

**LINEA GUIDA e PROCEDURA PER IL PRELIEVO  
DEI CAMPIONI DI TRONCO ENCEFALICO**

**SORVEGLIANZA DELLE ENCEFALOPATIE  
SPONGIFORMI TRASMISSIBILI  
IN BOVINI, BUFALINI, OVINI, CAPRINI E CERVI**

# INDICE

<b>SORVEGLIANZA</b>	<b>3</b>
Sorveglianza passiva	
Sorveglianza attiva	
<b>CATEGORIE ANIMALI CAMPIONABILI IN SORVEGLIANZA</b>	<b>3</b>
<b>BSE</b>	
<b>SCRAPIE</b>	
<b>CWD</b>	
<b>PRELIEVO IN SORVEGLIANZA ATTIVA</b>	<b>5</b>
<b>PRELIEVO IN SORVEGLIANZA PASSIVA</b>	<b>5</b>
<b>PRELIEVO PER SORVEGLIANZA CWD</b>	<b>5</b>
<b>RAZIONALE DEL PRELIEVO</b>	<b>6</b>
<i>CAMPIONAMENTO: FASE PREPARATORIA</i>	<i>7</i>
<b>IDENTIFICAZIONE DELL'ANIMALE</b>	<b>7</b>
<b>MATERIALI E STRUMENTARIO PER IL PRELIEVO</b>	<b>7</b>
<i>CAMPIONAMENTO P.D.</i>	<i>10</i>
<b>MODALITÀ DI ESECUZIONE DEL PRELIEVO</b>	<b>10</b>
<b>VERBALE DI PRELIEVO</b>	<b>17</b>
<b>PULIZIA E DISINFEZIONE DEL MATERIALE NON MONOUSO UTILIZZATO PER IL PRELIEVO</b>	<b>18</b>
<i>CAMPIONAMENTO: FASE CONCLUSIVA</i>	<i>18</i>
<b>CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEL CAMPIONE</b>	<b>18</b>
<b>IDONEITÀ DEL CAMPIONE</b>	<b>18</b>
<b>INDAGINI DIAGNOSTICHE</b>	<b>19</b>
<b>ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE – TEST RAPIDI</b>	<b>19</b>
Schema n.1	<b>21</b>
CEA – CONFERME	<b>22</b>
<b>ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ – CARATTERIZZAZIONE DEI CEPPI E GENETICA DELLE TSE</b>	<b>24</b>
<b>VERIFICHE SUGLI ANIMALI MORTI</b>	<b>24</b>
<b>RESPONSABILITÀ</b>	<b>24</b>
<b>LEGENDA</b>	<b>25</b>
<b>NORMATIVA DI RIFERIMENTO</b>	<b>27</b>
<b>ALLEGATI</b>	<b>28</b>

## PROCEDURA PER IL PRELIEVO DEI CAMPIONI

### SORVEGLIANZA

L'attività di sorveglianza delle encefalopatie spongiformi trasmissibili (EST) prevista dal Regolamento (CE) 999/2001 s.m.i. consiste nel controllo *post mortem* di segmenti della popolazione bovina, bufalina, ovina, caprina nonché di altri ruminanti. L'attività di controllo è modulata in base all'età, a specifiche caratteristiche cliniche e all'appartenenza dell'animale alle cosiddette "categorie di rischio" che influiscono sulla probabilità di riscontro della malattia.

L'attività di sorveglianza è di due tipi:

- a) **Sorveglianza passiva:** controllo su animali segnalati come sospetti cioè su soggetti di qualsiasi età che presentano sintomi neurologici riconducibili ad una EST o disturbi neurologici o comportamentali o un deterioramento progressivo delle condizioni generali, legati ad un deficit del sistema nervoso centrale e per il quale le informazioni raccolte sulla base dell'esame clinico, della risposta ai trattamenti o di un esame di laboratorio non permettono di stabilire una diagnosi alternativa alle EST;
- b) **Sorveglianza attiva:** controllo su animali non segnalati come sospetti ma inseriti in campagne di screening che prevedono l'uso di test rapidi su bovini, bufalini, ovini, caprini e altri ruminanti appartenenti a differenti categorie di rischio, secondo le definizioni dell'allegato III del Reg. (CE) 999/2001 s.m.i., Decisioni UE e/o nazionali.

### CATEGORIE ANIMALI CAMPIONABILI IN SORVEGLIANZA

§ I Sono eseguibili i test rapidi a partire da campioni relativi ai capi soggetti a **sorveglianza attiva**, nel dettaglio:

#### **BSE**

- A) bovini e bufalini nati negli Stati Membri elencati nell'Allegato della Decisione della Commissione 2009/719/UE e s.m.i. (Dec. 2013/76/UE, Nota Ministero della Salute 11885 del 12/06/2013) di età superiore o uguale a quella prevista da normativa nazionale e comunitaria vigente (ora 48 mesi) soggetti:
- alla **macellazione d'urgenza** o che,
  - presentano segni di incidenti, gravi problemi fisiologici e funzionali ad un esame *ante mortem* (**macellazione differita**), quali descritti nell'allegato III, capitolo A, parte I, punto 2.1, del regolamento (CE) n. 999/2001 e gli animali con segni clinici o sospetti di malattie trasmissibili all'uomo o agli altri animali (sono esclusi gli animali abbattuti nelle campagne di eradicazione),
  - **morti** oppure **abbattuti** come descritti nell'allegato III, capitolo A, parte I, punto 3.1, del regolamento (CE), n. 999/2001;

B) bovini e bufalini nati negli Stati Membri non elencati nell'Allegato della Decisione della Commissione 2009/719/UE e s.m.i. (Dec. 2013/76/UE, Nota Ministero della Salute 11885 del 12/06/2013):

- **morti, macellati d'urgenza, macellati in differita (categorie a rischio)** di età superiore o uguale a quella prevista da normativa comunitaria vigente (ora 24 mesi) quali descritti nell'allegato III, capitolo A, parte I, punti 2.1 e 3.1 del reg. (CE) n. 999/2001;
- **regolarmente macellati** di età superiore o uguale a quella prevista da normativa comunitaria vigente (ora 30 mesi) quali descritti nell'allegato III, capitolo A, parte I, punto 2.2 del regolamento (CE) n. 999/2001.

### SCRAPIE

- A) Ovini e caprini **regolarmente macellati per il consumo umano** di età superiore o uguale a quella prevista da normativa nazionale e comunitaria vigente (ora 18 mesi) quali descritti nell'allegato III, capitolo A, parte II, punto 2 del regolamento (CE) n. 999/2001;
- B) ovini e caprini trovati **morti o abbattuti per motivo diverso da TSE** di età superiore o uguale a quella prevista da normativa nazionale e comunitaria vigente (ora 18 mesi) quali descritti nell'allegato III, capitolo A, parte II, punto 3 del regolamento (CE) n. 999/2001;
- C) ovini e caprini di età superiore o uguale a quella prevista da normativa nazionale e comunitaria vigente (ora 18 mesi) **abbattuti per essere distrutti o macellati o morti** in conformità alle disposizioni di cui all'allegato VII del regolamento (CE) n. 999/2001.

### CWD

L'attività di campionamento<sup>(1)</sup> è indirizzata alla sola specie cervo (*Cervus elaphus*) presente sul territorio nazionale, e in particolare, sui capi di età uguale o superiore ai 18 mesi della categoria considerata a rischio per TSE: i **morti**<sup>(1)</sup>.

