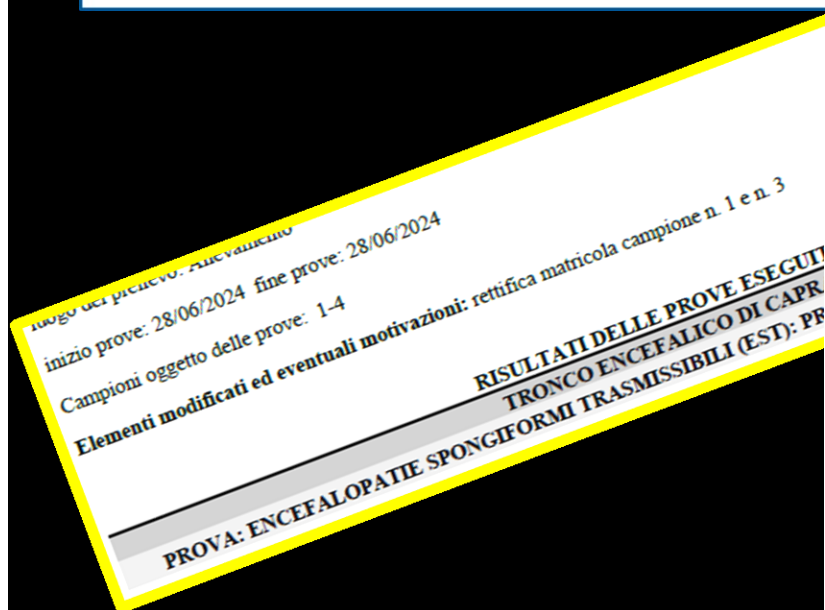
23090
11/11/2023
FR

Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili (EST): aggiornamenti epidemiologici, diagnostici e normativi

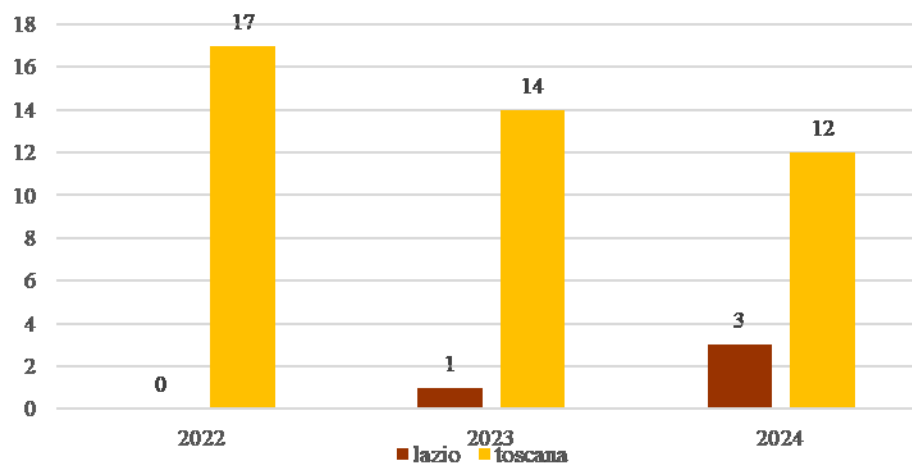
Roma, 9 luglio 2024

7.8.8 Correzioni dei rapporti

7.8.8.1 Quando è necessario modificare, correggere o emettere nuovamente un rapporto già emesso, ogni informazione modificata deve essere chiaramente identificata e, ove appropriato, deve essere incluso nel rapporto anche il motivo della modifica.



