

Codice A1409A

D.D. 29 dicembre 2016, n. 919

**Piano regionale per il controllo sanitario della fauna selvatica. Approvazione.**

(omissis)  
IL DIRIGENTE  
(omissis)  
*determina*

- di approvare, come parte integrante e sostanziale della presente determinazione, il Piano regionale per il controllo sanitario della fauna selvatica;
- di demandare alle Aziende Sanitarie Locali l'attuazione, per la parte di competenza, di quanto previsto dal Piano di cui al punto precedente;

Si dà atto che le attività previste nell'allegato alla presente determinazione dirigenziale ricadono tra quelle finanziate con il riparto del fondo Sanitario e, pertanto, non sono previsti ulteriori oneri a carico del bilancio regionale.

Avverso la presente determinazione è ammesso ricorso entro il termine di 60 giorni innanzi al T.A.R. del Piemonte.

La presente determinazione sarà pubblicata sul Bollettino ufficiale della Regione Piemonte, ai sensi dello Statuto e dell'art. 5 della L.R. 22/2010.

Il Dirigente del Settore  
Gianfranco CORGIAT LOIA

Allegato

# **PIANO REGIONALE PER IL CONTROLLO SANITARIO DELLA FAUNA SELVATICA.**

## **PREMESSA**

La sorveglianza dello stato sanitario della fauna selvatica presente in un determinato territorio è uno degli aspetti fondamentali compresi dalle attività di competenza delle autorità preposte alla tutela della salute pubblica e del patrimonio zootecnico, ed è caratterizzato da molteplici fattori da tenere in considerazione. Inoltre la selvaggina oggetto di prelievo venatorio che entra a far parte del circuito alimentare umano, deve essere oggetto di sorveglianza sanitaria, così come stabilito dalla regolamentazione comunitaria: i regolamenti 852/2004 e 853/2004 includono la caccia nell'ambito della produzione primaria stabilendo le regole per la commercializzazione della selvaggina, demandando agli Stati Membri la regolamentazione della cessione diretta di piccole quantità al consumatore finale o al piccolo dettagliante.

La conoscenza dello stato sanitario della fauna selvatica è indispensabile, oltre che per minimizzare l'effetto diretto sulla salute umana derivante dal consumo di selvaggina cacciata, anche per studiare la diffusione sul territorio di patologie a carattere zoonosico la cui trasmissione non dipende dall'ingestione di carne infetta e/o contaminata, come per esempio quelle a trasmissione vettoriale.

Oltre all'impatto diretto sulla salute umana sopra descritto, la fauna selvatica svolge un importante ruolo di serbatoio e trasmissione per molti agenti patogeni che possono incidere sullo stato sanitario del patrimonio zootecnico sensibile con cui condivide il territorio, e allo stesso tempo la tutela della biodiversità e dell'integrità delle popolazioni selvatiche non può prescindere dal controllo dei rischi di diffusione delle patologie dall'animale domestico al selvatico, soprattutto in situazioni di promiscuità come quelle del pascolo estivo.

## **OBIETTIVI DEL PIANO**

1. Disporre di informazioni attendibili relative alla presenza e distribuzione tra le popolazioni selvatiche del territorio regionale delle patologie che possono costituire un pericolo per l'uomo e per il patrimonio zootecnico, in modo da predisporre in tempo utile adeguate misure di mitigazione.

2. Garantire il monitoraggio dello stato sanitario delle popolazioni selvatiche del territorio regionale attraverso una distribuzione dei campioni omogenea e statisticamente significativa.
3. Disporre di un sistema di sorveglianza che consenta di evidenziare rapidamente l'insorgenza di mortalità e morbilità anomale tra la fauna selvatica regionale.
4. Comunicare le risultanze dell'attività di monitoraggio e sorveglianza a tutti gli operatori e portatori di interesse.
5. Predisporre efficaci strumenti per formare in modo adeguato tutti gli operatori chiamati ad intervenire nei vari momenti di applicazione del Piano.