La sorveglianza della CWD deve fare riferimento al verbale di prelievo/scheda accompagnamento-conferimento campione in cui è da inserire/selezionare il riferimento alla categoria e matrice prelevata/conferita (*si veda prelievo per sorveglianza CWD*).

§ II Sono eseguibili i test rapidi a partire da campioni relativi ai capi soggetti a **sorveglianza passiva**, nel dettaglio:

### BSE SCRAPIE CWD

- **Bovini, Bufalini, Ovini, Caprini, Cervi (*Cervus elaphus*) di qualsiasi età:** abbattuti a seguito di sintomatologia nervosa riconducibile a una TSE, dovranno essere sottoposti ai test diagnostici a livello del tronco-encefalico (obex) per confermare o meno il sospetto clinico (*si veda "Prelievo in sorveglianza passiva"*).

## PRELIEVO IN SORVEGLIANZA ATTIVA

Consiste nel prelievo del tronco encefalico o della testa intera dell'animale da parte del Veterinario dell'ASL o suo delegato di cui al Reg. (UE) 625/2017.

- Prelievo del tronco encefalico: la testa e la carcassa del capo campionato dovranno essere gestiti in accordo alle disposizioni dei Regolamenti (CE) 999/2001 e (UE) 1069/2009 ed eventuali modalità operative/gestionali stabilite dai Servizi Veterinari Regionali/P.A. e/o delle Aziende Sanitarie territoriali in linea con le presenti e altre indicazioni/circolari dell'A.C. nazionale;
- Prelievo della testa intera: potrà essere consentito il prelievo della testa intera, se esistente procedura operativa stabilita dal Servizio Veterinario Regionale/P.A. che, previo accordo o delega, include, rispettivamente l'IZS o altro operatore autorizzato per l'estrazione del tronco encefalico. La carcassa del capo campionato dovrà essere gestita come per il prelievo di cui al punto precedente.

## PRELIEVO IN SORVEGLIANZA PASSIVA

In presenza di sospetto clinico di TSE, il Veterinario dell'ASL o suo delegato di cui al Reg. (UE) 625/2017, preleva ed invia l'intero encefalo o, in alternativa, la testa intera dell'animale all'IZS per la successiva trasmissione del campione al CEA. Presso il CEA, i campioni prelevati in *sorveglianza passiva* (per BSE scrapie CWD) non verranno sottoposti a test rapido, ma saggiati direttamente con i test di conferma.

## PRELIEVO PER SORVEGLIANZA CWD

Consiste nel prelievo per la diagnosi di CWD <sup>(1)</sup> 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 <sup>(1)</sup> **non devono essere più considerati:**

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

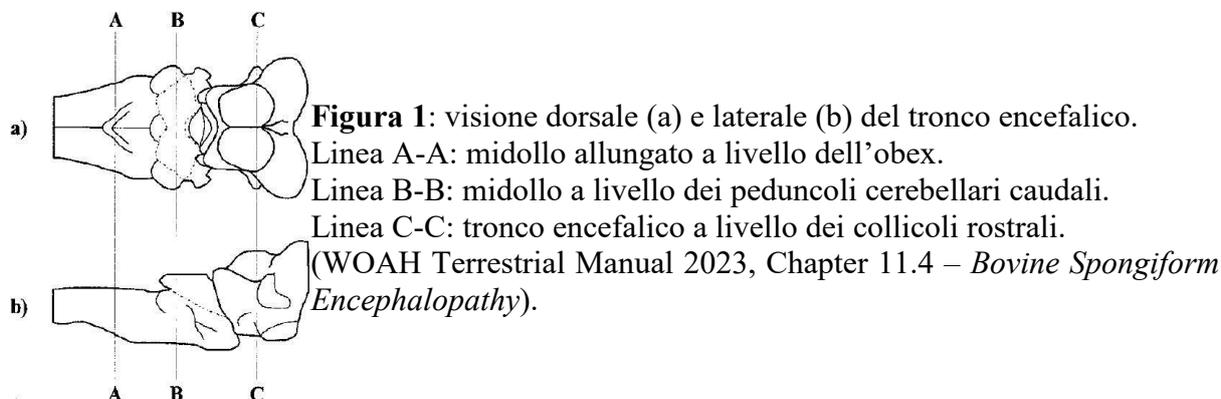
I campioni prelevati da parte del Veterinario dell'ASL o suo delegato di cui al Reg. (UE) 625/2017 saranno conferiti all'IZS e quindi inoltrati al CEA per l'esecuzione del test diagnostico rapido/di conferma e le prove di genotipizzazione del caso eventualmente confermato.

Ove possibile potranno essere campionati altresì ulteriori organi e tessuti (ad esempio encefalo e tonsille).

<sup>(1)</sup>Nota: Nota-Ministero della Salute n. 0024007-19/10/2016-DGSAF-MDS-P: è abrogato il riferimento categorie campionabili e le altre specie di Cervidi  
Rif: EFSA Opinion "Monitoring of chronic wasting disease (CWD) (IV)" 2023.

## RAZIONALE DEL PRELIEVO

Per l'esecuzione dei test rapidi per la diagnosi di TSE è previsto il prelievo del **tronco encefalico** contenente l'**obex**. L'obex è la porzione più aborale del tronco encefalico (figura 1) dove si trovano i nuclei indicati come prima sede di accumulo della proteina prionica patologica (PrP<sup>Sc</sup>) a livello del Sistema Nervoso Centrale (SNC).



Per garantire l'esito del test diagnostico è indispensabile effettuare il prelievo di tessuto nervoso con le corrette modalità operative per assicurare la presenza dell'appropriata porzione di tronco encefalico (si veda "Modalità di esecuzione del prelievo") nonché uno stato di conservazione del campione ottimale. Il prelievo, quindi, deve essere eseguito prima possibile (soprattutto in caso di elevate temperature ambientali) dopo il decesso dell'animale, al fine di prevenire fenomeni di autolisi del tessuto nervoso.

In caso di prelievo del tronco encefalico in stabilimento/azienda, il campionamento in oggetto deve essere effettuato nell'area di deposito dei capi morti, prima del loro conferimento finale ad un impianto autorizzato ai sensi del Reg. (CE) 1069/2009.

In caso di prelievo eseguito al macello, il campionamento deve essere effettuato dopo distacco della testa e in un'area dedicata dello stabilimento, garantendo la correlazione e tracciabilità della stessa alla carcassa da cui è stata estratta.

Per i cervi si aggiunge – a quello del tronco encefalico – il prelievo dei **linfonodi retrofaringei mediali**. Questo si rende necessario per aumentare soprattutto la precocità della diagnosi; è dimostrato che, a seguito di esposizione orale dell'animale all'agente della CWD, la PrP<sup>Sc</sup> risulta rilevabile dapprima a livello linfonodale (settimane) e dopo un lasso di tempo variabile nell'obex (mesi), con le dovute differenze sia di specie sia di genotipo *PRNP*.

## CAMPIONAMENTO: FASE PREPARATORIA

### IDENTIFICAZIONE DELL'ANIMALE

Al fine di sottoporre a campionamento animali appartenenti alle categorie previste dalla normativa di riferimento (si veda “Categorie animali campionabili in sorveglianza”), il Veterinario dovrà identificare correttamente il capo attraverso la verifica:

- della presenza dei sistemi di identificazione individuale dell'animale. Importante è la rilevazione del codice identificativo presente sulle marche auricolari (/bolo endoruminale) e altro identificativo laddove e quando previsto;
- della corretta registrazione dell'animale in BDN;
- dell'età dell'animale da BDN e, laddove presente, dal passaporto (bovini/bufalini).