RdP rettificati





ATTIVITÀ DI CAMPIONAMENTO DEI CERVIDI
AI FINI DELLA SORVEGLIANZA CONOSCITIVA
DELLA MALATTIA DEL DEPERIMENTO CRONICO (CWD)

Scheda conferimento campioni

Compilare una nuova scheda per ciascun capo sottoposto a prelievo

SCHEDA N°: _____

DATA DEL PRELIEVO: ____/____/____

IDENTIFICATIVO DEL CAPO: _____
(codice che identifica il capo da testare, ad es: n° di fascetta)

SPECIE: ☐ 1.capriolo ☐ 2.cervo ☐ 3.daino ☐ 4.altro (specificare) _____

SESSO: ☐ 1.maschio ☐ 2.femmina

ETÀ stimata, in mesi: _____

(N.B.: Per i capi incidentati il prelievo deve riguardare i capi di età > ai 18 mesi, per le altre categorie si devono considerare tutte l'età)

CATEGORIA (barrare un'unica casella tra quelle proposte):

- ☐ 1.capo selvatico abbattuto per ragioni sanitarie (es. defedato, con sintomatologia sospetta, ecc.)
☐ 2.capo selvatico rinvenuto morto, presumibilmente a seguito di incidente stradale (N.B.: età minima >18 mesi)
☐ 3.capo selvatico rinvenuto morto, ragionevolmente per causa diversa da incidente stradale
☐ 4.capo allevato abbattuto per ragioni sanitarie (es. defedato, con sintomatologia sospetta, ecc.)
☐ 5.capo allevato rinvenuto morto

CAMPIONI CONFERITI (barrare una o più caselle tra quelle proposte):

- ☐ 1.tronco encefalico
☐ 2.linfonodi retrofaringei mediali
☐ 3.encefalo
☐ 4.tonsille

DATA di morte o di rinvenimento del cadavere: ____/____/____

COMUNE in cui è avvenuta la morte dell'animale o dove è stato rinvenuto il cadavere:
_____ provincia (____)

Proprietario dell'animale (se di allevamento): _____

Codice dell'allevamento di origine (se disponibile): IT -----

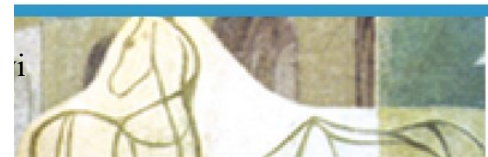
VETERINARIO PRELEVATORE: _____
(cognome) (nome)

ASL di appartenenza: _____
(numero ASL e Regione, ad es: n.5 Veneto)

Firma (leggibile) _____

Timbro (leggibile)

Encefalopatie Spong





SORVEGLIANZA CWD	2023	2022	2021
VT	5 CAPRIOLO	1 CAPRIOLO	
PI	1 CERVO AXIS		
FI	1 CERVO ELAPHUS		1 CERVO
SI	1 CAPRIOLO		
AR			8 CAPRIOLO

ANIMALI MORTI , ETA' > 18 MESI, INCIDENTATI LINEE GUIDA

DGSAF-MDS-P 0024853 del 04.10.2023 LINEE GUIDA 2023

PRELIEVO PER SORVEGLIANZA CWD

Consiste nel prelievo per la diagnosi di CWD (1) del tronco encefalico e dei linfonodi retrofaringei mediali della sola specie cervo (**Cervus elaphus**) esclusivamente della categoria dei morti o abbattuti perché clinicamente sospetti.

Sulla base della recente Opinion EFSA che considera i risultati della sorveglianza europea

(1) **non devono essere più considerati:**

- gli animali incidentati,
- altre categorie diverse dai morti e clinicamente sospetti
- altre specie dei Cervidi.

Elenco metodi

TSECAG Malattia del Deperimento Cronico del Cervo (CWD): PrPSc (Qualitativo)

Campione N° 1		Prove effettuate		
Tipo Prova		Identificativo	"23069903"	
TSECAG	Risultato		Data inizio prova	Data fine prova
	NEGATIVO		21-09-2023	21-09-2023

LEGENDA

Denominazione prova	Tecnica analitica	Norma/metodo di prova
Malattia del Deperimento Cronico del Cervo (CWD): PrPSc (Qualitativo)	IMMUNOENZIMATICA	Reg CE 999/2001 22/05/2001 GU CE L147/1 31/05/2001 All X cap C, Reg UE 110/2017 23/01/2017 GU UE L18/42 24/01/2017