#### **SOGGETTI COINVOLTI DAL PIANO E LORO RUOLO**

- A. **I Servizi veterinari di Sanità Animale delle ASL**, i quali, attraverso il riferimento dei medici veterinari referenti per il Piano, eseguono ed inviano i campioni al laboratorio, interpretano gli esiti e monitorano l'andamento delle malattie sul territorio, coordinandosi, ove necessario, con i Servizi delle ASL limitrofe che insistono sulla medesima provincia. Provvedono inoltre ad informare il Settore regionale competente sullo stato sanitario e sulla situazione epidemiologica delle patologie inerenti la fauna selvatica presente sul territorio di competenza.
- B. **Il Settore Prevenzione e Veterinaria della Regione Piemonte**, avvalendosi del supporto **dell'Osservatorio Epidemiologico Regionale** e con il contributo del **CERMAS** sia a livello tecnico-scientifico sia per la reportistica destinata al Ministero della Salute di cui è responsabile secondo le modalità indicate nelle linee guida, monitora la realizzazione del Piano, riesamina e pubblica i risultati delle attività annuali, supporta i Servizi veterinari delle ASL nella gestione di eventuali criticità rilevate nello stato sanitario delle popolazioni selvatiche indagate. Se necessario coordina le attività di campionamento delle diverse ASL aventi competenza sul medesimo territorio provinciale. L'Osservatorio epidemiologico riferisce con cadenza quadrimestrale al Settore Prevenzione e Veterinaria dell'andamento dei campionamenti.
- C. **L'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta** rende disponibile la diagnostica specialistica e la consulenza

tecnico-scientifica per l'esecuzione degli esami di laboratorio, contribuisce alla definizione della base campionaria e alla verifica dei risultati.

- D. **Città Metropolitana di Torino, Province, Enti di gestione delle Aree Protette, Comprensori Alpini, Ambiti Territoriali di Caccia, Centri Recupero Animali Selvatici (C.R.A.S.),** ognuno per i territori di propria competenza e attraverso il personale preposto, collaborano con i Servizi Veterinari delle ASL nelle attività di sorveglianza della mortalità e segni di patologie della fauna selvatica e, qualora necessario e sotto il coordinamento dell'Autorità Competente, possono procedere al prelievo e al conferimento delle carcasse/campioni presso le ASL o le sezioni IZS di competenza.
- E. **Il Dipartimento di Medicina Veterinaria dell'Università di Torino** che ai fini della sorveglianza passiva mette a disposizione, quando richieste dall'IZS e/o dal Settore Prevenzione e Veterinaria e ove disponibili, carcasse o parti di esse appartenenti a specie oggetto di indagine, nelle forme e nei modi che verranno concordate tra i soggetti coinvolti.
- F. **La Direzione Agricoltura della Regione Piemonte,** nell'ambito di quanto previsto dalla legge 157/92, contribuisce a verificare le informazioni relative alla distribuzione e alla densità delle popolazioni selvatiche.

Al fine di fornire ai soggetti considerati al punto D tutte le informazioni e le nozioni necessarie per un'efficace espletamento delle attività per le quali è richiesta la loro collaborazione, le ASL competenti per territorio, con il coordinamento del Settore Prevenzione e Veterinaria, organizzano momenti formativi volti ad illustrare i contenuti del piano e le procedure con le quali esso viene realizzato. Tali eventi dovranno preferibilmente avere luogo nei primi mesi di ogni anno.

<b>CRITERI ADOTTATI PER L'INDIVIDUAZIONE DELLE MALATTIE PRIORITARIE OGGETTO DI SORVEGLIANZA</b>
---

L'attività di prioritizzazione delle patologie della fauna selvatica sottoposte ad indagine è stata condotta secondo una valutazione multifattoriale, dove per ogni fattore è stato attribuito il punteggio di 1 o di 0 (presenza o assenza per una singola patologia della determinante considerata) per arrivare alla classificazione sulla base del punteggio totale.

I fattori considerati per ogni patologia sono stati i seguenti:

- a) Inclusione tra le patologie la cui sorveglianza rappresenta un LEA (Livello Essenziale di Assistenza)
- b) Inclusione tra le patologie considerate dal Piano Nazionale per la Prevenzione (PNP) – Accordo Stato-Regioni del 25.03.2015
- c) Tipologia e caratteristiche del patogeno (emergente/già rilevato, specie-specifico/multiospite, trasmissione diretta/indiretta, ruolo *reservoir* dei selvatici, resistenza ambientale).
- d) Rischio di diffusione negli animali da reddito
- e) Rischio di diffusione negli animali da compagnia
- f) Impatto sulla salute umana (zoonosi, trasmissione interumana)
- g) Applicabilità della sorveglianza (facilità nel reperire i campioni, disponibilità di dati sulle presenze)
- h) Impatto economico (restrizione sulle movimentazioni, riduzione delle produzioni, restrizioni nel consumo di selvaggina, necessità di conoscere lo status territoriale)
- i) Misure di mitigazione (stamping out domestici, vaccinazione domestici, applicabilità di misure di biosicurezza).