Nessun capo morto appartenente alle categorie da sottoporre obbligatoriamente a campionamento, in conformità alla normativa di riferimento per le TSE, dovrà essere movimentato prima del prelievo del tronco encefalico o della testa.

In caso di mancanza di sistemi di identificazione, il Veterinario dovrà procedere alla valutazione dell'età presunta del capo mediante l'ispezione della dentizione (rilevazione di almeno 2 incisivi permanenti già spuntati negli ovini e caprini).

Presso lo stabilimento di macellazione, le carcasse degli animali testati – adeguatamente identificate – vengono poste in un'area della cella frigo che indichi che trattasi di *sospetti in attesa dell'esito del test*, avendo cura di mantenere la tracciabilità di ogni carcassa (nonché di tutti i contenitori, attrezzature, ganciere entrate a contatto con le parti ricavate dal capo).

---

### MATERIALI E STRUMENTARIO PER IL PRELIEVO

Il prelievo deve essere effettuato con:

- **materiale monouso:**
  - un apposito cucchiaio per il prelievo del tronco encefalico (diverso secondo la specie a cui appartiene il capo da campionare) (figura 2);
  - pinze;
  - guanti in nitrile o equivalenti;
  - bisturi (se del caso);
  - un contenitore rigido di materiale plastico – di dimensioni idonee all'inserimento agevole del campione – provvisto di tappo a vite a tenuta stagna per la conservazione del tronco encefalico (involucro primario – figura 3) che eviti riversamento di fluido organico
  - un secondo contenitore con caratteristiche di inviolabilità (*intrinseche* od *estrinseche* – antimanomissione, adozione di sigillature, piombini, etc. – involucro secondario/intermedio) per il conferimento all'IZS/ASL dell'imballaggio<sup>(2)</sup> contenente il tronco encefalico;
  - strumenti per un'ideale identificazione del campione, quali, ad esempio, etichette adesive prestampate dotate di codice a barre – *optimum* – per contrassegnare univocamente contenitore del tronco encefalico, linfonodi retrofaringei mediali (CWD) e verbale di prelievo/scheda conferimento/accompagnamento campioni;

- un ulteriore contenitore (involucro terziario) di idonee dimensioni e sufficientemente rigido da garantire protezione fisica da danneggiamenti in cui collocare l'involucro secondario; i tre involucri da impiegare sopramenzionati devono essere certificati ed omologati secondo le linee guida WHO (*Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2021-2022*);

inoltre, se necessario:

- un sacchetto trasparente per l'eventuale conservazione della testa;
  - un contenitore con caratteristiche di inviolabilità per il conferimento all'IZS/ASL del sacchetto contenente la testa;
- **altro materiale, non monouso** (figura 4)
- coltello;
  - pinze da dissezione (anatomiche o chirurgiche – se non disponibili quelle monouso, da preferire);
  - forbici (se ritenute utili);
  - guanto anti-taglio<sup>(3)</sup>.

Presso lo stabilimento di macellazione occorre impiegare, infine, provette con EDTA per il prelievo ematico (minimo 2 ml di sangue intero) nell'1% dei capi eliminati in fase di eradicazione (fino ad un massimo di 50) per l'analisi di genotipizzazione (All.VII cap. B 2.2.2.1).

**N.B.:** ai sensi del DM 25/11/2015 viene considerato “*prelievo ufficiale per la genotipizzazione*”: il prelievo di sangue per le analisi genetiche di cui al decreto effettuato da un Medico veterinario della azienda sanitaria competente per territorio. Per i soli stabilimenti/le sole aziende di elevato merito genetico viene considerato altresì ufficiale il prelievo di sangue effettuato da un Medico Veterinario o il prelievo di altri fluidi biologici o bulbi piliferi effettuato da personale tecnico appartenente alle associazioni di categoria degli allevatori all'uopo formato dagli assessorati regionali competenti.

Il Medico veterinario, ora, ai sensi del Reg. (UE) 625/2017, può essere sostituito anche da un suo delegato.

<sup>(2)</sup>Nota: l'involucro secondario può contenere più di un involucro primario.

<sup>(3)</sup>Nota: il guanto anti-taglio va indossato sulla mano libera (con cui non si opera con strumenti taglienti e/o pungenti) fra due guanti monouso.



**Figura 2:** esempio di cucchiaini monouso per il prelievo di tessuto nervoso.



**Figura 3:** esempi di contenitori per il tronco encefalico e la porzione cerebellare da campionare: contenitori idonei (immagini di sinistra) per materiale costitutivo, forma e dimensione, e contenitori inadatti (sulla destra), da non utilizzare per il conferimento del campione all'ASL/IZS.



**Figura 4:** altro materiale (non monouso – da pulire e disinfettare) utilizzabile per il prelievo.

È fondamentale che il campione prelevato risulti integro, inviolabile ed identificabile. Evitare di riporre il campione/matrice direttamente in sacchetti di plastica/contenitori “di fortuna”.

Per prevenire ogni **contaminazione crociata**, al termine dell'esecuzione del prelievo e comunque prima di procedere al successivo, il Medico veterinario o suo delegato deve pulire e disinfettare gli strumenti (*non monouso*) utilizzati, come ad esempio il coltello, le forbici, le pinze e il guanto anti-taglio (si veda “Pulizia e disinfezione del materiale non monouso utilizzato per il prelievo”).

**Non sono ammessi:** provette *per sierologia*, buste/sacchetti o simili, contenitori in vetro o altro materiale o strumentario non autorizzato allo scopo di cui trattasi; contenitori privi di matrice (si veda “Idoneità del campione”).

## CAMPIONAMENTO P.D.

### Sicurezza del prelevatore

Il Medico veterinario o suo delegato, durante l'esecuzione del prelievo deve operare in sicurezza rispettando le indicazioni di cui al D.lgs. 81/2008 come modificato dal D.L. 9/11/2020 n. 149 e comunque quelle equivalenti eventualmente fornite dall'ASL di appartenenza.

### MODALITÀ DI ESECUZIONE DEL PRELIEVO

- 1) Indossare i **dispositivi di protezione individuale** (si veda “Sicurezza del prelevatore”);
- 2) Verificare/procedere l'/all'identificazione dell'animale (si veda “Identificazione dell'animale”);
- 3) Eseguire un taglio trasversale, con un coltello od un bisturi affilato, a livello della nuca, caudalmente ai padiglioni auricolari (figura 5 e fig. 5bis);
- 4) Disarticolare la testa, evitando di staccarla completamente dal collo nei bovini/bufalini (Figg. 5, 8, 10).

