

Codice A1401A

D.D. 13 ottobre 2015, n. 652

Approvazione dei protocolli applicativi inerenti l'adozione delle misure di sospensione e revoca della qualifica di allevamento per tubercolosi e brucellosi bovina.

Con deliberazione della Giunta Regionale n. 50 – 10866 del 03/11/2003 sono state approvate le disposizioni per il piano regionale di eradicazione della tubercolosi e della brucellosi bovina.

Le disposizioni e le modalità di intervento dei Servizi Veterinari sono riportate negli allegati 1 e 2 della deliberazione citata, rispettivamente per tubercolosi e brucellosi.

Con lo stesso provvedimento la Direzione di Sanità Pubblica è stata incaricata della emanazione dei protocolli applicativi delle misure di eradicazione, in particolare per quanto riguarda le procedure di revoca e sospensione delle qualifiche sanitarie, così come previste dall'allegato A del Decreto Legislativo 196/99.

Dal 2007 la situazione epidemiologica si è evoluta favorevolmente. E' stata attribuita la qualifica sanitaria per brucellosi bovina alla provincia di Cuneo con Dec. 2009/342/CE, completando il processo di accreditamento dell'intera Regione. La qualifica sanitaria per tubercolosi è stata attribuita alle province di Novara e Verbania con Decisione 2007/174/CE, a Vercelli con Decisione 2008/97/CE ed a Biella e Asti con Decisione 2012/204/EU. Le province di Alessandria, Torino e Cuneo hanno concluso il consolidamento dei requisiti di base e sono in attesa della attribuzione della qualificazione comunitaria, già richiesta per l'intero territorio regionale nel 2015.

Pertanto, rendendosi necessario un aggiornamento dei protocolli applicativi già approvati con Determina n. 1104 del 23/12/10, anche in relazione alle misure disposte dall'O.M. 28/5/15,

IL DIRIGENTE

Visto il D.Lgs. 165/2001;
visti gli artt. 17 e 18 della L.R. 23/2008;
vista la D.G.R. n. 50-10866 del 3/11/2003;
vista l'O.M. 28/5/2015,

determina

di approvare i nuovi protocolli applicativi inerenti l'adozione delle procedure di sospensione e revoca della qualifica di allevamento secondo quanto riportato nell'allegato "Protocolli applicativi di attuazione della D.G.R. n. 50 – 10866 del 03/11/2003: misure di revoca e sospensione delle qualifiche sanitarie di allevamento per tubercolosi e brucellosi bovina".

L'allegato alla presente determina sostituisce quelli approvati con Determina n. 1104 del 23/12/10 e forma parte integrante del presente atto.

La presente determinazione verrà pubblicata sul B.U. della Regione Piemonte ai sensi dell'art. 61 dello Statuto e dell'art. 5 della L.R. 22/2010.

Il Responsabile del Settore
Gianfranco Corgiat Loia

Allegato

Protocolli applicativi in attuazione della Deliberazione n. 50-10866 del 3/11/03: misure di revoca e sospensione delle qualifiche sanitarie di allevamento per tubercolosi e brucellosi bovina.

Tubercolosi bovina

Situazione epidemiologica attuale e necessità di revisione dei protocolli.

La situazione epidemiologica della tubercolosi in Piemonte negli ultimi quindici anni ha subito un netto miglioramento, facendo evidenziare una progressiva diminuzione della prevalenza d'infezione.

Va infatti ricordato che ancora nel 1990 si registrava una percentuale di allevamenti infetti superiore al 10%.

Ad integrazione e supporto della normativa nazionale, nel 1994 veniva emanato il DPGR 1023/94 che ha disposto misure supplementari, mirate a rendere più incisivi gli interventi sugli allevamenti infetti ed a regolamentare gli scambi dei capi fra aziende, in particolare nelle situazioni di rischio sanitario; la misura aveva contribuito al conseguimento dei risultati di riduzione della diffusione della tubercolosi in Piemonte, la cui prevalenza nel 1999 risultava ridotta all'1% degli allevamenti.

Si era tuttavia evidenziato come la progressione del piano, seppur molto favorevole, non fosse in grado di assicurare il conseguimento della qualifica territoriale in tempi accettabili, in particolare nelle province di Torino e Cuneo, aree a più elevata densità zootecnica.

Si è pertanto predisposto e adottato con DPGR 20/01, in queste province, un piano straordinario, della durata di due anni, approvato e cofinanziato dalla Comunità Europea, con l'obiettivo di accelerare il processo di eradicazione. Come strumento diagnostico supplementare del piano regionale si è previsto l'uso della prova del gamma interferone, da utilizzare come test collaterale alla prova tubercolinica, per incrementarne la sensibilità.

