



## Direttive tecniche

concernenti il

### **prelievo di campioni e la loro analisi riguardo alla polmonite enzootica dei suini (PE)**

del 14 aprile 2003; versione aggiornata il 15 novembre 2021

L'Ufficio federale della sicurezza alimentare e di veterinaria (USAV),

visti gli articoli 245a capoverso 2 e 297 capoverso 1 lettera c dell'ordinanza del 27 giugno 1995 sulle epizootie (OFE; RS 916.401),

emana le seguenti direttive:

## I Campo di applicazione

1. Le presenti direttive tecniche disciplinano il prelievo di campioni, i metodi di analisi, l'interpretazione e la comunicazione dei risultati, gli accertamenti epidemiologici da effettuare nell'ambito della procedura finalizzata al raggiungimento dello stato ufficiale di indennità da PE per un effettivo, della sorveglianza come pure nei casi di sospetto e di constatazione dell'epizootia.

## II Prelievo di campioni

2. Quale materiale d'analisi per la diagnosi della PE (agente patogeno *Mycoplasma hyopneumoniae*) si utilizzano campioni di polmoni, tamponi nasali e tracheali e siero sanguigno. In caso di sospetto clinico e/o epidemiologico di PE, il veterinario cantonale organizza il prelievo di materiale adeguato nell'effettivo (3 polmoni, 10 campioni di tamponi nasali, 10 campioni di tamponi tracheali o 20 campioni di sangue), che vanno inviati ai laboratori accreditati per la diagnostica della PE.

3. Polmoni

In sede di controllo delle carni i polmoni devono essere ispezionati per individuare sintomi di PE. Se oltre il 10 % del lotto di suini macellati presenta alterazioni polmonari che fanno sospettare una PE, il controllore delle carni preleva dei campioni di polmoni alterati e li invia ad un laboratorio accreditato.

Gli organi sono da considerarsi sospetti se presentano tessuto solidificato, rosso scuro, rosso-marrone (acuto) fino a grigio-rosa (cronico) scolorito nella zona cranioventrale (lobo apicale) del polmone. Nel test di immersione in acqua, il tessuto alterato affonda.

Su 3 suini con lesioni polmonari, per ciascuno deve essere prelevata almeno mezzo polmone intero e inviata al laboratorio. I campioni devono essere conservati sotto refrigerazione, ma non congelati, ed inviati (per posta A o per corriere) il più rapidamente possibile al laboratorio accreditato per la diagnostica della PE.

Inoltre, i polmoni possono essere esaminati macroscopicamente durante un esame autoptico dal veterinario responsabile e, in caso di sospetto, i campioni (vedi sopra) possono essere inviati a un laboratorio riconosciuto per la diagnostica della PE.

Ogni sospetto di infezione da PE deve essere notificato all'ufficio veterinario cantonale responsabile dell'azienda di provenienza anche se non sono stati prelevati campioni. La notifica è effettuata

indicando l'azienda di provenienza, il quantitativo di suini macellati quel giorno e il numero di polmoni alterati.

Se i suini sono portati al macello per motivi di polizia epizootica e sono accompagnati da un certificato d'accompagnamento rosso, è necessario attenersi alle istruzioni destinate al controllo delle carni indicate sul documento.

4. Tamponi nasali/tamponi tracheali

In caso di sospetto clinico di PE in un effettivo, il veterinario di controllo deve prelevare 10 campioni di tamponi nasali o tracheali di suini che presentano tosse. A tale proposito, con l'aiuto di una persona, i suini vanno catturati e immobilizzati tramite un torcinaso.

**Tampone nasale:** pulire il grugno dei suini immobilizzati con una compressa secca (nessun disinfettante o salvietta disinfettante), quindi inserire con cautela e il più profondamente possibile un tampone nel naso (tampone di cotone asciutto senza liquido). Orientare il tampone leggermente verso il setto nasale e, effettuando movimenti rotatori, prelevare quanto più materiale possibile (dopo questa operazione il tampone deve risultare leggermente umido).

Tampone tracheale: per evitare che l'animale mastichi il bastoncino di campionatura, applicare un dispositivo apribocca. Inserire il bastoncino di campionatura, adattato alle dimensioni del suino, con un movimento in avanti attraverso l'orofaringe e l'epiglottide nella trachea. Qui, prelevare più materiale possibile attraverso movimenti rotatori e, con un movimento all'indietro, estrarlo dalla trachea. Trasferire quindi il bastoncino di campionatura nella provetta, se possibile senza farlo entrare a contatto con le pareti di quest'ultima.