Negli ovini e nei caprini procedere al distacco completo della testa a livello dell'articolazione occipito-atlantoidea attraverso la recisione dei nervi cranici mediante l'utilizzo di forbici. Provvedere a riporre la stessa testa con la superficie di taglio verso l'alto in modo da visualizzare il forame magnum (Figg. 5bis e 6bis);

- 5) Con la superficie di taglio della testa in alto e con l'estremità caudale del tronco cerebrale (midollo allungato) visibile dal *foramen magnum* (Figg. 6 e 6bis), inserire completamente nel forame la parte “tagliante” dell'apposito cucchiaio monouso nello spazio fra le meningi ed il midollo, con la parte convessa posta prima dorsalmente e poi ventralmente o viceversa (figura 7). Scollare ulteriormente il tessuto nervoso recidendo – mediante le forbici – l'emergenza dei nervi cranici sul lato destro e sinistro del tronco encefalico, avendo cura di tenere in tensione le meningi con le pinze onde evitare di danneggiare l'oggetto del prelievo.
  - Nei **bovini/bufalini** e nei **cervi**: è possibile procedere alla recisione dei nervi a mezzo del cucchiaio monouso per il prelievo stesso; a tal fine inserire il cucchiaio, con un approccio indifferentemente dorsale o ventrale, nello spazio fra midollo e meningi e ruotare lateralmente lo strumento da ambo i lati. (È comunque consigliato l'impiego delle forbici per garantire l'integrità del campione). Senza estrarre il cucchiaio, effettuare una pressione al fine di farlo penetrare per circa 7 cm verso la porzione rostrale della testa per poter recidere ed allontanare il tronco encefalico dall'encefalo (figura 8).
  - Negli **ovini** e **caprini**: una volta privati di continuità i nervi cranici, procedere all'inserimento completo dell'apposito cucchiaio nel *foramen magnum* nello spazio fra le meningi ed il midollo, con la parte convessa posta ventralmente; effettuare una leggera pressione per far penetrare il cucchiaio verso la porzione rostrale della testa al fine di recidere e allontanare il tronco encefalico dall'encefalo (Figure **I e II 7 bis**)
- 6) Estrarre il cucchiaio mantenendo la pressione della parte convessa
  - nei **bovini/bufalini** e nei **cervi** verso l'alto o il basso, a seconda dell'approccio utilizzato, così da recuperare il campione di tessuto nervoso (eventualmente servendosi dell'ausilio delle pinze per afferrare il tronco encefalico e favorirne la fuoriuscita) (figura 9);
  - negli **ovini** e **caprini** effettuare una leggera pressione verso il basso per estrarre *il cucchiaio*, campionando il tronco encefalico e contestualmente una porzione di

**cervelletto** (aiutandosi anche in questo caso con le pinze ove necessario) (**Fig. II 7 bis e Fig.8 bis**);

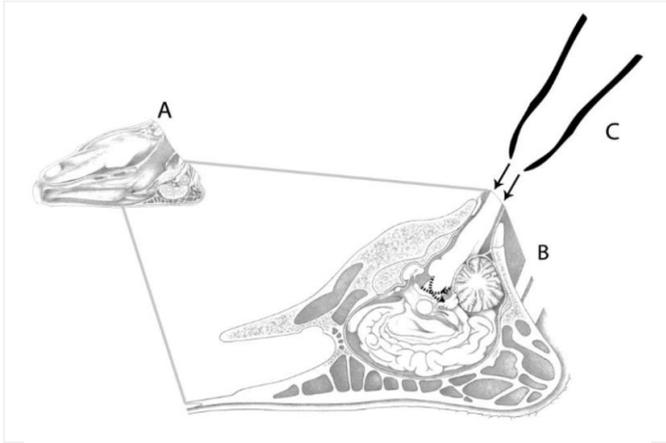
- 7) Collocare il materiale prelevato all'interno del contenitore rigido a tenuta stagna (involucro primario), avendo cura di non sporcare esternamente quest'ultimo, quindi chiudere il contenitore con l'apposito tappo fino a completa chiusura;
- 8) Identificare univocamente il contenitore parallelamente al suo asse maggiore (e non perpendicolarmente), in modo da consentire la lettura automatica del codice a barre in laboratorio (*optimum* – figura 10) o apporre un'etichetta descrittiva del contenuto o recante un riferimento alfanumerico con rimando a specifica documentazione (recante un'esauriva descrizione del contenuto);
- 9) Sigillare il/i contenitore/i di cui al punto precedente in un involucro antimanomissione, o comunque con caratteristiche di inviolabilità (involucro secondario/intermedio), identificandone correttamente ed univocamente il contenuto;
- 10) Porre il contenitore di cui al punto precedente in un involucro che fornisca protezione fisica da danneggiamenti (involucro esterno/terziario – contenitore sufficientemente rigido di idonee dimensioni); anche quest'ultimo necessita di essere correttamente identificato nonché vincolato a specifica documentazione d'accompagnamento (si veda "Verbale di prelievo").



**Figura 5:** punto in cui praticare il taglio parziale della testa nel bovino.



**Figura 6:** corretto punto di ingresso *foramen magnum* per l'esecuzione del prelievo.



**Figura 7:** illustrazione raffigurante le modalità di prelievo del tronco encefalico (WOAH Terrestrial Manual 2023, Chapter 11.4 *Bovine Spongiform Encephalopathy*).



**Figura 8:** recisione dei nervi cranici.



**Figura 9:** estrazione del campione di tessuto nervoso.



**Figura 10:** campione nel contenitore rigido, di forma e dimensioni idonee e correttamente/univocamente identificato.

## Ovini e caprini



**Figura 5 bis**

Taglio trasversale a livello della nuca  
Disarticolazione della testa, a livello dell'articolazione occipito-atlantoidea  
Distacco completo dal collo



**Figura 6 bis** Testa appoggiata con la superficie di taglio verso l'alto e con l'estremità caudale del tronco cerebrale (midollo allungato) visibile dal *foramen magnum*: punto d'ingresso per il prelievo del midollo allungato



**Figura I 7 bis** Punto d'inserimento del cucchiaio monouso nel *foramen magnum*.



**Figura II 7 bis** Illustrazione per il corretto inserimento del cucchiaio con la parte convessa posta ventralmente al fine di inserirlo, con una leggera pressione, nello spazio tra meningi e midollo.



**Figura 8 bis** Estrazione del cucchiaio esercitando una leggera pressione verso il basso per estrarre midollo allungato e una porzione di cervelletto

Per la specie cervo (*Cervus elaphus*) risulta altresì necessario il prelievo dei linfonodi retrofaringei mediali.

A tal fine procedere come riportato di seguito:

- I. Con la testa del cervo come precedentemente posizionata per il prelievo del tronco encefalico (punto 5) individuare il *foramen magnum* (a ore 6) e la laringe/trachea (a seconda del taglio effettuato) o l'esofago (a ore 12); i linfonodi retrofaringei mediali si troveranno così all'incirca (a ore 10 e a ore 2) a metà distanza tra le sopracitate strutture (scopo di esempio figura 11: non più specie target);
- II. Scollare con il bisturi o le forbici la muscolatura dai sottostanti tessuti (a scopo di esempio figura 12: non più specie target); nella "tasca" così creata si potranno apprezzare e/o palpare i linfonodi (a scopo di esempio figure 13 A e 13 B non più specie target);
- III. Asportare i linfonodi esercitando una delicata trazione con le pinze e tagliando contestualmente i tessuti circostanti.
- IV. Includere il campione nel contenitore di cui al precedente punto 7 (assieme al tronco encefalico).

N.B.: qualora si tagliassero/lesionassero i linfonodi, questi devono essere comunque campionati (almeno in numero di uno per capo – assieme ad almeno il tronco encefalico).

I linfonodi vanno distinti da altri organi e tessuti adiacenti (questi ultimi virtualmente inutili per la diagnosi di CWD), come ad esempio le ghiandole salivari e la tiroide. I linfonodi retrofaringei mediali – oltre che per la sede anatomica – sono riconoscibili per la forma generalmente ovalare (che risulta mantenuta nonostante le manipolazioni) (figura 14) e meno costantemente per dimensione (variabile in funzione della specie, dell'individuo e dello stato fisio-patologico) e per colore. È quindi sempre consigliabile la palpazione dell'area citata in precedenza e in particolare qualora risultasse difficoltoso individuare gli organi con la sola ispezione visiva.