Gli indicatori di risultato hanno fornito evidenze favorevoli sull'andamento del piano:

- dopo un incremento atteso dei casi di positività, dovuto alla maggiore efficacia degli interventi nel biennio 2001-2002, dal primo semestre del 2003 la prevalenza ha recuperato il trend in decremento;
- si è mantenuta costante la riduzione del numero di segnalazioni di lesioni da tubercolosi sui bovini regolarmente macellati, con riscontri sempre più occasionali di reperti gravi in stadio avanzato;
- la maggior parte dei casi di tubercolosi di nuova insorgenza si sono dimostrati di limitata diffusione in allevamento e di rapida estinzione.

Risultano in possesso della qualifica di territorio ufficialmente indenne da tubercolosi, già attribuita sulla base della normativa nazionale, le province di VC, BI, NO, VB, AT ed AL.

L'obiettivo del programma di eradicazione della tubercolosi bovina punta tuttavia all'acquisizione della qualifica sulla base della normativa comunitaria, che risulta molto più restrittiva di quella nazionale: infatti i requisiti necessari, 99,9% di allevamenti ufficialmente indenni e percentuale di aziende infette inferiore allo 0,1%, devono essere mantenuti per almeno sei anni.

L'attività è stata pertanto indirizzata al consolidamento dei risultati già conseguiti nelle province in qualifica o prossime all'acquisizione ed a un deciso sforzo finale verso l'eradicazione nelle altre province.

Alle province di Novara, Verbania, Vercelli, Biella e Asti è stata attribuita la qualifica comunitaria con Decisione 2007/174/CE del 20/03/2007, Decisione 2008/97/CE del 30/01/2008 e Decisione 2012/204/UE del 19/4/2012. Le province di Alessandria, Torino e Cuneo hanno concluso il consolidamento dei requisiti di base e sono in attesa della attribuzione della qualificazione comunitaria.

E' confermata l'esigenza di adottare le indicazioni comunitarie per i casi a diffusione limitata, per i quali i lunghi tempi di riacquisizione della qualifica ai sensi della normativa nazionale ostacolano fra l'altro il conseguimento della qualifica comunitaria territoriale e non appaiono più giustificati alla luce dell'attuale situazione epidemiologica.

La Deliberazione della Giunta Regionale 50-10866 del 3/11/03 considera la necessità, pur mantenendo le misure di eradicazione previste dalla normativa nazionale che hanno consentito di conseguire i risultati raggiunti, di utilizzare i nuovi strumenti diagnostici ed i protocolli di intervento approvati dalla Comunità Europea. In particolare si è ritenuto di poter adottare le procedure comunitarie di sospensione e revoca della qualifica e successiva riacquisizione previste dal Dlgs 196/99, integrate da interventi diagnostici supplementari con l'impiego del test del gamma interferone, esame definitivamente approvato per l'impiego nella Comunità, con Regolamento CE n. 1226 della Commissione dell'8/7/02.

Con la Determina n. 204 del 28/11/03 e successivamente con la Determina n. 9 del 19/01/07 veniva approvato il protocollo applicativo relativo alle misure di sospensione e revoca delle qualifiche sanitarie di allevamento per la tubercolosi bovina, la cui adozione ha prodotto buoni risultati in termini di progressione del programma di eradicazione.

Sulla base della attuale situazione epidemiologica si confermano le esigenze operative di cui sopra e si rendono inoltre necessarie alcune ulteriori modifiche ed integrazioni alle modalità adottate, per migliorarne ancora l'efficacia, secondo le indicazioni di seguito riportate, ed in linea con le disposizioni dell'O.M. 28/5/15 e le relative indicazioni applicative fornite ai Servizi veterinari delle ASL.

□ **Applicazione delle procedure di sospensione della qualifica di cui all'allegato A del D.Lgs 196/99**

Il riscontro di uno o più capi positivi alle prove ufficiali effettuate in vita (prova tubercolinica o test del gamma-interferone) in un allevamento ufficialmente indenne comporta la **sospensione** della qualifica e l'immediata esecuzione dell'**indagine epidemiologica** per valutare la necessità della **revoca**.

I capi risultati positivi, **immediatamente isolati**, devono essere **abbattuti** e sottoposti agli **esami post mortem** previsti dal protocollo diagnostico predisposto dall'IZS di Torino (vedi allegato 1).

Si evidenzia pertanto l'importanza dell'accuratezza nell'effettuazione **dell'indagine epidemiologica**, per garantire attendibilità e precisione delle informazioni e dei dati rilevati, che concorrono alla determinazione delle procedure da adottare. I risultati dell'indagine dovranno sempre essere valutati personalmente e congiuntamente dal Responsabile di Sanità animale, dal

referente del piano tubercolosi e dal veterinario ufficiale che ha effettuato la diagnosi. In particolare dovranno essere considerati i seguenti elementi:

- l'anamnesi specifica per tubercolosi dell'allevamento;
- la presenza in allevamento di altre specie serbatoio dell'infezione;
- la possibilità di casi di tubercolosi umana;
- la presenza e correttezza dell'identificazione dei bovini, delle registrazioni anagrafiche e di carico - scarico dell'allevamento;
- i contatti a rischio ripercorrendo a ritroso negli anni lo storico dell'azienda;
- le misure di biosicurezza che l'azienda adotta per impedire l'introduzione dell'infezione;
- le condizioni igienico sanitarie dell'allevamento;
- le condizioni strutturali dell'allevamento ai fini della corretta detenzione degli animali e della garanzia della sicurezza degli operatori;
- l'insorgenza/persistenza di casi di tubercolosi nell'area territoriale di riferimento negli ultimi sei anni.