I campioni devono essere inviati per posta A o corriere a un laboratorio riconosciuto per la diagnostica della PE.

5. Campioni di sangue

Nell'ambito degli accertamenti in caso di sospetto clinico ed epidemiologico, possono essere prelevati campioni di sangue. In totale è necessario prelevare nell'effettivo 20 campioni.

In un'azienda d'allevamento possono essere prelevati campioni di sangue da suinetti di 1–2 settimane di età e da animali di età superiore ai 4 mesi. Le scrofe nel periodo tra un mese antepartum e un mese postpartum non dovrebbero essere campionate. Negli allevamenti da ingrasso devono essere prelevati campioni di sangue di animali a partire da un'età di 4 mesi. I campioni devono essere conservati refrigerati o inviati per posta A o corriere a un laboratorio riconosciuto per la diagnostica della PE.

6. Tutti campioni devono essere identificati in maniera univoca e accompagnati da una richiesta d'analisi nella quale siano indicati nome, cognome, indirizzo e numero BDTA dell'azienda di provenienza nonché il mandante.

### III Laboratori

7. I laboratori che effettuano analisi diagnostiche nell'ambito della lotta contro la PE devono essere riconosciuti a tale scopo dall'USAV (art. 312 OFE).
8. Laboratorio nazionale di riferimento  
ZOBA, Istituto di batteriologia veterinaria della Facoltà Vetsuisse dell'Università di Berna, Länggassstrasse 122, Casella postale, CH-3001 Berna
9. Previo accordo, i campioni dubbi possono essere inviati al laboratorio di riferimento per la conferma dei risultati.

### IV Metodi di analisi e rapporto

10. I laboratori riconosciuti per la diagnostica della PE procedono all'analisi dei campioni inviati mediante i metodi riconosciuti scientificamente descritti nel presente documento. Lo schema dell'allegato 1 fornisce una visione generale dei possibili processi di analisi. La tabella dell'allegato 2 facilita la valutazione dei risultati e la redazione del rapporto.
11. Messa in evidenza biologico-molecolare dell'agente patogeno tramite PCR in tempo reale

- a. Rilevamento di *Mycoplasma hyopneumoniae* su strisci di prelievi bronchiali mediante PCR. Pubblicazione: Dubosson C.R., Conzelmann C., Miserez R., Boerlin P., Frey J., Zimmermann W., Häni H., Kuhnert P. Development of two real-time PCR assays for the detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in clinical samples. Vet. Microbiol. 102, 55 - 65, 2004.
- b. Messa in evidenza di *Mycoplasma hyopneumoniae* su tamponi nasali mediante PCR. Pubblicazione: Zeeh F. Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in porcine nasal swabs using real-time PCR. Tesi inaugurale della facoltà di veterinaria dell'Università di Berna, 2004.

Può essere utilizzata unicamente la PCR in tempo reale con le due sequenze bersaglio REP e ABC indicata nelle due pubblicazioni sopraccitate. Inoltre è necessario utilizzare unicamente le sequenze di innesco e le sonde indicati. Devono essere esaminati almeno 3 polmoni o 10 tamponi nasali o tracheali per effettivo. Nel caso dei tamponi nasali, è necessario effettuare innanzitutto un'estrazione del DNA.

Il rilevamento dell'agente patogeno è considerato positivo secondo l'OFE se almeno uno degli strisci bronchiali, dei tamponi nasali o tracheali è positivo alla PCR in tempo reale e deve essere interpretato insieme a ulteriori risultati di esami clinici e/o risultati epidemiologici al fine di valutare l'effettivo. I risultati positivi dei tamponi nasali possono essere confermati tramite campioni tracheali e/o test sierologici. Un risultato negativo alla PCR può essere considerato come un risultato negativo affidabile.

#### 12. Individuazione sierologica degli anticorpi

Possono essere utilizzati unicamente i test controllati dal laboratorio di riferimento e autorizzati dall'USAV ([www.usav.admin.ch](http://www.usav.admin.ch)).

È necessario attenersi alle istruzioni per l'uso fornite dal fabbricante dei test ELISA.