#### **PATOLOGIE PRIORITARIE AI FINI DEL PRESENTE PIANO**

Sulla base dell'attribuzione di punteggi derivante dall'applicazione dei criteri sopra descritti, sulla base di un risultato uguale o superiore agli punti sono state selezionate le seguenti patologie prioritarie, che saranno sottoposte a indagine sull'intero territorio regionale:

- **Rabbia**
- **Tubercolosi**
- **Brucellosi**
- **Peste Suina Classica**
- **Influenza aviaria**
- **West Nile Fever**
- **Trichinellosi**
- **Salmonellosi**
- **Echinococcosi**
- **Aujeszky**
- **Newcastle**

Le ultime due patologie sono state considerate di particolare rilevanza strategica a causa delle ricadute economiche sulle produzioni zootecniche regionali:

Sono invece state escluse, nonostante la rilevanza nella classifica di prioritizzazione, alcune patologie per cui a causa di caratteristiche intrinseche o legate al contesto epidemiologico, il monitoraggio nella fauna selvatica sarebbe scarsamente efficace: Afta Epizootica e Peste Suina Africana, per le quali non ci sarebbe valore aggiunto rispetto alla sorveglianza passiva normalmente svolta nelle popolazioni domestiche.

È stata eliminata dall'ordine di prioritizzazione anche le Chronic Wasting Disease (CWD), rientrante nelle Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili, in quanto disciplinata da una recente nota del Ministero della Salute avente come oggetto "Piano di sorveglianza conoscitiva per la malattia del deperimento cronico del cervo (Chronic Wasting Disease CWD)".

Si specifica infine che per le patologie incluse nel seguente Piano, e che sono oggetto anche di Piano Nazionale di Sorveglianza (Influenza Aviaria, West Nile Disease), i dati derivanti dal monitoraggio saranno anche convogliati nei flussi informativi stabiliti a livello istituzionale.

E' previsto, qualora particolari situazioni epidemiologiche lo rendessero necessario ovvero laddove ritenuto comunque opportuno, procedere ad eventuali approfondimenti diagnostici nei confronti di patologie non comprese nell'elenco sopra citato, previ accordi con il Settore Prevenzione e Veterinaria della Regione Piemonte e l'IZS, e comunque realizzando il conferimento dei campioni tramite impiego della modulistica appositamente prevista per gli "approfondimenti diagnostici".

Nell'**allegato A** sono riportate le schede relative alle patologie prioritarie riportanti per ognuna di esse le specie animali interessate, la tipologia di sorveglianza (attiva o passiva), la definizione di caso sospetto e confermato, il/i campione/i biologico/i che si intende prelevare e la prova diagnostica che sarà utilizzata, le misure di mitigazione del rischio che si adotteranno in funzione dei risultati ottenuti, il numero di campioni da prelevare e l'unità di campionamento cui il calcolo si riferisce.



**ALLEGATO A**

# **SCHEDE PATOLOGIE**



# RABBIA

**SPECIE** sottoposta a sorveglianza: *reservoir*, morsicatori, morsicati

Ordine Carnivora, Famiglia Canidae: Volpe (*Vulpes vulpes*), Lupo (*Canis lupus*);

Ordine Carnivora, Famiglia Mustelidae: Martora (*Martes martes*), Faina (*Martes foina*),  
Puzzola (*Mustela putorius*), Ermellino (*Mustela erminea*), Donnola (*Mustela nivalis*), Tasso  
(*Meles meles*);

Ordine Chiroptera

Mammiferi selvatici morsicati

## TIPO DI SORVEGLIANZA:

**ATTIVA** su volpi (prelievo venatorio) e **PASSIVA** su animali selvatici delle specie sensibili elencati sopra rinvenuti morti, soppressi con sintomatologia nervosa o defedati.

## CASO SOSPETTO:

Sospetto di malattia: animale di specie sensibile con sintomi clinici riferibili alla malattia

Sospetto di infezione: animale che è stato potenzialmente esposto al contatto col virus in seguito a morsicatura da parte di un animale rabido o sconosciuto.