Un apposito gruppo operativo regionale costituito da medici veterinari del Settore Prevenzione Veterinaria della Regione, dell'IZS, dell'Osservatorio Epidemiologico Regionale e dei Servizi Veterinari di area A delle ASL TO3 e CN1 per il coordinamento degli interventi necessari al completamento delle operazioni di eradicazione, supporta i Servizi veterinari periferici nell'effettuazione dell'indagine nei casi di maggior rilievo.

Un'attenzione particolare deve essere riservata alla valutazione di eventuali riscontri o sospetti di tubercolosi umana in personale a contatto con i bovini dell'allevamento infetto. Si sono infatti accertati negli ultimi anni, attraverso l'utilizzo di tecniche diagnostiche di biologia molecolare, episodi di trasmissione della malattia dagli animali all'uomo e viceversa.

Per verificare la gravità delle infezioni rilevate negli allevamenti ed escludere la trasmissione della malattia agli allevatori o l'origine umana dell'infezione è indispensabile estendere l'indagine epidemiologica anche al versante umano, con la collaborazione del SISP, secondo i protocolli di intervento stabiliti per il controllo del personale che opera in allevamento.

Deve inoltre essere considerata in questa fase qualunque altra ragione che faccia ritenere necessaria la revoca per le **esigenze di controllo** della tubercolosi bovina.

Per quanto riguarda gli accertamenti post mortem si precisa che:

- il riscontro di **lesioni tipiche** all'esame anatomico-patologico, ai sensi della normativa comunitaria, è considerato elemento di conferma dell'infezione da tubercolosi e comporta di norma la **revoca** della qualifica.

Per tutti i nuovi riscontri in allevamenti con qualifica consolidata nel tempo, in particolare se fanno capo a province qualificate o prossime all'attribuzione, è della massima importanza l'effettuazione degli accertamenti post mortem per l'isolamento e l'identificazione del *M. bovis*, da richiedere esplicitamente al momento dell'invio del capo risultato positivo al macello. L'isolamento del *M. bovis* rappresenta infatti l'elemento di conferma della presenza dell'infezione ed indirizza al rigore la strategia che si intende adottare. Inoltre, le nuove metodiche di biotecnologia ora disponibili forniscono informazioni supplementari che potranno essere utilizzate ad integrazione dell'indagine epidemiologica classica. In particolare lo sviluppo degli studi di caratterizzazione genetica dei ceppi è in grado di fornire indicazioni sulla dinamica infettiva dei focolai e di contribuire a descrivere la diffusione territoriale dell'infezione (vedi allegato n. 1).

Risulta pertanto della massima importanza lo scrupoloso rispetto del protocollo operativo per la diagnosi post mortem di cui alla nota prot. n. 27746 DB2017 del 9/12/13./DB2017 del

Il veterinario ispettore, in relazione alla presenza di un quadro che non consente di diagnosticare lesioni riferibili a tubercolosi, ma nemmeno di escludere l'eziologia tubercolare, può elevare un **sospetto** che richiede ulteriori approfondimenti (effettuazione del prelievo ed invio del materiale da esaminare all'IZS di TO, secondo il protocollo diagnostico sopra citato).

In questi casi viene mantenuta la sospensione della qualifica di allevamento fino a conferma o esclusione della presenza di infezione, accertata sulla base degli esiti di laboratorio previsti e delle prove in vita.

- In caso di esame anatomico-patologico favorevole (**no visible lesion**), l'effettuazione degli **accertamenti post mortem di laboratorio** (vedi protocollo di cui sopra), che si considerano completati con l'emissione del rapporto di prova dell'IZS di Torino, è **condizione vincolante** per il ripristino della qualifica sospesa. Qualora non siano stati effettuati gli accertamenti post mortem, poiché vengono a mancare elementi indispensabili di valutazione, deve essere adottata la procedura **di revoca** (vedi allegato 1).

Qualora l'**esito** degli **accertamenti post mortem** (esito di laboratorio a circa 60 giorni dall'invio del materiale prelevato) e dell'**indagine epidemiologica** risultino **favorevoli**, la **qualifica** di allevamento può essere **ripristinata** effettuando:

- una prova tubercolinica su tutto l'effettivo, con esito favorevole, ad almeno 60 giorni dall'abbattimento dei capi positivi e,
- qualora dal primo riscontro di positività non sia stato ancora effettuato, un test del gamma interferone, contestuale alla prova di cui sopra, su tutti i capi di età superiore ai 6 mesi.