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

ATTIVITA' di SORVEGLIANZA

REG CEE 991/2001

ATTIVA : TEST RAPIDI bovini, bufali, ovini, caprini

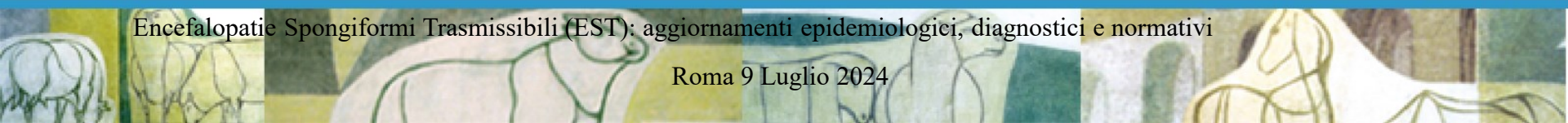
PASSIVA: segnalazione sospetti clinici della malattia (sintomi neurologici) NO TEST RAPIDO

diagnosi *post mortem* RICERCA PrP SC PATOLOGICA

tronco encefalico/obex /screening test rapido

Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili (EST): aggiornamenti epidemiologici, diagnostici e normativi

Roma 9 Luglio 2024



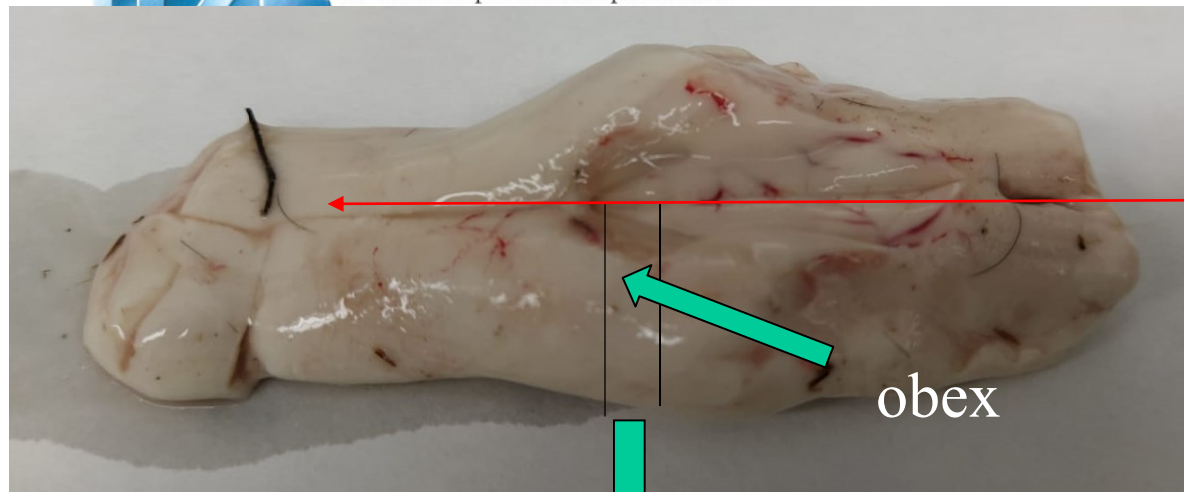


Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Nota 0006558-15/03/2021-DGSAF-MDS-P

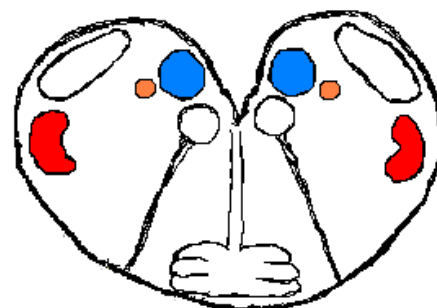
Diagnosi TSE: «Principi di biosicurezza applicabili ai laboratori Test Rapidi inseriti nel programma di sorveglianza epidemiologica delle encefalopatie spongiformi trasmissibili. Aggiornamento Linee Guida»(Aggiornamento Legge 18/12/2020 n. 176)

- PROCEDURE DI DECONTAMINAZIONE DI STRUMENTI E SUPERFICI
- GESTIONE DELLE ESPOSIZIONI
- PROGETTAZIONE E CARATTERISTICHE TECNICHE DEI LABORATORI
- PROCEDURE DI GESTIONE ED ESECUZIONE DELLE ATTIVITA' DI LABORATORIO
- PULIZIA E DISINFEZIONE