## CASO CONFERMATO:

Carcassa di specie sensibile per la quale venga confermata malattia/infezione mediante Immunofluorescenza diretta (IFD), esame virologico su colture cellulari, prova biologica (mouse test in casi particolari)

**MATRICE DI PRELIEVO:** carcassa, testa

**PROVA DIAGNOSTICA** (prevede esame anatomopatologico e fase di preparazione campioni):

- immunofluorescenza diretta;
- isolamento su colture cellulari
- prova biologica (mouse test) per i morsicatori o come prova di conferma

**MISURE DI MITIGAZIONE IN CASO DI POSITIVITA'**: attivazione delle misure di emergenza con profilassi diretta e indiretta secondo indicazioni del Centro Nazionale di Referenza, e attività di informazione presso la popolazione, gli Ordini e gli allevatori.

**NUMEROSITA' CAMPIONARIA E UNITA' DI CAMPIONAMENTO:**

Carcassa intera o testa.

**Sorveglianza attiva**: numero minimo di volpi indicato nella tabella sottostante e derivato da quanto assegnato per la stagione di abbattimenti del 2010 (piano faunistico venatorio).

Prevalenza attesa 1% IC 95%. Allocazione proporzionale sulla provincia.

**Sorveglianza passiva**: secondo quanto conferito

Province	ASSEGNATO (carniere 2010)	specie	campioni da conferire per provincia
AL	1084	volpe	43
AT	506	volpe	20
BI	329	volpe	13
CN	2165	volpe	87
NO	549	volpe	22
TO	1861	volpe	75
VC	530	volpe	21
VCO	300	volpe	12
<b>totale</b>	<b>7324</b>		<b>294</b>

*Numero di capi da sottoporre a prelievo per la sorveglianza attiva*

# TUBERCOLOSI

## SPECIE

Ordine Artiodactyla Famiglia Suidae: Cinghiale (*Sus scrofa*)

Ordine Artiodactyla Famiglia Cervidae: Cervo (*Cervus elaphus*), Daino (*Dama dama*), Capriolo (*Capreolus capreolus*);

Ordine Artiodactyla Famiglia Bovidae: Camoscio (*Rupicapra rupicapra*), Stambecco (*Capra ibex*), muflone (*Ovis musimon*)

**TIPO DI SORVEGLIANZA: ATTIVA** (prelievo venatorio) e **PASSIVA** (animali rinvenuti morti o soppressi con sintomatologia o defedati. Abbattimenti sanitari. Sospetti inviati da UNITO nel rispetto di vincoli di anamnesi- provenienza e data abbattimento)

## CASO SOSPETTO

Carcassa di specie sensibile che mostra lesioni compatibili con micobatteriosi;

Animale di specie sensibile proveniente da areali con uno o più focolai di tubercolosi bovina in animale selvatico (correlazione epidemiologica)

## CASO CONFERMATO

Carcassa/organi di specie sensibile per la quale venga confermata l'infezione da: *M. bovis*, *M. caprae*, *M. tuberculosis* mediante isolamento batteriologico.

## MATRICE DI PRELIEVO:

Tutte le specie: organi e/o tessuti con lesioni sospette

Cinghiale: carcassa o linfonodi retrofaringei

Ruminanti: carcassa o polmone e/o linfonodi (mediastinici e/o retrofaringei e/o tracheobronchiali)

**PROTOCOLLO DIAGNOSTICO** (prevede esame anatomopatologico e fase di preparazione campioni)

Isolamento batteriologico e tipizzazione molecolare degli isolati (in uso protocollo diagnostico integrato basato su tecniche microbiologiche, molecolari e istopatologiche)

**MISURE DI MITIGAZIONE IN CASO DI POSITIVITA'**: intensificazione della sorveglianza passiva. Approfondimenti sulle sottopopolazioni locali di selvatici sensibili, con tipizzazione del ceppo, soprattutto in funzione della densità e della tipologia di allevamenti zootecnici di specie recettive, intensificazione delle misure di biosicurezza sui domestici, secondo indicazioni del Centro Nazionale di Referenza.

**NUMEROSITA' CAMPIONARIA E UNITA' DI CAMPIONAMENTO (riportati nelle tabelle sottostanti):**

**Ruminanti selvatici**

Sorveglianza attiva e passiva: polmoni, organi con lesioni sospette.

Prevalenza attesa 1% IC 95%.