Qualora l'esito degli accertamenti *post mortem* e/o dell'indagine epidemiologica risultino **sfavorevoli**, la qualifica di allevamento **deve essere revocata**.

- ❑ **Applicazione delle procedure di revoca della qualifica di cui all'allegato A del D.Lgs 196/99**

Riepilogando, si ricorda che la normativa comunitaria prevede l'applicazione della procedura di **REVOCA** della qualifica nei seguenti casi:

- isolamento/identificazione di **M. bovis** nelle prove di laboratorio;
- riscontro di **lesioni tipiche da tubercolosi** all'esame *post mortem* (vedi osservazioni al capitolo precedente);
- risultati **dell'indagine epidemiologica** che fanno ritenere **probabile** la presenza dell'infezione;
- qualunque altra ragione che faccia ritenere necessaria la revoca per le **esigenze di controllo** della tubercolosi bovina.

In caso di adozione di **REVOCA** di qualifica si applica la **misura di abbattimento** totale ai sensi dell'art. 19, comma 3 del D.M. 592/95.

Qualora, sulla base della valutazione degli esiti degli accertamenti previsti dal presente protocollo, sia stata confermata la presenza dell'infezione e ne sia stata accertata una **diffusione limitata e recente**, il Direttore di area può avanzare richiesta, al Settore Prevenzione Veterinaria della Regione ed all'Osservatorio Epidemiologico del Piemonte, di deroga all'adozione della misura di abbattimento totale, corredata da una relazione esplicativa delle motivazioni. Il Settore Prevenzione Veterinaria e l'Osservatorio Epidemiologico, sulla base della valutazione del caso specifico, della situazione epidemiologica locale e provinciale, delle motivazioni prodotte, e dei criteri di cui all'Allegato 2 dell'O.M. 28/5/15, esprimono in merito un parere congiunto e **vincolante**.

In caso di concessione della deroga si adotta un programma di eradicazione alternativo che deve prevedere la ripetizione intensiva degli accertamenti diagnostici, mediante l'utilizzo del test del gamma interferone, con la prova tubercolinica ad intervalli ravvicinati. Il programma deve consentire di procedere con successo alla identificazione ed eliminazione dei capi infetti, con chiusura del focolaio **entro 8 mesi** dal primo rilievo di positività. Il programma deve inoltre prevedere il tempestivo allontanamento dei capi risultati positivi (di norma entro 10 giorni dalla diagnosi).

Qualora il programma adottato non sia risultato efficace con chiusura del focolaio, trascorsi non più di 8 mesi dalla prima individuazione dell'infezione, si adotta la misura dell'abbattimento totale.

In caso di **REVOCA** della qualifica di allevamento ed applicazione del programma di eradicazione alternativo alla misura di abbattimento totale, le prove ufficiali utili alla riacquisizione della qualifica sono:

- la prima prova tubercolinica a **60 giorni** dall'allontanamento dei capi risultati infetti;
- un'ulteriore prova tubercolinica, a distanza di **almeno 4 – 8 mesi** dalla prova precedente.

L'**autorizzazione al ripopolamento** e la **revoca dei provvedimenti di polizia veterinaria** sono contestuali alla riattribuzione della qualifica, nei casi in cui l'ultima prova utile per la riacquisizione dello status di indennità venga effettuata a **4 mesi** dalla precedente. Nei casi in cui, invece, per la gravità dell'infezione, si ritenga necessario dilatare l'intervallo fra le due

prove a **8 mesi**, è necessario considerare come accertamento intermedio, utile per la revoca dei provvedimenti di polizia veterinaria, un ulteriore controllo a 6-8 settimane dalla prima prova.

Nei casi di infezione confermata e di adozione del programma di eradicazione alternativo all'abbattimento totale, dovrà essere prevista l'effettuazione di un controllo aziendale, a cadenza annuale, mediante test del gamma interferone, su tutti i capi di età superiore ai 12 mesi, per almeno 3 anni dalla data di riacquisizione della qualifica. Inoltre, i capi di età superiore ai 42 giorni possono essere destinati ad altri allevamenti solo qualora siano stati controllati mediante prova tubercolinica, con esito favorevole, nei 30 giorni precedenti lo spostamento. Tale procedura, da mantenere con apposito provvedimento per almeno 3 anni dalla riacquisizione della qualifica, deve essere adottata anche qualora i capi abbiano già subito un controllo favorevole negli ultimi 12 mesi.

In caso di riscontro di **un solo caso di lesione tubercolare tipica alla regolare macellazione** (segnalazione mod. 10/33) su un capo proveniente da un **allevamento ufficialmente indenne**, se l'indagine epidemiologica è favorevole, è possibile applicare una procedura di riacquisizione della qualifica con modalità abbreviate secondo lo schema di seguito riportato:

- una prova tubercolinica su tutto l'effettivo, con esito favorevole, ad almeno 60 giorni dalla macellazione del capo oggetto di segnalazione di tubercolosi e,
- qualora dal primo riscontro di positività non sia stato ancora effettuato, un test del gamma interferone, contestuale alla prova di cui sopra, su tutti i capi di età superiore ai 6 mesi.