**Nucleo Motore
dorsale del nervo
vago**

**Nucleo del
tratto
solitario**



**Nucleo del
tratto Spinale
del Trigemino**

**TEST
RAPIDO**



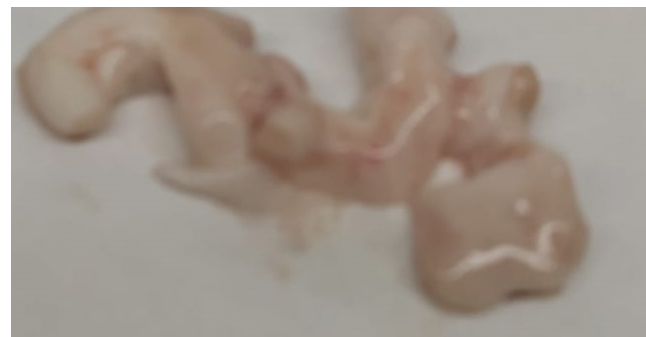
OMOGENEIZZAZIONE



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

TRONCO ENCEFALICO CRITICITA'

- ✓ **TEMPERATURA DI CONSERVAZIONE**
- ✓ **MODALITA' DI PRELIEVO**
- ✓ **TEMPISTICHE DI PRELIEVO**
- ✓ **CONTENITORI IDONEI**





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

REGOLAMENTO (UE) N. 630/2013 DELLA COMMISSIONE

del 28 giugno 2013

che modifica gli allegati del regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio recante disposizioni per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di alcune encefalopatie spongiformi trasmissibili

(Testo rilevante ai fini del SEE)

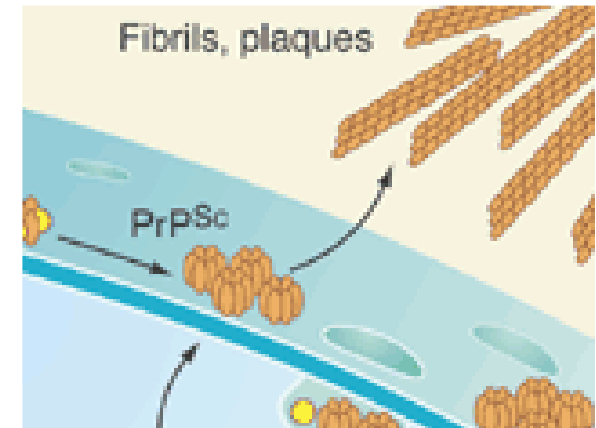
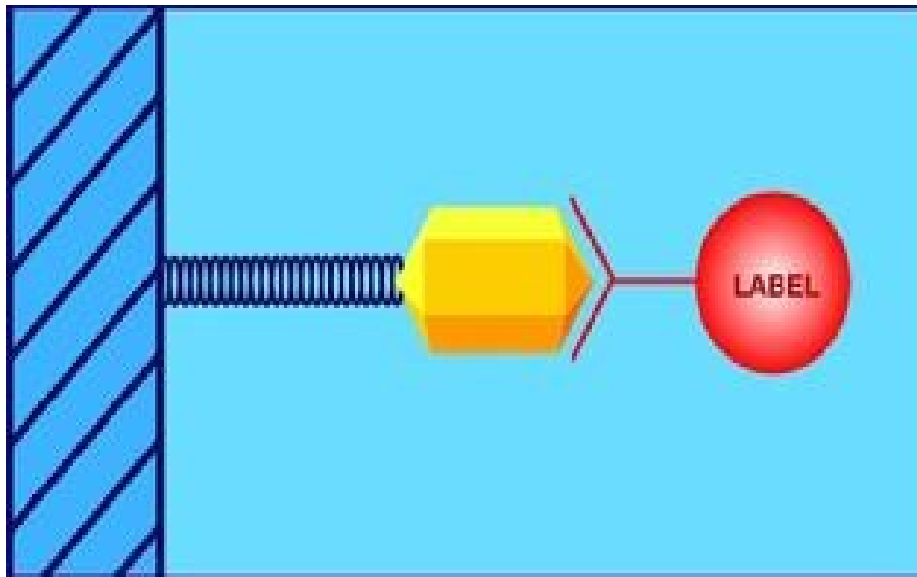
b) nell'allegato X, capitolo C, il punto 4 è sostituito dal seguente:

«4. Test rapidi

- immunodosaggio con impiego di un polimero chimico per la cattura selettiva della PrP Sc e un anticorpo monoclonale di rilevazione diretto contro le regioni conservate della molecola della PrP (kit per il test dell'antigene della BSE/scrapie IDEXX HerdChek, EIA),

Polymeric Ligands with Specificity for Aggregated Prion Proteins, Amin Lane,^{*} Christopher J. Stanley, Stephen Dealler,[†] and Stuart M. Wilson (Microsens Biotechnologies, 2 Royal College St., London NW1 0TU, UK; ^{*} author for correspondence: fax 44-20-7691-2036, e-mail amin.lane@microsens.co.uk; [†] current address: Department of Medical Microbiology, Royal Lancaster Infirmary, Ashton Road, Lancaster LA1 4RP, UK)

Clinical Chemistry 49, No. 10, 2003



Seprion ligand EIA : The ligand (represented by a spring) is bound to a plate surface.

This selectively binds protein aggregates (yellow aggregate) and is detected with an appropriate labeled antibody (red).

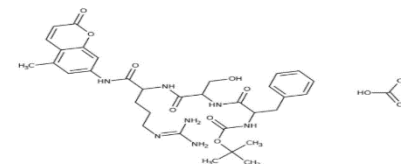


SORVEGLIANZA ATTIVA : TEST RAPIDO HerdChek BSE-Scrapie Antigen (IDEXX)

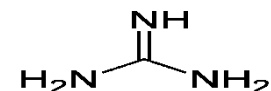
- Prelievo del campione
- Omogeneizzazione

ALLESTIMENTO DELLA PROVA ELISA

Fase di idrolisi diluizione del campione {add. D2 + D1 (wd 1:25)}



Fase di denaturazione esposizione epitopi {PrPsc dd CB }



Fase di riconoscimento Ag-Ab coniugato HPRO (anticorpo riconosce la PrPsc abs a Seprion Ligand)

Fase enzimatica add TMB / Fase di stop reaction H₂SO₄

Lettura spettrofotometrica 450nm

Ultra-Short Protocol

Prepare Sample

1. Collect, Homogenize, Dilute

Time varies depending upon laboratory

Collect tissue, place it in a tissue-disruption tube and homogenize.
Sample aliquot is mixed with diluent in the dilution plate.



EIA Procedure

2. PrPSc Capture

45–60 Minutes (Short)*

20–25 Minutes (Ultra-Short)*

Dispense diluted sample into the antigen-capture plate. PrPSc is captured with the Seprion Ligand affinity.

*With a plate shaker.



Wash



3. Conditioning Buffer Addition

9–11 Minutes

Wash the sample from the capture plate, add conditioning buffer and incubate. Addition of conditioner denatures the bound PrPSc, thus exposing the epitope recognized by the anti-PrP antibody.



Wash



4. Conjugate Addition

45–60 Minutes (Short)

25–30 Minutes (Ultra-Short)

Wash the conditioning buffer from the capture plate, add conjugate and incubate. An anti-PrP antibody conjugated to HRPO (horseradish peroxidase) recognizes and binds to the PrP protein.



Wash



5. Substrate and Stop Addition

14–16 Minutes

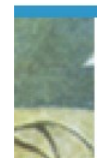
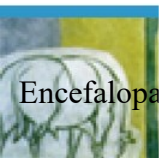
Wash the conjugate from the capture plate, add substrate and incubate. The substrate changes to a blue color in the presence of a PrPSc-positive sample. Addition of acid stops this reaction, and changes the color to yellow.



6. Interpretation

10 Minutes

Read the plate with the microtiter plate reader and interpret the results using the ID50% cut-off.