**Figura 11:** Esempio di posizionamento per il prelievo del tronco encefalico e dei linfonodi retrofaringei mediali.

Testa di capriolo – *Capreolus capreolus*



**Figura 12:** Punto dove effettuare lo scollamento dei tessuti in cui ricercare i linfonodi. Nella foto, a scopo di esempio, si fa riferimento ad un linfonodo retrofaringeo mediale di testa di un capriolo – *Capreolus capreolus*



**Figura 13 A**

**Figura 13 B**

Modalità di progressivo scollamento dei tessuti per la ricerca dei linfonodi tramite ispezione e palpazione. Foto di testa di capriolo da utilizzare a scopo di esempio.



**Figura 14:** linfonodo retrofaringeo mediale isolato. Testa di capriolo da utilizzare a scopo di esempio.

### **Errori nel prelievo:**

- ❑ Regione dell'obex incompleta, troppo corta;
- ❑ Scarso quantitativo di tessuto/matrice;
- ❑ Obex tagliato/danneggiato;
- ❑ Tronco encefalico e cervelletto non riconoscibili;
- ❑ Assenza del cervelletto (essenziale per la diagnosi di **Scrapie atipica**);
- ❑ Linfonodi retrofaringei mediali assenti, incompleti o danneggiati (**CWD**).

**N.B.:** in caso di campione/matrice in stato di colliquazione, autolisi o qualsiasi altro stato di degenerazione effettuare comunque il prelievo riportando tutta la matrice recuperabile. (Si veda "Idoneità del campione").

## VERBALE DI PRELIEVO

Il campione deve essere conferito all'IZS/ASL di competenza accompagnato dal "Verbale di prelievo/Scheda conferimento/accompagnamento campioni per BSE/SCRAPIE/CWD" disponibili online in BDN e forniti in allegato alle presenti Linee Guida (si veda "Allegati").

Il verbale di prelievo deve essere correttamente identificato, corrispondentemente ai *sacchetti contenitori* contenenti i diversi campioni, e registrato in BDN.

Il conferimento del campione all'IZS/ASL e del relativo verbale di prelievo, in conformità a quanto stabilito nella presente procedura (si veda "Modalità di conservazione e di trasporto del campione") deve essere effettuato dal Veterinario.

Nel caso in cui non sia possibile effettuare il prelievo del tronco encefalico per irraggiungibilità del capo morto collocato "(...) *in zone alle quali è praticamente impossibile accedere o alle quali è possibile accedere solo in condizioni, per motivi geografici o climatici o a causa di catastrofi naturali, che possono presentare rischi per la salute e la sicurezza del personale addetto alla raccolta o alle quali è possibile accedere solo impiegando mezzi di raccolta sproporzionati*", come da fattispecie prevista nel Regolamento UE n. 1069 del 2009 all'articolo 19 comma 1 lettera c), il Medico veterinario dovrà compilare l'apposito verbale, disponibile online in BDN ("*Verbale per mancato prelievo*").

La scheda di verbalizzazione del *mancato prelievo* non deve essere inviata all'IZS competente per territorio ma dovrà essere *caricata* esclusivamente sul sistema *vet.info* avendo cura di inserire tutti i dati nei campi obbligatori previa verifica degli stessi prima dell'upload.

Accedendo agli applicativi dell'anagrafe sia ovini, caprini che bovini e bufalini, al menù *Controlli - Sorveglianza TSE* è possibile selezionare il *Verbale/Scheda* d'interesse (*scheda campioni BSE per bovini o bufalini, scheda campioni Scrapie per ovicaprini, **Verbale mancato prelievo***) riportandone i dati, che in alcuni casi saranno già preventivamente caricati dal sistema, e registrandoli utilizzando il pulsante *Stampa scheda*.

Tale operazione resta tracciata e quindi a tutti gli effetti risulteranno *registrati* i dati dei capi dei quali non è stato possibile svolgere il prelievo.

N.B. l'IZS non deve registrare eventuali *verbali/schede per "mancato prelievo"* pervenuti in *modalità cartacea*.

## **PULIZIA E DISINFEZIONE DEL MATERIALE NON MONOUSO UTILIZZATO PER IL PRELIEVO**

Per prevenire ogni contaminazione crociata, al termine di ogni prelievo e comunque prima di procedere al successivo, lo strumentario non monouso utilizzato dovrà essere trattato in conformità alle indicazioni del Ministero della Salute:

- pulire lo strumentario con carta assorbente monouso, verificando di rimuovere ogni residuo di tessuto;
  - sciacquare con abbondante candeggina del commercio, non diluita;
  - sciacquare in acqua di fonte.
- 

### ***CAMPIONAMENTO: FASE CONCLUSIVA***

## **CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEL CAMPIONE**

Il campione deve essere trasportato all'IZS/ASL nel più breve tempo possibile, mantenendolo in condizioni di refrigerazione.

**Il campione NON deve essere congelato.** (Si veda “Idoneità del campione”).

N.B.: in particolari circostanze (ad esempio in caso di trasporto del campione per lunghe distanze) può essere autorizzato il congelamento di una metà del campione (tronco encefalico, obex compreso) e la fissazione in formalina al 10% della porzione controlaterale.

## **IDONEITÀ DEL CAMPIONE**

Il campione viene ritenuto idoneo quando

- è presente la matrice: tronco encefalico/obex di bovino, bufalino, ovino, caprino, cervo e per quest'ultimo anche i linfonodi retrofaringei mediali (almeno in numero di uno) (si veda “Modalità di esecuzione del prelievo”);
  - la matrice prelevata proviene dalle specie e dalle categorie di animali da sottoporre a campionamento secondo normativa vigente (si veda “Categorie animali campionabili in sorveglianza”);
  - è utilizzato il contenitore idoneo: contenitore in dotazione di plastica con tappo a vite a tenuta stagna (non ammessi: provette *per sierologia*, buste/sacchetti o simili, contenitori in vetro) (si veda “Materiali e strumentario per il prelievo”);
  - il campione è correttamente identificato: è riportato sul contenitore e sulla scheda di accompagnamento campione l'identificativo completo del capo (ID) (si vedano “Modalità di esecuzione del prelievo” e “Verbale di prelievo”);
  - l'identificativo dell'animale corrisponde al codice univoco dell'animale atto a garantirne la tracciabilità;
  - è utilizzata la scheda accompagnamento campione/verbale di prelievo vigente ed è compilata correttamente in tutte le sue parti (si veda “Verbale di prelievo”);
  - il campione è correttamente conservato e idoneamente spedito (si veda “Conservazione e trasporto del campione”).
-

## INDAGINI DIAGNOSTICHE

Il **campione idoneamente prelevato** (si veda “Idoneità del campione”) viene conferito conformemente alle presenti Linee Guida all’IZS per test rapido di screening o per l’invio diretto al CEA. I campioni confermati dal CEA sono inviati all’ISS per la caratterizzazione molecolare mediante test discriminativo e la genotipizzazione.