Resta inteso che la qualifica di allevamento potrà essere riattribuita, sia per i casi di **revoca** sia per quelli di **sospensione**, solo dopo avvenuta **disinfezione della stalla**.

In tutti i casi in cui le **prove diagnostiche in vita** abbiano fornito **esiti discordanti** o **non conclusivi** è opportuno effettuare un controllo aziendale per la ricerca dell'**idrazide dell'acido isonicotinico**, ed è possibile richiedere che su eventuali ceppi isolati venga effettuata la prova di **antibiotico resistenza** (agli antitubercolari). E' infatti plausibile che, in caso di uso fraudolento continuativo di farmaci antitubercolari, si selezionino ceppi resistenti. Pur non trattandosi di rilievi utilizzabili ai fini di procedimenti giudiziari, si tratta in ogni caso di un'informazione utile per la valutazione del caso e la decisione della strategia da adottare.

I risultati di positività agli accertamenti diagnostici devono essere notificati entro due giorni lavorativi dalla conferma di positività, per consentire il tempestivo allontanamento dei capi, nei termini previsti.

□ Provvedimento di abbattimento totale

L'adozione del provvedimento di abbattimento totale prevede l'inoltro di richiesta di parere al Settore Prevenzione Veterinaria ed all'Osservatorio Epidemiologico per la valutazione del caso d'infezione.

Il parere verrà espresso **dopo l'abbattimento di un primo gruppo di capi risultati positivi alle prove in vita**, numericamente significativo rispetto alla situazione aziendale, individuato

congiuntamente con l'Osservatorio Epidemiologico del Piemonte. Risulta infatti necessario, per una valutazione completa del caso, che le informazioni epidemiologiche ed anamnestiche fornite dal Servizio richiedente siano integrate dai riscontri anatomo-patologici ed eventualmente dagli esiti degli accertamenti di laboratorio post mortem, che dovranno essere eseguiti su tutti i capi appartenenti alla prima tranche di abbattimento. L'invio della prima tranche di capi infetti al macello dovrà essere seguito, per facilitare gli accertamenti del caso, da un veterinario della ASL competente sull'allevamento infetto. La data dell'invio, inoltre, dovrà essere preventivamente comunicata all'Osservatorio Epidemiologico del Piemonte e al Settore Prevenzione Veterinaria della Regione.

In caso di adozione del provvedimento di abbattimento totale i restanti capi da abbattere dopo la prima tranche vengono inviati alla macellazione e sottoposti ad accertamenti di laboratorio post mortem, secondo il protocollo operativo al macello di cui alla nota prot. n. 36387/DB2002 del 16/12/10.

Al fine di consentire l'effettuazione degli accertamenti previsti, in caso di abbattimento totale, il Servizio Veterinario competente per l'inoltro dei capi al macello contatta preventivamente il veterinario ispettore responsabile dell'impianto di macellazione, per concordare le procedure di invio dei capi positivi ed eventuali interventi di collaborazione in sede ispettiva, se necessari, come previsto dalla nota di cui sopra.

Brucellosi bovina

□ Situazione epidemiologica attuale e necessità di revisione dei protocolli

Nel corso degli ultimi anni la situazione sanitaria della brucellosi bovina è andata rapidamente migliorando: dal 1998 l'intero territorio regionale ha acquisito lo status di ufficialmente indenne da malattia ai sensi della normativa nazionale e nel corso del 2009 si è completata l'acquisizione della qualifica europea per tutto il territorio regionale. Nell'ultimo quinquennio non si sono verificati focolai di brucellosi né isolamenti di *Brucella abortus*. L'ultimo caso risale al 2004, in provincia di Cuneo, dove fu rilevata *B. abortus* 1 in un allevamento singleton reactor.

Nel 1999 è stato emanato il D.P.G.R. 63/99 che ha rafforzato le misure di profilassi già in vigore, con la finalità di consolidare i risultati acquisiti ed intervenire in modo più incisivo sui residui focolai nelle aree a rischio.

Nel 2003, nell'ambito dell'autonomia attribuita alle regioni, è stato emanato il DGR 50-2003 che ha consentito l'applicazione del D.Lvo 196/99 che prevede di adottare la sospensione della qualifica sanitaria e di riattribuirla con condizioni temporali più favorevoli della normativa nazionale (D.M. 651/94), nei casi in cui l'indagine epidemiologica faccia ritenere la positività di natura aspecifica. Le misure previste dal protocollo regionale, pur essendo meno penalizzanti per gli allevamenti interessati, hanno garantito un approccio prudente e cautelativo, che ha permesso di consolidare gli ottimi risultati raggiunti, ponendo le basi per il riconoscimento dello status secondo lo standard europeo.