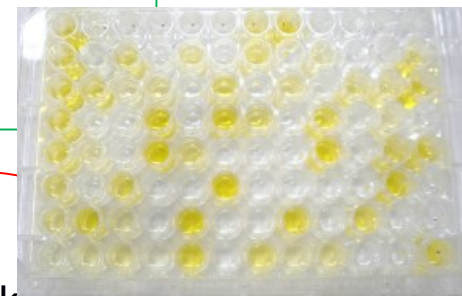




Istituto Zooprofilattico
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

HerdChek* BSE-Scrapie Ag Test

L'analisi è considerata valida quando la media del controllo negativo corrisponde ad un valore $A_{450} - A_{REF}$ inferiore a 0,150 e la media del controllo positivo deve avere un valore $\geq 0,400$. In caso di non validità della piastra ripetere la prova a partire dagli omogenati iniziali.



Calcolo del Cut-Off

BOVINI: $0.120 + \text{media dei controlli negativi forniti dal kit}$

OVI-CAPRINI: $0.180 + \text{media dei controlli negativi forniti dal kit}$

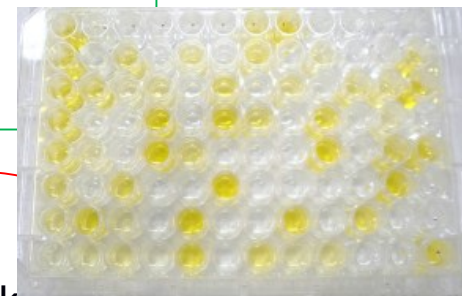
La validazione del metodo è stata effettuata dalla ditta produttrice IDEXX, il metodo è stato verificato dall' European Food Safety Authority (EFSA) nel 2004 e 2005 e approvato dall'European Union Reference Laboratory (EURL); inoltre il Centro di Riferenza per le Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili – CEA IZSPLV con sede a Torino, valuta le performances di ciascun lotto fornito al laboratorio TSE



Istituto Zooprofilattico
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

HerdChek* BSE-Scrapie Ag Test

L'analisi è considerata valida quando la media del controllo negativo corrisponde ad un valore $A_{450} - A_{REF}$ inferiore a 0,150 e la media del controllo positivo deve avere un valore $\geq 0,400$. In caso di non validità della piastra ripetere la prova a partire dagli omogenati iniziali.



Calcolo del Cut-Off

BOVINI: $0.120 + \text{media dei controlli negativi forniti dal kit}$

OVI-CAPRINI: $0.180 + \text{media dei controlli negativi forniti dal kit}$

La validazione del metodo è stata effettuata dalla ditta produttrice IDEXX, il metodo è stato verificato dall' European Food Safety Authority (EFSA) nel 2004 e 2005 e approvato dall'European Union Reference Laboratory (EURL); inoltre il Centro di Riferenza per le Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili – CEA IZSPLV con sede a Torino, valuta le performances di ciascun lotto fornito al laboratorio TSE



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Espressione dei risultati nel RdP in relazione al campionamento

DESCRIZIONE DEL CAMPIONE	Espressione dell' ESITO nel Rapporto di Prova	
	NEGATIVO	POSITIVO
Obex riconoscibile	NEGATIVO	POSITIVO
Obex autolitico	NON VALUTABILE PER AUTOLISI *Test eseguito su porzione non riconoscibile come area target (Reg. CE 999/2001, All X, cap C p.to 1)	POSITIVO
Obex non identificabile/prelievo non eseguito correttamente	NON VALUTABILE PER OBEX NON IDENTIFICABILE *Test eseguito su porzione non riconoscibile come area target (Reg. CE 999/2001, All X, cap C p.to 1)	POSITIVO
Assenza di tessuto nervoso	NON ESEGUIBILE *fuori dal campo di applicazione del metodo (assenza di tessuto nervoso)	
Materiale insufficiente (< 1gr)	NON ESEGUIBILE *materiale insufficiente	
Fissato in formalina	NON ESEGUIBILE *fissato in formalina	
Non pervenuto in laboratorio	NON ESEGUIBILE *campione non pervenuto	
Sotto età diagnostica	NON ESEGUIBILE * fuori dal campo di applicazione del piano di campionamento (sotto età diagnostica o privo di ID univoco)	
Privo di ID univoco		
Altro	NON ESEGUIBILE * fuori dal campo di applicazione del piano di campionamento	





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

POSITIVITA' AL TEST RAPIDO

Reg CEE 999/2001 «...in caso di sospetta infezione da TSE in un animale sia immediatamente alle autorità competenti».