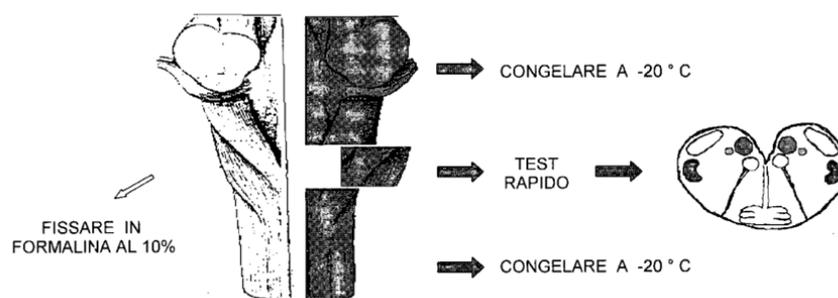
## ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE – TEST RAPIDI

L’IZS competente per territorio, responsabile della verifica preliminare di idoneità (si veda schema 1) provvede all’esame del campione pervenuto dall’azienda sanitaria territorialmente competente o al prelievo del campione per l’esecuzione del test rapido. Prima di procedere al campionamento, il tronco encefalico deve essere suddiviso lungo il rafe mediano in due porzioni al fine di fissare una metà della matrice in formalina al 10% e la restante parte sottoporla alla temperatura di congelazione a  $-20^{\circ}\text{C}$ . La porzione non utilizzata per il test rapido, potrà eventualmente essere impiegata in seguito per gli eventuali test di conferma. Il campionamento per il test rapido deve essere eseguito a livello dell’obex, utilizzando rigorosamente materiale monouso rinnovato per ciascun campione (bisturi, pinze e supporto) e prestando attenzione alla conservazione dei nuclei target (fig. 15 A).

In caso di iniziale reattività il test deve essere ripetuto in doppio a partire dall’omogenato, senza procedere ad un secondo campionamento.

In caso di positività anche ad una sola delle due repliche, inviare al CEA l’omogenato rimanente, il tronco encefalico, parte del cervelletto (fig. 1B) e l’encefalo (fig. 1C) se presente, secondo le procedure tecniche di seguito riportate:

**Figura 15 A**



**Figura 15 B**

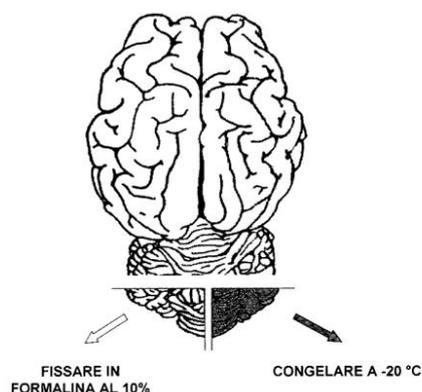
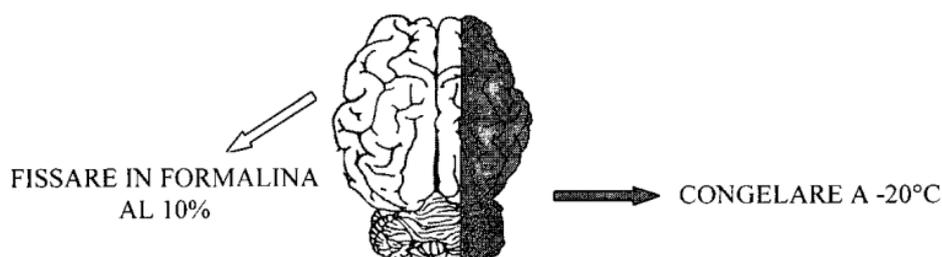


Figura 15 C



- (1) I campioni sono eseguibili se rientrano sotto la voce “*Effettuare il test rapido*” di cui allo schema n. 1.
- (2) I campioni eseguibili devono essere definiti come “**non valutabili**” qualora l’obex sia mancante o non identificabile. In particolare devono essere distinti nel rapporto di prova:
  - campioni **Non valutabili per obex non identificabile**, qualora il prelievo non sia stato eseguito correttamente;
  - campioni **Non valutabili per autolisi**, qualora il cattivo stato di conservazione del campione non consenta il riconoscimento dell’obex.
- (3) Devono essere considerati “**non eseguibili**” i campioni sottoposti ad accettazione:
  - a. non rientranti nei parametri di cui ai punti precedenti;
  - b. fuori dal campo di applicazione del metodo per assenza di tessuto nervoso;
  - c. sottoposti ad accettazione ma non pervenuti in laboratorio (es. contenitore vuoto);
  - d. da inviare al CEA per materiale insufficiente;
  - e. da inviare al CEA perché **completamente** fissati in formalina;
  - f. privi dell’ID univoco dell’animale;
  - g. fuori dal campo di applicazione rispetto alle categorie previste dalla normativa di riferimento o dal piano di campionamento.

Relativamente alla trasmissione mensile dei dati della sorveglianza attiva al BEAR tramite *webupload*, le codifiche riguardanti il campo “esito della prova” del flusso dati e riportate nel tracciato record disponibile all’url: <http://webupload.izsto.it/upload/>, prevedono:

- A:** Non valutabile per autolisi;
- B:** Non valutabile per obex non identificabile;
- N:** Negativo;
- P:** Positivo.

N.B.: relativamente alla trasmissione mensile dei dati della sorveglianza attiva al BEAR tramite *webupload*, qualora un campione di tessuto nervoso proveniente da animali non soggetti a sorveglianza attiva (inclusi i capi sotto età diagnostica in caso di sospetto) venisse comunque sottoposto a test rapido, allora si inserisca il codice A, B, N, P a seconda del risultato analitico ottenuto, nel campo “*Esito della prova*” del flusso dati *webupload*.

Schema n. 1

Descrizione del campione		IIZZSS: Come agire	Cosa riportare nel campo " <i>Esito</i> " del rapporto di prova del test rapido	Cosa inserire nel campo " <i>Esito della prova</i> " del flusso dati webupload ( <a href="http://webupload.izsto.it/upload/">http://webupload.izsto.it/upload/</a> )
Tessuto nervoso proveniente da animale soggetto a sorveglianza attiva	Obex riconoscibile	Effettuare il test rapido	<b>Positivo</b> <b>Negativo</b>	P N
	Obex non identificabile per prelievo non eseguito correttamente	Effettuare il test rapido	In caso di esito negativo, riportare: <b>Non valutabile per obex non identificabile</b>  * 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: <b>Non valutabile per autolisi</b>  * 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: <b>Positivo</b>	P
	Tessuto nervoso assente	<b>NON</b> effettuare il test rapido ma produrre il RdP	<b>Non eseguibile</b>  * 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)	<b>NON</b> effettuare il test rapido ma inviare il campione al CEA	<b>Non eseguibile</b>  *Materiale insufficiente	

	Completamente fissato in formalina	<b>NON</b> effettuare il test rapido ma inviare il campione al CEA	<b>Non eseguibile</b>  *Fissato in formalina
	Non pervenuto in laboratorio	<b>NON</b> effettuare il test rapido ma produrre il RdP	<b>Non eseguibile</b>  *Campione non pervenuto
Tessuto nervoso proveniente da animali <b>NON</b> soggetti a sorveglianza attiva	Sotto età diagnostica	<b>NON</b> effettuare il test rapido	<b>Non eseguibile</b>  * Fuori dal campo di applicazione del piano di campionamento (sotto età diagnostica o privo dell'ID univoco)
	Privo dell'identificativo univoco dell'animale		
	Altro	<b>NON</b> effettuare il test rapido	<b>Non eseguibile</b>  * Fuori dal campo di applicazione del piano di campionamento