Il protocollo adottato con Determinazione n. 9 del 19/01/07 e s. m. , valutato nel corso degli anni di applicazione, si è dimostrato efficace. Per questo motivo viene confermato.

□ Prove di laboratorio.

A. Test di screening individuale: **siero-agglutinazione rapida con antigene al rosa bengala (TRB)**

La prova di **fissazione del complemento (FdC)** è utilizzata come test ufficiale individuale e trova impiego nei seguenti casi:

- **Prova di conferma** alle positività TRB, eseguito esclusivamente sui capi positivi al test di screening
- Accertamento finalizzato alla **compra-vendita** (tutti i capi > 12 mesi)
- **Prove o riprove**, richiedendone espressamente l'esecuzione, praticate su:
 1. **singoli capi** risultati **positivi** negli allevamenti con qualifica **sospesa**,
 2. **tutti** i capi > 12 mesi negli allevamenti con qualifica **revocata**
 3. **tutti** i capi > 12 mesi negli allevamenti **correlati a focolai e in tutti i casi di sospetto clinico ed indagine epidemiologica con esito sfavorevole**

B. Test di screening di massa: **test ELISA effettuato sul latte di massa** (tre prove eseguite a distanza di almeno tre mesi).

In caso di risultato positivo al test ELISA si procederà al più presto alla conferma della sieropositività in allevamento mediante test sierologico individuale (screening con TRB e **conferma dei soli capi TRB positivi mediante FdC**) su tutti i capi di età superiore a 12 mesi.

In caso di esito dubbio si procederà alla ripetizione del test ELISA su un nuovo campione di latte di massa.

□ Apertura di un nuovo caso.

Al primo riscontro di uno o più capi positivi alle prove sierologiche ufficiali per brucellosi in un allevamento già ufficialmente indenne, il Servizio Veterinario della ASL deve effettuare una accurata valutazione per determinare se sia da applicarsi una revoca della qualifica ovvero se sia sufficiente, sulla base degli elementi in possesso anche relativamente ai dati di diffusione territoriale, adottare un provvedimento di sospensione. L'apertura di ogni nuovo caso deve pertanto essere seguita personalmente e congiuntamente dal Responsabile di Sanità animale, dal Referente del Piano brucellosi e dall'equipe territoriale della sede periferica di riferimento.

Infatti, fra le condizioni per applicare la sospensione si fa riferimento, oltre che alle prove di laboratorio, anche ai riscontri dell'indagine epidemiologica. Questa dovrà sempre essere condotta con estrema accuratezza, in collaborazione con l'Osservatorio Epidemiologico, in modo da consentire di valutare:

- l'anamnesi di allevamento per brucellosi;
- la presenza/assenza di casi umani correlati;
- la presenza/assenza di casi di brucellosi nell'area territoriale di riferimento negli ultimi tre anni;
- la densità di popolazione sensibile nell'area limitrofa;
- l'assenza/presenza di sintomi riferibili a brucellosi o di cali di fertilità, sentito anche il veterinario aziendale che si occupa della riproduzione;
- la presenza e correttezza dell'identificazione dei bovini, delle registrazioni anagrafiche e di carico - scarico dell'allevamento;
- la presenza in azienda di altre specie sensibili;
- i contatti a rischio dall'ultimo controllo negativo;
- le misure di biosicurezza che l'azienda adotta per impedire l'introduzione del contagio.

❑ **Applicazione delle procedure di sospensione della qualifica di cui all'allegato A del D.Lgs 196/99**

Qualora nell'azienda non siano rilevati sintomi clinici di brucellosi o isolamento di *Brucella* e un'indagine epidemiologica condotta nell'allevamento non rilevi l'esistenza di particolari fattori di rischio per la presenza di infezione (es. pregresse infezioni, contatti diretti o indiretti con allevamenti senza qualifica sanitaria, recente introduzione di animali, movimenti a rischio da e per l'azienda, ecc.), la qualifica potrà essere ripristinata subito dopo che (D.lvo 196/99):

- **uno o più animali risultati positivi al test FdC** (se correttamente isolato/i in modo da evitare qualsiasi contatto diretto o indiretto con gli altri animali presenti in allevamento), **sottoposti ad un secondo controllo sierologico** (con TRB ed FdC), **a distanza di 30 giorni dal primo, risultino negativi al test FdC**. Questo risultato permetterà di considerare non infetti questi capi consentendo la loro reintroduzione in allevamento con ripristino della qualifica. Contestualmente alla riprova sierologica, è opportuno procedere al prelievo di feci per la ricerca di *Yersinia* spp., secondo il protocollo diagnostico di approfondimento predisposto dall'Istituto Zooprofilattico di Torino. Il riscontro di eventuali positività ad agenti interferenti potrà fornire indicazioni supplementari per la determinazione delle misure da adottare presso l'allevamento.

