



Direttive tecniche

concernenti il

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

del 14.04.2003

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

visti gli articoli 245° capoverso 3 e 297 capoverso 1 lettera c dell'Ordinanza sulle epizoozie del 27 guzgni 1995 (OFE; RS 916.401)

emana le seguenti **direttive**:

I Campo d'applicazione

1. Le presenti direttive tecniche disciplinano il prelievo di campioni, i metodi d'analisi, l'interpretazione dei risultati, le misure da adottare e gli accertamenti epidemiologiche da effettuare nell'ambito della procedura finalizzata al raggiungimento dello statuto ufficiale di indenne da PE, della sorveglianza come pure nei casi di sospetto e di constatazione dell'epizoozia.

II Prelievo di campioni

2. Quale materiale d'analisi per la diagnosi della PE si utilizzano campioni di polmoni, tamponi nasali, siero sanguigno e di colostro. In caso di sospetto clinico e/o epidemiologico di PE, il veterinario cantonale organizza il prelievo di materiale adeguato sull'effettivo (3 polmoni, 10 campioni di tamponi nasali, 20 campioni di sangue e/o colostro). Questi campioni vanno inviati ai laboratori accreditati.
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 maiali 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. Egli preleva su 3 maiali con lesioni polmonari almeno l'intera metà di un polmone e li invia al laboratorio. I campioni devono essere conservati sotto refrigerazione, ma non congelati, ed inviati il più rapidamente possibile al laboratorio accreditato (per Posta A o per corriere). Ogni sospetto di infezione da PE deve essere notificato all'ufficio veterinario cantonale responsabile per l'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 maiali 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
In caso di sospetto clinico di PE in un'azienda, il veterinario di controllo deve prelevare 10 campioni di tamponi nasali quando i suini tossiscono. Inoltre, ai suini legati viene pulito il grugno con una compressa secca (nessun disinfettante o salvietta disinfettante) e in seguito viene loro inserito con cautela e il più profondamente possibile un tampone nel naso (tampone di cotone

senza medium). Il tampone è diretto leggermente verso il setto nasale ed effettuando movimenti rotatori viene prelevato quanto più materiale possibile (dopo questa operazione il tampone deve essere leggermente umido). Esso viene in seguito estratto dalgrugno e va riposto nel tubetto possibilmente senza contatto con la parete. I prelievi di secrezione nasale vanno inviati il più rapidamente possibile ad un laboratorio accreditato, indicato al punto 12, in grado di effettuare l'analisi PCR/EP su un tampone di secrezione nasale.

5. Siero sanguigno e/o siero di colostro

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

- a. Nelle aziende d'allevamento possono essere prelevati campioni di sangue da lattinzoli che non hanno superato le 2 settimane di età e da animali di età superiore ai 4 mesi. Il colostro deve essere prelevato prima o durante il parto e l'analisi va effettuata sulle scrofe alle quali è stato possibile prelevare il campione.
- b. Nelle aziende dedite all'ingrasso vanno prelevati campioni di sangue da animali di età superiore a 4 mesi.

I campioni devono essere conservati sotto refrigerazione ed inviati il più rapidamente possibile ad un laboratorio accreditato (per Posta A o per corriere).

6. Tutti campioni devono essere chiaramente identificati ed accompagnati da una richiesta d'analisi nella quale siano indicati nome, cognome, indirizzo e numero BDTA dell'azienda di origine come pure il mandante e il destinatario della fattura.

III Laboratori

7. I laboratori che effettuano analisi diagnostiche nell'ambito della lotta contro la PE devono essere riconosciuti a tale scopo dall'UFV (art. 312 OFE).

8. Laboratorio nazionale di riferimento

- a. 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 d'analisi e rapporto

10. I laboratori riconosciuti procedono all'analisi dei campioni inviati mediante metodi riconosciuti scientificamente e tenendo in considerazione i metodi elencati qui di seguito. Lo schema dell'allegato 1 fornisce una visione generale dello schema di analisi. La tabella dell'allegato 2 facilita la valutazione dei risultati e la redazione del rapporto.