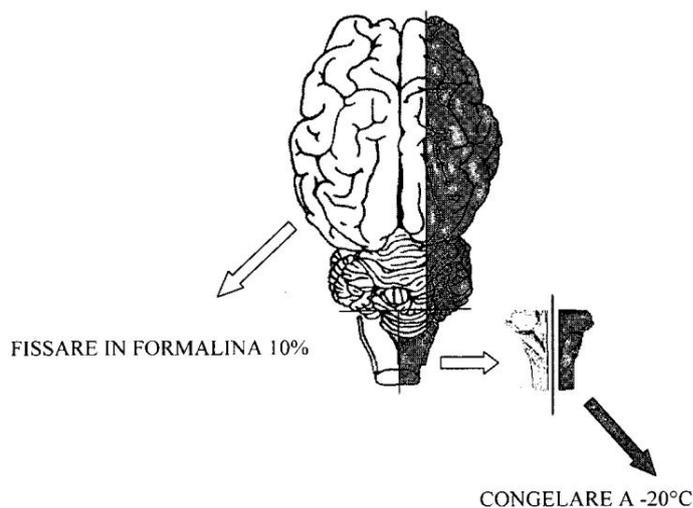
## CEA – CONFERME

Il CEA, in qualità di laboratorio di riferimento nazionale, ha il compito di accertare la presenza di una TSE ricorrendo ad almeno uno dei metodi e protocolli analitici descritti nel manuale WOH (Reg. (CE) 999/2001 – Allegato X, Capitoli A e C).

### Flusso dei campioni inviati al CEA

#### Sorveglianza passiva

In caso di sospetti clinici ufficiali di TSE, l'IZS competente deve provvedere all'invio dell'encefalo o dell'intera testa (provvista dei linfonodi retrofaringei mediali qualora si trattasse di un cervo) al CEA seguendo le procedure tecniche di campionamento riportate in figura 16.



**Figura 16:**

Suddividere l'encefalo con un taglio paramediano; la più piccola delle parti così ottenute deve essere congelata a -20 °C, l'altra deve essere fissata in formalina al 10%.

Il tronco encefalico deve essere tagliato a metà lungo il piano sagittale mediano. Anche in questo caso, metà deve essere congelata a -20 °C e metà fissata in formalina al 10%. Si raccomanda di provvedere all'invio delle aliquote congelate ed in formalina in imballaggi separati.

## 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.

I campioni diagnostici **per CWD**, invece, devono essere inviati direttamente (ed esclusivamente) al CEA.

## Indagini diagnostiche espletate dal CEA

Il CEA provvede a confermare i casi sospetti di TSE basando le indagini diagnostiche sui seguenti tre metodi analitici:

1. metodo immunoistochimico (IHC);
2. western Blot (WB);
3. esame istologico (EE).

**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.

Esame diagnostico	Esito	Descrizione esito
<b>Istologico</b> (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
<b>Immunoistochimico</b> (campione in formalina)	Positivo	Presenza di depositi di PrP <sup>Sc</sup>
	Negativo	Assenza di depositi di PrP <sup>Sc</sup>
	Non valutabile	Scarsa rappresentazione dei siti target/autolisi/congelamento
	Scrapie atipica	Presenza di depositi di PrP <sup>Sc</sup> con pattern diverso dalla scrapie classica
<b>Western Blot</b> (campione congelato)	Positivo	Presenza di tre bande di PrP <sup>Sc</sup> (30-20 kDa)
	Scrapie atipica	Presenza di bande di PrP <sup>Sc</sup> (30-12 kDa)
	Negativo	Assenza di PrP <sup>Sc</sup> a livello di obex
	Non valutabile	Assenza di obex/obex non riconoscibile
	Non eseguibile	Sospetta cross-contaminazione/campione fissato in formalina

## **ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ – CARATTERIZZAZIONE DEI CEPPI E GENETICA DELLE TSE**

Presso l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) con sede a Roma è presente il laboratorio nazionale di riferimento per la caratterizzazione dei ceppi e la genetica delle TSE animali; nell'ambito di questa attribuzione, la struttura è chiamata a svolgere diverse attività, in particolare, in caso di campione confermato positivo per TSE, vengono effettuate analisi molecolari di caratterizzazione dei ceppi e di genotipizzazione.

L'invio dei campioni previsti per questa attività è di competenza del CEA.

## **VERIFICHE SUGLI ANIMALI MORTI**

Ciascuna Regione/P.A. ha l'obbligo, ai sensi della Nota ministeriale n. 11596 del 8/10/2007 ("Sorveglianza attiva BSE – Sistema di monitoraggio tra bovini e bufalini morti testati e bovini e bufalini morti presenti nella BDN"), di confrontare i capi bovini-bufalini esaminati/testati della categoria morti con i capi della medesima categoria presenti in BDN. A questo fine, le Regioni/P.A. ricevono un report mensile a mezzo cloud (*repository*) contenente i dati riferiti ai bovini e bufalini testati di cui trattasi.

Per gli ovini e i caprini a ciascuna Regione/P.A., per il tramite dei propri servizi veterinari presenti sul territorio, procede alla verifica di denuncia dei soggetti morti sulla base della % zootecnica di decessi.

Ai sensi della nota 0005173-23/02/2023 avente per oggetto *TSE–Applicazione D.l.vo136 per le inadempienze degli operatori riguardo la comunicazione di morte all'autorità competente* è obbligatorio sanzionare ogni operatore che non notifichi entro i tempi dovuti all'AC la morte dell'animale di cui alle specie di cui trattasi nella presente guida.

## **RESPONSABILITÀ**

**La responsabilità del campionamento e sua idoneità è a carico del Medico veterinario o suo delegato.**

**La responsabilità della verifica dell'ammissibilità dell'esame diagnostico è a carico del laboratorio che esegue l'analisi del campione** sia in termini tecnico-analitici sia gestionali fermo restando gli obblighi che ricadono sul veterinario prelevatore o suo delegato ai sensi della normativa vigente e presente linea guida.

**I costi di campionamenti o di esami non ammessi/non previsti dal piano di campionamento ricadono sotto la responsabilità e competenza di chi autorizza o non esegue le attività in modo conforme.**

## LEGENDA

*TSE* o *EST*: Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili. Sono un gruppo di patologie neurologiche a carattere degenerativo caratterizzate dall'accumulo nel Sistema Nervoso centrale (SNC) dell'isoforma patologica (PrP<sup>Sc</sup>) di una proteina normalmente presente nell'organismo (PrP<sup>C</sup>).

*BSE*: Encefalopatia Spongiforme Bovina. Malattia neurologica cronica degenerativa appartenente al gruppo delle TSE.

*SCRAPIE*: malattia neurodegenerativa appartenente al gruppo delle TSE che colpisce ovini e caprini.

*CWD*: *Chronic Wasting Disease* ovvero malattia del deperimento cronico appartenente alle TSE che colpisce i cervidi.