Cosa fa il laboratorio:

Ripetizione della prova dei campioni inizialmente reattivi

Emissione del RdP con esito POSITIVO

Comunicazione agli Enti competenti (INDEX)

Invio al CEA organi e documentazione per TEST di CONFERMA

RISULTATI DELLE PROVE ESEGUITE			
TRONCO ENCEFALICO DI CAPRA			
SPONGIFORMI TRASMISSIBILI (EST) - TECNICA: ELISA			
Camp.	Abq.	UC #	Ident. Camp.
1	1	1	IT060000244976
			08/03/2019
			Esito
			POSITIVO
Metodo di Prova:			
Reg. CE 999/01 2005/01 GU CE L147 31/05/01 All. X cap. C			
Reg. UE 609/13 20/06/13 GU UE L179 29/06/13 - 12291V			
POS INDG11			

COMUNICAZIONI

Ministero

CEA

ISS

COVEPI

AASSLL

Regioni

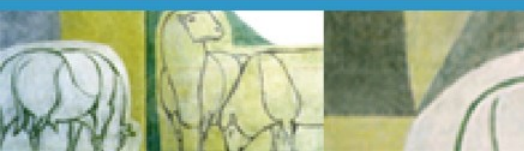
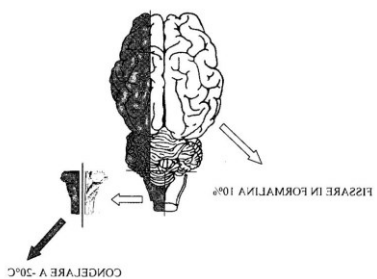
CEA TEST DI CONFERMA

Manuale WOA (Reg. (CE) 999/2001 All. X, Capitoli A e C)

IICTSE

ISCR

WBSCR





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.

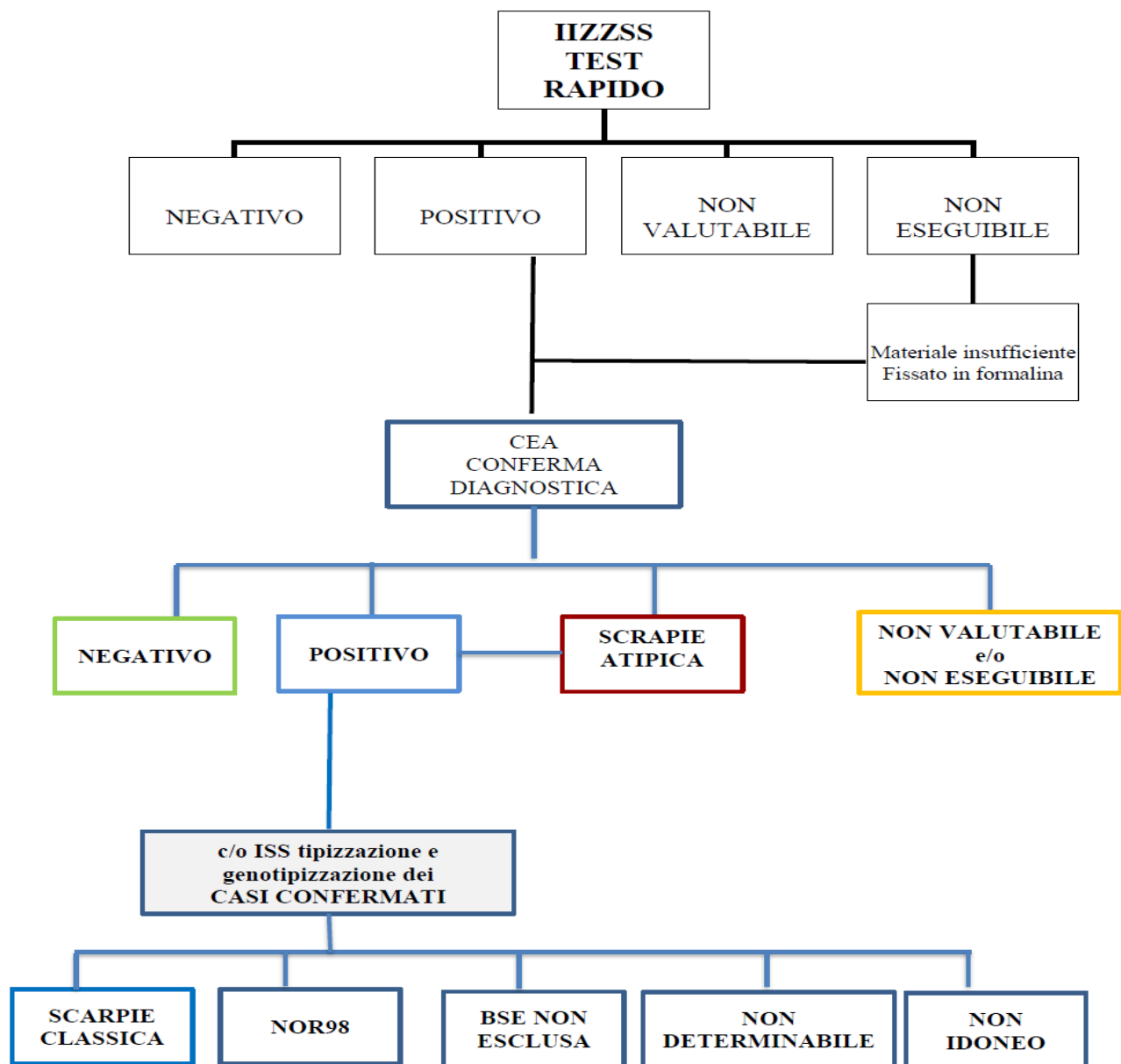
**CEA TEST DI
CONFERMA**
IICTSE
ISCR
WBSCR