11. Messa in evidenza dell'agente patogeno

- 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 assay 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 von *Mycoplasma hyopneumoniae* in porcine nasal swabs using real-time PCR. Tesi inaugurale della facoltà di veterinaria dell'Università di Berna, 2004

12. Esame macropatologico dei polmoni

Nei laboratori accreditati i polmoni inviati vengono sottoposti ad esame macropatologico. Se dalle alterazioni è possibile escludere un contagio da PE, è redatto un rapporto sul risultato negativo nel quale sono descritte le alterazioni macroscopiche. Se a causa di alterazioni patologiche tipiche permane il sospetto di PE, sono immediatamente prelevati campioni da ogni singolo polmone per sottoporli ad analisi di biologia molecolare.

13. Analisi di biologia molecolare

Può essere utilizzata unicamente la real-time PCR 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.

Un risultato è considerato positivo se almeno un campione di striscio bronchiale o di tampone nasale risulta positivo alla PCR. Tale risultato rivela la presenza dell'agente patogeno e per la valutazione dell'effettivo è necessario interpretarlo insieme ai risultati clinici e/o epidemiologici. Un risultato negativo alla PCR può essere considerato come un risultato negativo affidabile.

14. Analisi sierologica per individuare gli anticorpi

Possono essere utilizzati unicamente i test controllati dal laboratorio di riferimento e autorizzati dall'UFV. Attualmente sono utilizzati i seguenti test:

- a. ELISA (siero di sangue e di latte): Checkit® -Hyoptest-II (Dr. Bommeli AG)
- b. ELISA (siero sanguigno): HerdCheck® M. hyo (IDEXX Laboratories, Inc.)

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

Per ogni effettivo è necessario analizzare 20 campioni. Se almeno 3 campioni risultano positivi, l'analisi sierologica va considerata positiva.. 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.

V Accertamenti epidemiologici in aziende sospettate di EP

15. In caso di sospetto in un'azienda riconosciuta indenne da EP, possono essere svolti i seguenti accertamenti:

- a. esame clinico degli animali nell'azienda
- b. anamnesi del traffico di animali
- c. precedenti casi di malattia
- d. precedenti trattamenti
- e. controlli della macellazione
- f. ingrassi misti
- g. analisi di biologia molecolare dei polmoni
- h. messa in evidenza dell'agente patogeno mediante PCR da secrezioni nasali
- i. analisi sierologiche
- j. accertamenti epidemiologici negli effettivi a contatto con quello sospetto