Qualora si ricorra alla macellazione prima dei 30 giorni previsti, dovrà essere eseguito un ulteriore controllo sierologico sul capo/i positivo/i e, in sede di macellazione dovranno essere prelevati gli organi per l'esame batteriologico. In caso di esito favorevole di entrambe gli accertamenti, si potrà procedere al ripristino della qualifica. Qualora l'esito del controllo sierologico risulti sfavorevole, si adottano le modalità operative descritte al punto successivo.

- Nel caso in cui l'esito della riprova fosse **sfavorevole**, il capo/i deve/devono essere abbattuto/i e in sede di macellazione sottoposto/i a prelievo degli organi per l'esame batteriologico. In caso di esame batteriologico favorevole, la qualifica può essere ripristinata effettuando due prove su tutto l'allevamento, con esito favorevole, **ad intervallo di 60 giorni, trascorsi 30 giorni dall'abbattimento del capo positivo**.
- Se per motivi diversi, il/i capo/i fosse/ero stato/i abbattuto/i e non più disponibile/i per le riprove, la qualifica potrà essere ripristinata successivamente all'esecuzione di due prove su tutto l'allevamento, con esito favorevole, **ad intervallo di 60 giorni, trascorsi 30 giorni dall'abbattimento del capo positivo**.

❑ **Allevamenti epidemiologicamente correlati a focolai accertati**

Gli allevamenti correlati epidemiologicamente con allevamenti infetti accertati, devono essere trattati come **sospetti**, con **sospensione** di qualifica. La qualifica può essere ripristinata mediante l'effettuazione di **due** accertamenti su tutto l'effettivo, con esito favorevole, ad intervallo di 60 giorni, trascorsi 30 giorni dalla data dell'ultimo contatto diretto o indiretto a rischio. Qualora la situazione epidemiologica nell'allevamento di origine dell'infezione si sia evoluta sfavorevolmente, valutata anche la qualità del contatto, occorre effettuare un ulteriore controllo ad almeno **quattro mesi** dal precedente, con esito favorevole. Questo ultimo controllo si rende indispensabile per l'individuazione delle infezioni a lungo periodo di incubazione (art. 7 DPGR 63/99).

❑ **Applicazione delle procedure di revoca della qualifica di cui all'allegato A del D.Lgs 196/99**

La qualifica d'allevamento **deve** essere revocata nei seguenti casi:

- esito sfavorevole dell'indagine epidemiologica effettuata in caso di sospetto clinico;
- andamento epidemiologico sfavorevole o comparsa di segni clinici nel corso degli accertamenti effettuati in procedura di sospensione della qualifica;
- isolamento di *Brucella abortus*.

In caso di conferma della presenza dell'infezione si adotta la misura di abbattimento totale.

In via eccezionale, per motivi straordinari dettagliatamente esposti in un'apposita relazione, il Direttore di area può avanzare richiesta al Settore Prevenzione Veterinaria e all'Osservatorio Epidemiologico di deroga all'adozione della misura di abbattimento totale. Il Settore Prevenzione Veterinaria e l'Osservatorio Epidemiologico valutano l'opportunità di acconsentire all'applicazione della deroga ed esprimono in merito un parere congiunto e **vincolante**.

In caso di deroga si adotta un programma di eradicazione alternativo applicando lo schema diagnostico di seguito riportato, su tutto l'effettivo di allevamento:

- prima prova a **7 – 15** giorni dall'abbattimento dei capi risultati infetti;
- seconda prova, trascorsi 30 giorni dall'abbattimento dell'ultimo capo infetto;
- terza prova, trascorsi 60 giorni dalla seconda prova;
- prova utile per la riacquisizione della qualifica, a distanza di **4-8** mesi dalla terza prova.

Al riscontro di ulteriori positività alle prove di cui sopra si procede all'abbattimento dei capi infetti e si adotta nuovamente lo schema riportato.

□ **Condizioni vincolanti per la riacquisizione della qualifica**

La qualifica di allevamento potrà essere riattribuita, sia per i casi di **revoca** sia per quelli di **sospensione**, solo dopo avvenuta **disinfezione della stalla**.

□ **Accertamenti diagnostici al macello**

L'esecuzione degli accertamenti diagnostici al macello risulta della massima rilevanza: il monitoraggio batteriologico, previsto dalla vigente normativa, è compreso nel protocollo diagnostico dell'IZS di Torino per consentire una valutazione più completa del caso e indirizzarne le strategie di gestione. Inoltre l'assenza di riscontri alla ricerca dell'agente eziologico è requisito vincolante per l'acquisizione ed il mantenimento della qualifica comunitaria territoriale. Istruzioni specifiche che ne ribadiscono l'importanza sono state inoltrate all'area di Ispezione ed Igiene degli alimenti che ne cura l'effettuazione (nota prot. 17768/27/004 del 10/11/03); inoltre in allegato alla nota prot. n. 16687/27.003 del 21/12/06 è disponibile la scheda di prelievo per l'invio di organi dal macello per l'isolamento di *Brucella* spp., in caso di macellazione del capo sospetto/positivo.