*CATEGORIA "A RISCHIO"*:

1. *MORTI*: animali deceduti naturalmente in qualsiasi luogo o momento, senza alcun intervento esterno;
2. *MACELLATI D'URGENZA*: animali che devono essere abbattuti per lesioni traumatiche avvenute a seguito di incidenti (ad esempio in stalla o durante il trasporto) o affetti da turbe metaboliche-funzionali. Sono inclusi gli animali abbattuti, per una delle cause richiamate, all'interno del perimetro del macello, ma al di fuori della normale linea di macellazione. (Sono esclusi gli ovini e i caprini);
3. *MACELLATI IN DIFFERITA*: animali con accertati o sospetti segni clinici di malattie trasmissibili all'uomo o agli animali, o ruminanti con manifestazioni neurologiche compatibili con una TSE, macellati in giornate separate oppure al termine delle normali operazioni di macellazione, per i quali sia necessario procedere ad una ispezione *post-mortem* ai fini di una diagnosi completa. (Sono esclusi gli ovini e i caprini);
4. *ABBATTUTI PER MOTIVO DIVERSO DA TSE*: animali abbattuti per confermare un sospetto di malattia diversa da EST.

*CATEGORIA "REGOLARMENTE MACELLATI"*:

5. *MACELLATI*: animali venuti a morte a seguito di intervento esterno.

*OBEX*: porzione più aborale del tronco encefalico dove si trovano i nuclei indicati come prima sede di accumulo della PrP<sup>Sc</sup> nel SNC.

*TESTA INTERA*: testa del capo da campionare provvista di tronco encefalico.

*IZS*: Istituto Zooprofilattico Sperimentale territorialmente competente.

*CEA*: Centro di referenza nazionale per lo studio e le ricerche sulle encefalopatie animali e neuropatologie comparate – IZS di Piemonte, Liguria e Valle D'Aosta (IZSPLV), Sede di Torino.

*BEAR*: Biostatistica, Epidemiologia e Analisi del Rischio – Struttura Semplice dell'IZSPLV.

*ISS*: Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio nazionale per i test discriminativi e genetica dei casi confermati di TSE.

*ASL*: Azienda Sanitaria Locale territorialmente competente.

*REGIONE E PROVINCE AUTONOME*: Autorità competenti designate, ai sensi dell'articolo 4 del Regolamento (UE) 625/2017 – di seguito "Regioni"/"P.A.";

*BDN*: Banca Dati Nazionale.

*CAMPIONE*: matrice di organo, tessuto o altro materiale biologico necessario all'esame di laboratorio per la diagnosi e/o le analisi di genotipizzazione ai fini delle TSE.

*SCHEDA DI ACCOMPAGNAMENTO CAMPIONI / VERBALE DI PRELIEVO*: documento ufficiale che accompagna il campione, redatto dal Veterinario prelevatore dell'azienda sanitaria territorialmente competente o suo delegato – che lo timbra, sottoscrive e compila in tutte le sue parti.

*PRELIEVO*: raccolta e preparazione del campione per il conferimento all'IZS/ASL in conformità alle disposizioni della presente procedura, costituito da:

- Tronco encefalico oppure testa intera per **bovini-bufalini** e **ovini-caprini**;
  - Tronco encefalico e linfonodi retrofaringei mediali (almeno in numero di uno) oppure testa intera provvista dei linfonodi retrofaringei mediali per la specie **cervo**.
-

## NORMATIVA DI RIFERIMENTO

Ai fini delle attività disciplinate dalla presente procedura, oltre a quanto disposto nel presente documento, la normativa di riferimento è rappresentata da:

1. Normativa sui sistemi di identificazione individuale e relativi elementi ufficiali (marca auricolare, passaporto, capacità di definire l'età dell'animale):

a) **Bovini/Bufalini:**

Normativa comunitaria	Normativa nazionale
Reg. (CE) 1069/2009; Reg. (CE) 1082/2003; Reg. (CE) 1034/2010; Reg. (UE) 653/2014; Reg. (UE) 429/2016; Reg. (UE) 625/2017; Reg. delegato (UE) 2035/2019; Reg. delegato (UE) 841/2021; Reg. di esecuzione (UE) 520/2021.	DPR 317/96 e s.m.i.; D.lgs. 196/1999 e s.m.i.; DPR 437/2000 e s.m.i.; D.lgs. 58/2004; Provvedimento 26.05.2005; DM 23.01.2007; DM 16.05.2007; D.lgs. 57/2010; OM 28.05/2015 e s.m.i.; DM 28.06.2016; DM 7.12.2017; D.lgs. 27/2021; D.lgs. 32/2021. Dlgs 136/2022 Dlgs 134/2022

b) **Ovini/Capri:**

Normativa comunitaria	Normativa nazionale
Reg. (CE) 1505/2006; Reg. (UE) 429/2016; Reg. (UE) 625/2017; Reg. delegato (UE) 2035/2019; Reg. delegato (UE) 841/2021; Reg. di esecuzione (UE) 520/2021.	DPR 317/96 e s.m.i.; DPR 437/2000 e s.m.i.; D.lgs. 193/2005; Nota Dirigenziale 28.07.2005; Circolare 1763 del 30.03.2007; DM 16.05.2007; D.lgs. 57/2010; OM 28.05.2015 e s.m.i.; DM 7.12.2017; D.lgs. 27/2021; D.lgs. 32/2021; Dlgs 136/2022; Dlgs 134/2022

c) **Cervidi:**

Normativa comunitaria	Normativa nazionale
Reg. (UE) 429/2016; Reg. (UE) 625/2017; Reg. di esecuzione (UE) 520/2021.	Nota DGSA 20017-P-16/11/2011;  Nota 0025813-10/11/2016-DGSAF-MDS-P Nota 008196-30/03/2018-DGSAF-MDS-P

2. Reg. (CE) n. 999/2001 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 22 maggio 2001 recante disposizioni per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di alcune TSE e s.m.i.;
  3. Reg. (CE) n. 1069/2009 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 21 ottobre 2009 recante norme sanitarie relative ai sottoprodotti di origine animale e ai prodotti derivati non destinati al consumo umano e che abroga il regolamento (CE) n. 1774/2002 (regolamento sui prodotti di origine animale) e s.m.i.;
  4. D.M. 08/04/1999 – Norme per la profilassi della Scrapie negli allevamenti ovini e caprini;
  5. Linee guida del Ministero della Salute che includono le modalità di prelievo e istruzioni per garantirne la tracciabilità documentale e del campione prelevato (n. 20017 del 16/11/2011);
  6. Disposizioni che regolamentano le categorie e le età degli animali che hanno l'obbligo di essere sottoposte a test rapido:
    - a) D.M. 07/01/2020;
    - b) Nota Ministero della Salute n. 11885 del 12/06/2013;
    - c) Dec. 2013/76/UE;
    - d) Nota Ministero della Salute n. 17094-P-06/09/13;
    - e) Dec. 2009/719/CE e s.m.i.
  7. Sanzioni per inadempienze: nota Ministero della Salute n. 0005173-23/02/2023
  8. EFSA (European Food Safety Authority), 2023. Monitoring of chronic wasting disease (CWD) (IV). EFSA Journal Volume 21, Issue 4. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7936>;
- 

## ALLEGATI

*<sup>(4)</sup>Verbali di prelievo/scheda conferimento/accompagnamento campioni per*

- **BSE**
- **SCRAPIE**
- **CWD<sup>(5)</sup>**
- **Mancato prelievo**

*Le schede di cui sopra sono scaricabili da vetinfo*

<sup>(4)</sup> Nota n. 21528-09/09/2022-DGSAF-MDS-P TSE – Linee guida prelievo obex – revisione schede accompagnamento campioni.

<sup>(5)</sup> Nota: è possibile prelevare solo: la SPECIE 2. Cervi di cui alla CATEGORIA 1), 3), 4), 5).

**Non è più possibile campionare capi incidentati per CWD**