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 di depositi di PrP ^{Sc}
	Negativo	Assenza di depositi di PrP ^{Sc}
	Non valutabile	Scarsa rappresentazione dei siti target/autolisi/congelamento
	Scrapie atipica	Presenza di depositi di 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} (30-12 kDa)
	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





ITER DIAGNOSTICO DELLE TSE





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

TEST DI CONFERMA

«Caso di scrapie»

Caso di BSE

tipizzazione

MANUALE TECNICO SULLA CARATTERIZZAZIONE DEL CEPPO DI TSE NEI PICCOLI RUMINANTI (REG. 999/2001)

http://vla.defra.gov.uk/scienze/docs/sci_tse_rl_handbookv4Jan10.pdf

Caso di scrapie classica

Caso di scrapie atipica

METODO PER LA CLASSIFICAZIONE DEGLI ISOLATI BOVINI DELLE TSE (REG. 999/2001)

http://vla.defra.gov.uk/scienze/docs/sci.tse_rl_2blot.pdf

Caso di BSE atipica

Caso di BSE classica

Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili (EST): aggiornamenti epidemiologici, diagnostici e normativi

Roma, 9 luglio 2024



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

SCREENING PRIMARIO Test Rapido

Positivo o
inconclusivo

negativo

Test di conferma
Istologia
Immunistoichimica
Western blot

POSITIVO

Test molecolare primario
(test discriminativo)

Determinazione
genotipo PrP

Scrapie atipica

Scrapie classica

BSE non esclusa



BSE non esclusa

TEST MOLECOLARE
SECONDARIO

Scrapie classica

BSE non esclusa

STUDI IN VIVO
(bioassay con roditori)

BSE





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

GRAZIE PER L'ATTENZIONE

Esterina Indino
Laura Fiore
Fernando Palmerini

firenzebse@izslt.it



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Provider organizzatore n. 733

9 LUGLIO

**Encefalopatie Spongiformi
Trasmissibili (EST):
aggiornamenti epidemiologici,
diagnostici e normativi**



**Istituto Zooprofilattico
Sperimentale del Lazio e della
Toscana sede di Roma-Via Appia
Nuova 1411**