Considerato il numero ormai estremamente limitato di casi di positività, è comunque opportuno, per assicurarsi preventivamente dell'esecuzione degli accertamenti, riportare la richiesta di prelievo sul mod.4 di scorta dei capi e preavvisare per le vie brevi il veterinario responsabile del macello a cui sono destinati i capi sospetti/positivi.

□ Applicazione D.P.G.R. 63/99

Si porta all'attenzione dei Servizi Veterinari l'importanza dell'applicazione del D.P.G.R. 63/99, che ha introdotto misure di sorveglianza supplementari per la profilassi della brucellosi.

In particolare si richiama:

- l'obbligo di applicazione della misura di abbattimento totale nei casi in cui l'infezione si dimostri incontenibile con le ordinarie misure di profilassi.
Visto l'obiettivo comunitario di assenza di circolazione di *B. abortus* nel territorio, nella norma è necessario adottare il provvedimento in tutti i casi di **isolamento**;
- l'obbligo **dell'accertamento diagnostico a destino** (art. 5) per i capi introdotti da fuori regione, che può essere effettuato contestualmente a quello per tubercolosi, previsto dal D.M. 592/95, senza ulteriori necessità di sopralluogo in allevamento. Si precisa che in caso di individuazione di focolai la cui origine è riferibile ad altre Regioni, il riscontro di brucellosi non deve essere conteggiato nei rendiconti nazionali e non incide pertanto sui requisiti di mantenimento della qualifica territoriale;
- **l'obbligo di segnalazione dei casi di aborto da parte di tutti i soggetti interessati.**

Esami di conferma *post-mortem*: note esplicative

Gli esami di conferma *post-mortem* previsti dal protocollo diagnostico sono eseguiti nei laboratori della Sede dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta.

I campioni possono essere consegnati alle Accettazioni della Sede e delle Sezioni provinciali dell'Istituto e devono essere corredati dell'apposita scheda "Invio campioni per tubercolosi" compilata in tutte le sue parti (MOD.40IZ216).

Previo esame anatomopatologico, il protocollo diagnostico per le prove di conferma *post-mortem* prevede i seguenti esami:

- Esame batteriologico per isolamento ed identificazione dei ceppi batterici;
- Esame PCR per la ricerca diretta di micobatteri tubercolari nei tessuti;
- Esame PCR per tipizzazione genica dei ceppi batterici isolati;
- Studio di marcatori genetici (Spoligotyping e VNTR-ETR) per la caratterizzazione dei ceppi *M.bovis* isolati, quale supporto su base analitica all'indagine epidemiologica, utile ad acquisire indicazioni sulla dinamica infettiva del focolaio (origine dell'infezione, diffusione e tracciabilità dei ceppi sul territorio, ...);
- Esame istologico (non viene eseguito su campioni di linfonodi policostituiti in assenza di lesioni macroscopiche).

Il protocollo diagnostico si conclude con l'emissione contestuale di tutti i Rapporti di Prova (RdP) relativi a ciascun esame (si precisa che in caso di negatività la conclusione del protocollo è prevista dopo 60 gg dall'inizio delle prove), mentre lo studio per la caratterizzazione dei ceppi *M.bovis* si conclude in via ordinaria entro i 30 giorni successivi alla conclusione del protocollo diagnostico.

L'Istituto Zooprofilattico provvede ad inviare l'insieme dei RdP alle AA.SS.LL. di competenza rispettivamente per sede di Macello e Allevamento.

I RdP sono emessi rispettivamente per:

- Esame batteriologico → *Ricerca micobatteri - colturale*, opzioni esito: negativo / specie micobatteri
- Esame PCR per la ricerca diretta di micobatteri tubercolari nei tessuti → Identificazione molecolare di *Mycobacterium "tb complex"* in tessuti, opzioni esito: rilevato DNA di *Mycobacterium tb complex* / non rilevato DNA di *Mycobacterium tb complex* (inferiore al limite di rilevazione)
- Esame PCR per tipizzazione genica dei ceppi batterici isolati
→ *Identificazione molecolare di Mycobacterium*, opzioni esito: negativo / *Mycobacterium spp* / *Mycobacterium tb complex* / *Mycobacterium avium*

→ *Caratterizzazione molecolare di specie per Mycobacterium tb complex*, opzioni esito: specie micobatteri

- Studio dei marcatori genetici per la caratterizzazione dei ceppi *M.bovis* isolati

→ *Spoligotyping*, esito: *M.bovis* + codice alfa-numerico specifico del ceppo,
es. "*M.bovis* SB0120"

→ VNTR-ETR, esito: codice alfanumerico a 5 postazioni/cifre, es. ABCDE=44322

- Tubercolosi bovina: esame istologico per la diagnosi microscopica (M.I.), esito: LESIONE COMPATIBILE/NON COMPATIBILE CON TUBERCOLOSI BOVINA descrizione quadro microscopico.