Sorveglianza passiva: carcassa

Province	specie	campioni totali da conferire per provincia
AL	capriolo	48
AT	capriolo	21
BI	capriolo	21
CN	capriolo	38
	camoscio	25
	cervo	13
NO	capriolo	12
TO	capriolo	20
	camoscio	30
	cervo	10
VC	capriolo	7
	camoscio	14
VCO	capriolo	12
	camoscio	18
	cervo	6
<b>totale</b>		<b>295</b>

*Numero di capi da sottoporre a prelievo per la sorveglianza attiva*

## Cinghiale

**Sorveglianza attiva:** linfonodi retrofaringei. Prevalenza 3%

**Sorveglianza passiva** su capi con lesioni sospette: linfonodi retrofaringei prevalenza 3%

Province	campioni da conferire per provincia
AL	14
AT	7
BI	4
CN	29
NO	7
TO	25
VC	7
VCO	4
<b>totale</b>	<b>98</b>

*Numero di capi da sottoporre a prelievo per la sorveglianza attiva*

# BRUCELLOSI

**SPECIE** ungulati selvatici e lagomorfi

Ordine Artiodactyla Famiglia Cervidae: Cervo (*Cervus elaphus*), Daino (*Dama dama*), Capriolo (*Capreolus capreolus*)

Ordine Artiodactyla Famiglia Bovidae: Camoscio (*Rupicapra rupicapra*), Stambecco (*Capra ibex*), muflone (*Ovis musimon*).

Ordine Artiodactyla Famiglia Suidae: Cinghiale (*Sus scrofa*), *reservoir* per B. suis biovar 1, 2 e 3

Ordine Lagomorpha Famiglia Leporidae: Lepre europea (*Lepus europaeus*), *reservoir* per B. suis biovar 2

**TIPO DI SORVEGLIANZA:** **ATTIVA** (prelievo venatorio) e **PASSIVA** (animali rinvenuti morti o soppressi con sintomatologia o defedati, animali vivi con sintomi presenti nei CRAS. Abbattimenti sanitari).

## CASO SOSPETTO

- animale di specie sensibile che mostra sintomi clinici riferibili a brucellosi (ad esempio zoppie, aborto)
- animale di specie sensibile che reagisce positivamente a test sierologici (siero/spremuta polmonare)
- animale di specie sensibile proveniente da areali con uno o più focolai di tubercolosi bovina in animale selvatico (correlazione epidemiologica)

## CASO CONFERMATO

animale di specie sensibile per il quale venga confermata l'infezione mediante isolamento batteriologico di B. melitensis, B. abortus, B. ovis o B. suis.

## MATRICE DI PRELIEVO:

**Sorveglianza attiva:** milza e polmone (per lo spremuto) appaiati. In alternativa milza e coagulo cardiaco (siero).

**Sorveglianza passiva:** carcassa o organi con lesioni sospette (testicoli, utero, linfonodi sopramammari e inguinali (per le femmine), mammella, prodotti dell'aborto) per l'isolamento batteriologico

**PROVA DIAGNOSTICA** (prevede esame anatomopatologico e fase di preparazione campioni)

INDIRETTA (sierologia):

- Fissazione del complemento
- Rose Bengal Test

DIRETTA

- Isolamento batteriologico (PCR su casi particolari):

**MISURE DI MITIGAZIONE IN CASO DI POSITIVITA':**

intensificazione della sorveglianza passiva. Approfondimenti sulle sottopopolazioni locali di selvatici sensibili, con tipizzazione del ceppo, soprattutto in funzione della densità e della tipologia di allevamenti zootecnici di specie recettive, intensificazione delle misure di biosicurezza sui domestici, secondo indicazioni del Centro Nazionale di Referenza. Intensificazione della periodicità dei controlli e definizione di aree territoriali in cui effettuare controlli sistematici. Valutazione di eventuali restrizioni alle attività di alpeggio.

**NUMEROSITA' CAMPIONARIA E UNITA' DI CAMPIONAMENTO:**

**Cinghiale**

- siero, coagulo cardiaco, polmone per FdC
- milza, per isolamento

vedi tabella Prevalenza 3 % IC 95 Allocazione proporzionale sulla provincia

Province	campioni da conferire per provincia
AL	16
AT	10
BI	10
CN	16
NO	10
TO	16
VC	10
VCO	10
<b>totale</b>	<b>98</b>