VI Entrata in vigore

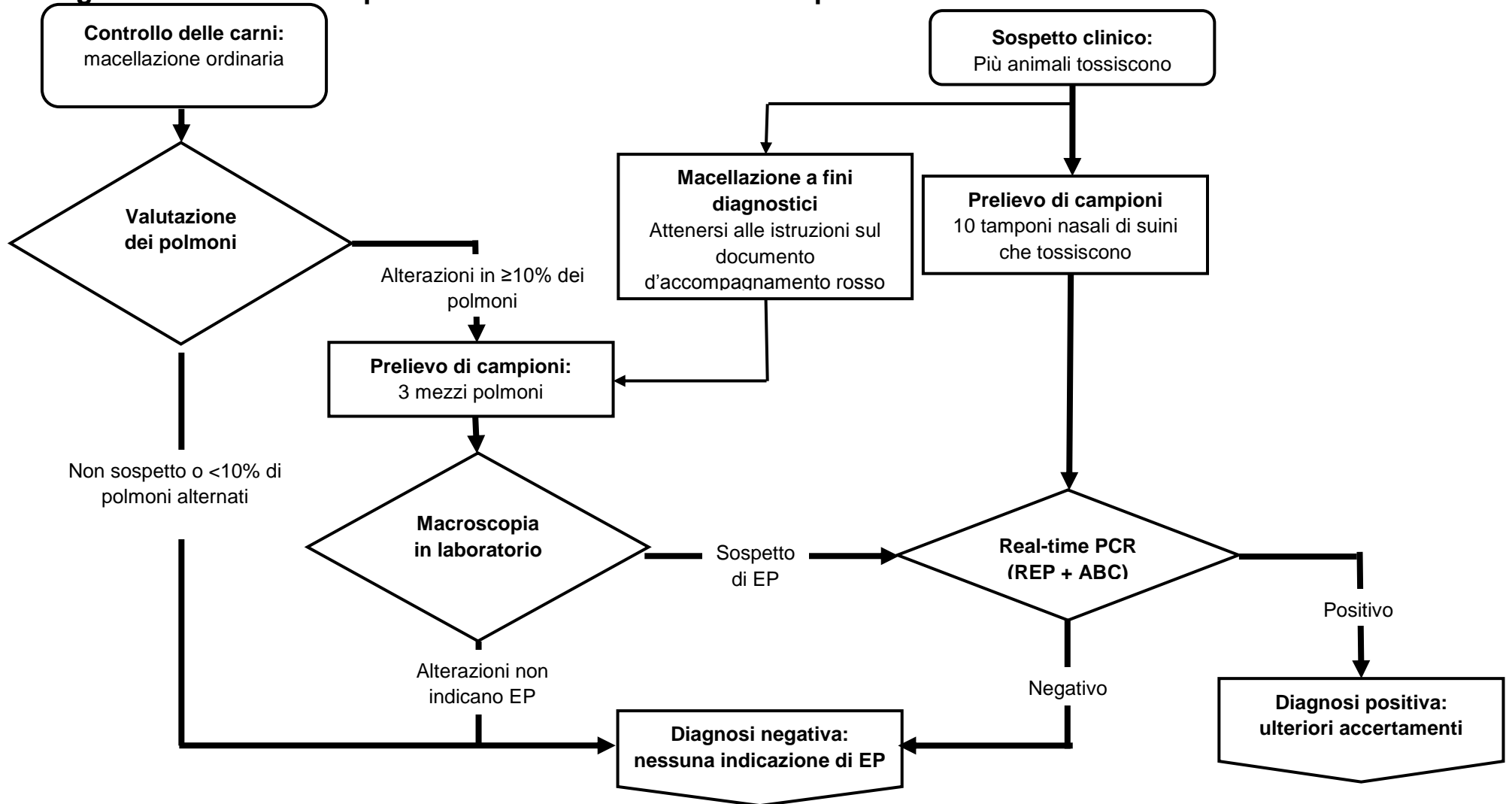
1. Le presenti direttive entrano in vigore il 01.07.2005.

VII Allegato

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



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



Allegato 2: Valutazione dei risultati e rapporto

Criteria di valutazione	Prelievo di campioni	real-time PCR (REP + ABC)	Valutazione globale e rapporto
Controllo delle carni: valutazione dei polmoni			
Non sospetto	Nessun prelievo di campioni		Risultato negativo, nessuna notifica all'ufficio cantonale di veterinaria (UCV)
< 10% alterazioni polmonari con sospetto di PE	Nessun prelievo		Risultato sospetto, notifica di sospetto all'UCV
≥10% alterazioni polmonari con sospetto di PE	Inviare 3 mezzi polmoni al laboratorio riconosciuto		Risultato sospetto, notifica di sospetto all'UCV
Laboratorio accreditato: esame patologico macroscopico			
Le alterazioni non indicano una PE	Nessun prelievo		Risultato negativo, rapporto da inviare all'UCV
Le alterazioni indicano una PE	Prelievo di campioni da ogni polmone inviato	Tutti i campioni negativi	Risultato negativo, rapporto da inviare all'UCV
		≥1 campione positivo	Risultato positivo, rapporto da inviare all'UCV
Veterinario di controllo: esame clinico dell'effettivo di suini			
Nessuna sintomo di PE	Nessun prelievo di campione		Risultato negativo, nessuna notifica all'UCV
Più animali presentano tosse evidente, notifica di sospetto all'UCV	Prelievo di campioni previo accordo con l'UCV: secrezioni nasali di 10 suini con sintomi di sospetto clinico	Tutti i campioni negativi	Risultato negativo, rapporto da inviare all'UCV
		≥1 campioni positivi	Risultato positivo, rapporto da inviare all'UCV