Per ogni effettivo devono essere analizzati 20 campioni. Se almeno 3 campioni risultano positivi, l'analisi sierologica per l'effettivo va considerata positiva alla PE. Viene effettuata una valutazione dei risultati sierologici insieme al risultato dell'analisi di messa in evidenza dell'agente patogeno e ai sintomi clinici e/o epidemiologici.

#### 13. Tipizzazione della sequenza multilocus (MLST)

La MLST può essere utilizzata per tipizzare campioni di suini domestici e cinghiali positivi alla PE e per identificare potenziali catene di infezione (Mayor et al., 2008; Kuhnert et al., 2011; Kuhnert & Overesch 2014; Overesch & Kuhnert 2017). Se in un campione è presente una quantità sufficiente di DNA specifico di *Mycoplasma hyopneumoniae* (di solito nei campioni di polmone), è possibile eseguire una MLST (ciò va chiarito con il laboratorio di riferimento in ogni singolo caso).

#### 14. Comunicazione dei risultati

I risultati diagnostici di laboratorio, compresi i valori Ct nel caso di test PCR in tempo reale e il rapporto campioni/casi positivi per i campioni sierologici devono essere comunicati al veterinario che li ha inviati e al veterinario cantonale. Il detentore degli animali e il servizio sanitario suino – se l'azienda interessata ne fa parte – vengono informati dei risultati dal veterinario responsabile curante.

## **V Accertamenti epidemiologici in effettivi con sospetto di PE**

15. In caso di sospetto in un effettivo riconosciuto indenne da PE, possono essere svolti i seguenti accertamenti:
- a. esame clinico degli animali dell'effettivo;
  - b. anamnesi del traffico di animali;
  - c. precedenti casi di malattia;
  - d. precedenti trattamenti;
  - e. controlli della macellazione;
  - f. ingrassi misti;
  - g. messa in evidenza dell'agente patogeno mediante PCR in tempo reale da polmoni, tamponi nasali o tamponi tracheali;
  - h. analisi sierologiche;
  - i. accertamenti epidemiologici negli effettivi a contatto con quello sospetto.

