



Direttive tecniche

concernenti il

prelievo e l'esame di campioni per la ricerca della diarrea virale bovina (BVD)

del 23 ottobre 2007, modificate il 16.04.2008, modificate a livello redazionale il 23.09.2009, il 24.01.2013 e il 15.04.2019

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

visti gli articoli 174a capoverso 3 e 312 capoverso 5 dell'ordinanza del 27 giugno 1995 sulle epizootie (OFE; RS 916.401),

emana le seguenti

direttive:

I. Campo d'applicazione

1. Le presenti direttive tecniche regolamentano i requisiti per il prelievo e l'analisi di campioni per la diagnosi della diarrea virale bovina (BVD). Stabiliscono il materiale da esaminare e i metodi d'analisi da applicare.

II. Prelievo di campioni

2. Il veterinario cantonale stabilisce il periodo per il prelievo e il materiale da esaminare richiesto. Designa la persona responsabile del prelievo dei campioni e decide in merito alla procedura d'esame.
3. Fungono da materiali da esaminare per l'identificazione diretta del virus (antigene o genoma) della BVD campioni di punzonature cutanee auricolari, sangue, latte, biopsie cutanee, feti o animali nati morti.
4. Le condizioni per il prelievo e per la spedizione del materiale da esaminare sono elencate nella tabella seguente:

Materiale da esaminare	Persona che effettua il prelievo	Recipiente, quantità, tecnica di prelievo e conservazione	Invio	Osservazioni
Sangue	Veterinario	Campione di sangue in provette EDTA da 10 ml; conservare in frigorifero	Il giorno del prelievo per posta A oppure mediante corriere	Per ogni prelievo di sangue si deve utilizzare un nuovo ago.

Latte	Veterinario o altra persona incaricata	Provette per latte da 10 ml; conservare in frigorifero	Il giorno del prelievo per posta A oppure mediante corriere	Aggiungere un agente conservante appropriato (Broad Spectrum Microtabs (55% 2-bromo-2-nitro-1,3-propandiolo))
Campioni di punzature cutanee auricolari	Allevatore, veterinario o altra persona incaricata		Il giorno del prelievo per posta A oppure mediante corriere	Solo tessuto prelevato di recente o conservato refrigerato.
Feti e vitelli nati morti	Veterinario	Feto intero o testa e collo interi	Immediatamente dopo l'aborto	Solo in casi speciali, dopo accordo con il veterinario cantonale
Biopsie cutanee	Veterinario	Punzoni Ø 6mm, prelevati sul lato del collo oppure alla spalla Non fissato	Per la spedizione sono idonee le provette da siero (proteggere dall'essiccazione con garza umida)	Solo in casi speciali, dopo accordo con il veterinario cantonale Solo all'Istituto di patologia veterinaria di Zurigo, per immunostochimica

5. I campioni di punzature cutanee auricolari sono raccolti solo nei recipienti messi a disposizione nell'ambito dell'eradicazione della BVD e spediti evitando ogni possibile contaminazione.
6. Per ragioni di tracciabilità è assolutamente necessario allegare una domanda di analisi debitamente compilata e un'identificazione univoca dei campioni.

III. Laboratori

7. Laboratori che svolgono gli esami nell'ambito della lotta ufficiale contro la BVD devono essere riconosciuti dall'USAV (art. 312 OFE). La [lista dei laboratori riconosciuti](#) è pubblicata su Internet.
8. Le analisi dei campioni e la notifica dei risultati delle analisi al sistema d'informazione per i dati di laboratorio ALIS conformemente al punto 19 devono essere effettuate entro 5 giorni lavorativi.
9. Il veterinario cantonale designa il laboratorio riconosciuto incaricato dell'esame dei diversi campioni prelevati.
10. I feti e gli animali nati morti, rispettivamente i loro organi, sono sottoposti all'esame immunostochimico presso l'Istituto di patologia veterinaria della facoltà Vetsuisse dell'Università di Zurigo, Winterthurerstrasse 268, CH-8057 Zurigo, o in un laboratorio riconosciuto, per mezzo della real-time reverse transcriptase PCR (rRT-PCR) autorizzata allo scopo. Come alternativa, per gli animali nati morti può essere prelevato un campione cutaneo auricolare, se il materiale è fresco.
11. **Laboratorio nazionale di riferimento:**
Istituto di virologia e di immunologia, IVI Berna, Länggassstrasse 122, Casella postale, CH-3001 Berna.