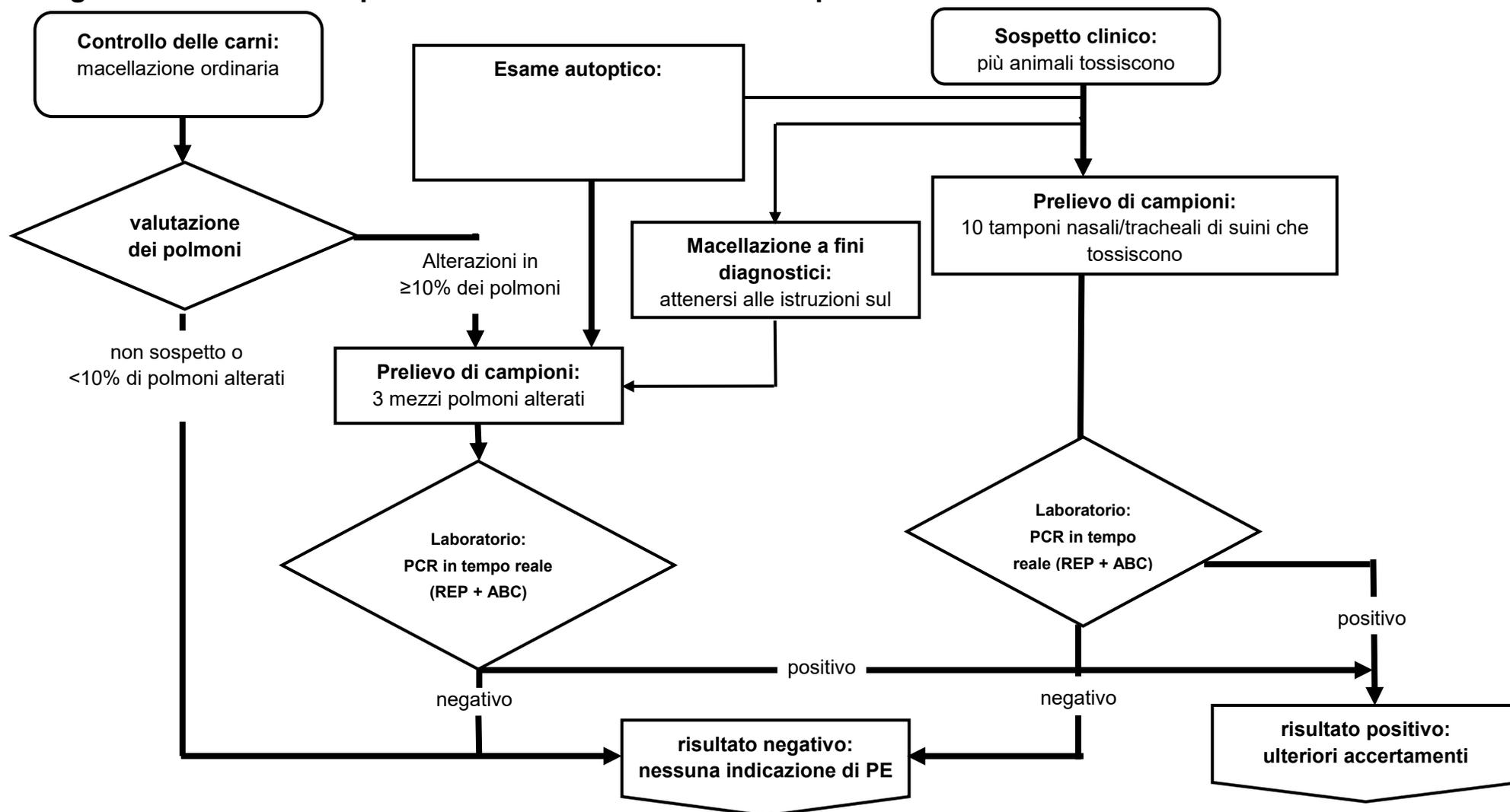
## **VI Entrata in vigore**

Le presenti direttive modificate entrano in vigore il 1° dicembre 2021.

## **VII Allegati:**

1. Schema della procedura d'analisi in caso di sospetto di PE
2. Valutazione dei risultati e rapporto

### Allegato 1: Schema della procedura d'analisi in caso di sospetto di PE in un effettivo



## Allegato 2: Valutazione dei risultati e rapporto

Criteria di valutazione	Prelievo di campioni	PCR in tempo reale (REP + ABC)	Valutazione complessiva e rapporto
<b>Controllo delle carni: esame macroscopico-patologico dei polmoni</b>			
non sospetto	nessun prelievo di campioni		risultato negativo, nessuna notifica all'ufficio veterinario cantonale
<10% di alterazioni polmonari con sospetto di PE	nessun prelievo di campioni		risultato sospetto, notifica all'ufficio veterinario cantonale
≥10% di alterazioni polmonari con sospetto di PE	inviare 3 mezzi polmoni alterati al laboratorio riconosciuto		risultato sospetto, notifica all'ufficio veterinario cantonale
<b>Veterinario che invia i campioni: esame macroscopico-patologico dei polmoni (esame autoptico)</b>			
Le alterazioni non fanno sospettare una PE	nessun prelievo di campioni		risultato negativo, nessuna notifica all'ufficio veterinario cantonale
Le alterazioni fanno sospettare una PE	inviare 3 mezzi polmoni sospetti al laboratorio riconosciuto		risultato sospetto, notifica all'ufficio veterinario cantonale
<b>Laboratorio riconosciuto: analisi dei campioni</b>			
	Campioni da tutti i polmoni inviati	tutti i campioni sono negativi	risultato negativo, notifica all'ufficio veterinario cantonale
		≥1 campione positivo	risultato positivo, notifica all'ufficio veterinario cantonale
<b>Veterinario dell'effettivo: valutazione clinica dell'effettivo di suini</b>			
nessun indizio di PE	nessun prelievo di campioni		risultato negativo, nessuna notifica all'ufficio veterinario cantonale
più animali presentano tosse evidente, notifica di sospetto all'ufficio veterinario cantonale	tamponi nasali/tracheali di 10 suini con sintomi di sospetto clinico	tutti i campioni negativi	risultato negativo, notifica all'ufficio veterinario cantonale
		≥ 1 campione positivo a PCR in tempo reale	risultato positivo, notifica all'ufficio veterinario cantonale
	campioni di sangue di 20 suini	≥ 3 campioni positivi a ELISA	