IV Metodi d'esame

12. Kit d'esame autorizzati

Possono essere impiegati unicamente i sistemi d'esame approvati dall'USAV. I kit d'esame autorizzati dall'USAV sono pubblicati su Internet ([Elenco dei kit di diagnosi veterinaria](#)).

13. Real-time reverse transcriptase PCR (rRT-PCR):

Identificazione specifica per il genoma del virus della BVD in campioni di sangue, latte, campioni di pelle o feti abortiti mediante rRT-PCR. La rRT-PCR si presta principalmente a campioni di animali di ogni età.

L'autorizzazione dell'esame mediante rRT-PCR avviene solo con materiale da esaminare convalidato dal fabbricante. Devono essere seguite le prescrizioni per l'uso dei reattivi per rRT-PCR, fornite dal fabbricante.

14. Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay (ELISA) per l'identificazione dell'antigene della BVD:

Il test ELISA è impiegato per l'identificazione dell'antigene in campioni di pelle di animali di ogni età. L'uso del test ELISA per l'identificazione dell'antigene in campioni di sangue è autorizzato solo per gli animali al di sopra dei 6 mesi. L'analisi dei campioni di sangue di animali sotto i sei mesi non è autorizzata.

Nell'utilizzazione di questo metodo occorre osservare le istruzioni fornite dal fabbricante.

15. Immunoistochimica

L'identificazione dell'antigene della BVD mediante immunoistochimica si presta particolarmente per gli esami di feti abortiti e di vitelli nati morti o morti dopo il parto. A questo scopo sono utilizzati, secondo la taglia, l'intero aborto o la testa (cervello).

Su indicazione del veterinario cantonale può essere ordinato, in casi singoli, un esame immunoistochimico su biopsie di pelle non fissata (Ø 6 mm).

16. Pool

In linea di massima occorre prelevare un singolo campione da tutti gli animali.

Gli esami mediante l'uso del test ELISA-antigene devono avvenire come esami singoli. Qualora si impieghi la rRT-PCR, possono essere esaminati anche campioni riuniti (pool). Le dimensioni dei pool dipendono dal metodo di estrazione del RNA prescelto, dalla rRT-PCR e dal materiale da esaminare utilizzato. Le dimensioni massime dei pool saranno stabilite dall'USAV.

In caso di campioni di latte e di sangue, il materiale può essere riunito in un pool prima dell'estrazione del RNA. Per le punzonature cutanee, il materiale può essere riunito in un pool solo dopo la lisi o dopo l'estrazione del RNA.

I campioni individuali devono essere conservati in modo tale da consentirne l'esame qualora fosse riscontrato un pool positivo.

17. Esami di conferma

Tutti i risultati positivi (inizialmente positivi) o non interpretabili al momento del primo esame sono verificati mediante un esame di conferma. Per l'esame di conferma si preleva un nuovo campione dell'animale esaminato (v. sotto). Se ciò non è possibile, è considerato positivo il campione del primo esame.

Per tutti gli animali risultati positivi o non interpretabili al primo esame, indipendentemente dalla prima procedura d'esame, occorre

- a. prelevare un campione di sangue EDTA e
- b. esaminarlo mediante rRT-PCR.

Qualora l'esame di conferma risulti

- a. negativo, il campione è da considerare negativo
- b. positivo, il campione è da considerare positivo
- c. non interpretabile, il campione deve essere messo a disposizione del laboratorio di riferimento, previa consultazione.

Gli esami di conferma avvengono presso il laboratorio nazionale competente per la BVD. Qualora il laboratorio in cui è stato svolto il primo esame sia riconosciuto dall'USAV per la diagnosi della

BVD mediante metodi di biologie molecolare, gli esami di conferma possono avvenire nello stesso laboratorio.

Il veterinario cantonale è responsabile del prelievo del campione necessario alla conferma del primo risultato.

18. Conservazione dei campioni

Il laboratorio deve conservare i campioni individuali che sono stati riuniti in un pool fino al momento in cui sia disponibile un risultato univoco.

In caso di risultato positivo confermato, il laboratorio deve inviare i campioni di sangue analizzati al laboratorio di riferimento per la BVD.

V. Rapporti

19. I risultati devono essere trasmessi alla banca dati dei laboratori dell'USAV, secondo quanto prescritto dalle «Direttive tecniche concernenti il rendiconto ad ALIS, il sistema di informazione dei laboratori, da parte dei laboratori riconosciuti».

VI. Entrata in vigore

Le presenti direttive tecniche entrano in vigore il 1° novembre 2007.

UFFICIO FEDERALE DELLA SICUREZZA ALIMENTARE
E DI VETERINARIA