*Numero di capi da sottoporre a prelievo per la sorveglianza attiva*

### **Ruminanti selvatici: CAPRIOLO (cervo e camoscio)**

- siero, coagulo cardiaco, polmone per FdC
- milza, per isolamento

vedi tabella Prevalenza 3 % IC 95 Allocazione proporzionale sulla provincia

Province	specie	campioni totali da conferire per provincia
AL	capriolo	16
AT	capriolo	7
BI	capriolo	7
CN	capriolo	13
	camoscio	8
	cervo	4
NO	capriolo	4
TO	capriolo	7
	camoscio	10
	cervo	3
VC	capriolo	3
	camoscio	4
VCO	capriolo	4
	camoscio	6
	cervo	2
<b>totale</b>		<b>98</b>

*Numero di capi da sottoporre a prelievo per la sorveglianza attiva*

# PESTE SUINA CLASSICA

**SPECIE** Ordine Artiodactyla Famiglia Suidae: Cinghiale (*Sus scrofa*)

**TIPO DI SORVEGLIANZA: ATTIVA** (prelievo venatorio) e **PASSIVA** (animali rinvenuti morti o soppressi con sintomatologia o defedati, abbattimenti sanitari)

## CASO SOSPETTO

- animale o carcassa con sintomi o lesioni post-mortem compatibili con la malattia
- animale che reagisce positivamente a un test sierologico o biomolecolare di screening
- 

## CASO CONFERMATO

- animale o carcassa per la quale venga confermata l'infezione mediante isolamento virologico o sieroneutralizzazione differenziale
- animale o carcassa con esito positivo ad un esame biomolecolare (caso correlato a focolaio accertato).

## MATRICE DI PRELIEVO:

Sorveglianza attiva: milza e coagulo cardiaco (siero) appaiati.

Sorveglianza passiva: carcassa oppure tonsille, linfonodi (mandibolari, mesenterici, ileocecali), rene

**PROVA DIAGNOSTICA** (prevede esame anatomopatologico e fase di preparazione campioni)

INDIRETTA (sierologia)

- ELISA DI SCREENING
- Sieroneutralizzazione differenziale

DIRETTA

- IFD
- RT-PCR
- Isolamento virologico (per conferma):

**MISURE DI MITIGAZIONE IN CASO DI POSITIVITA'**: intensificazione del monitoraggio, allerta agli allevatori, rafforzamento delle misure di biosicurezza, secondo indicazioni del Centro Nazionale di Referenza.

**NUMEROSITA' CAMPIONARIA E UNITA' DI CAMPIONAMENTO:**

- siero, coagulo cardiaco, e milza

prevalenza 3%

Province	campioni da conferire per provincia
AL	16
AT	10
BI	10
CN	16
NO	10
TO	16
VC	10
VCO	10
<b>totale</b>	<b>98</b>

*Numero di capi da sottoporre a prelievo per la sorveglianza attiva*

# INFLUENZA AVIARIA

**SPECIE** tutte le specie aviarie con particolare attenzione alle specie acquatiche con attitudine migratoria: anseriformi (anatidi e limicoli) e caradriformi (gabbiani e laridi).

**TIPO DI SORVEGLIANZA: PASSIVA** (animali rinvenuti morti o abbattuti con sintomatologia, animali provenienti da CRAS.). I numeri serviranno anche per integrare quanto previsto dal Piano Nazionale.

## CASO SOSPETTO

- animale o carcassa con sintomi o lesioni post-mortem compatibili con la malattia
- carcassa rinvenuta in aree con mortalità anomale dell'avifauna

## CASO CONFERMATO

Animale o carcassa di specie sensibile per la quale venga confermata l'infezione mediante identificazione e sequenziamento di RNA virale (RT-PCR) o isolamento del virus

## MATRICE DI PRELIEVO

- Carcassa
- tamponi cloacali e faringei per animali vivi

**PROTOCOLLO DIAGNOSTICO** (prevede esame anatomopatologico e fase di preparazione campioni)

- RT-PCR e sequenziamento per D/D HPAI e LPAI
- Isolamento virale su uova embrionate e tipizzazione mediante inibizione dell'emoagglutinazione e della neuroaminidasi

**MISURE DI MITIGAZIONE IN CASO DI POSITIVITA'**: alta patogenicità – attivazione misure di emergenza; intensificazione delle misure di biosicurezza e impedimento dell'accesso agli allevamenti; intensificazione della sorveglianza clinica ed eventualmente sierologia/virologica negli allevamenti presenti, secondo indicazione del Centro di Referenza Nazionale.

## NUMEROSITA' CAMPIONARIA E UNITA' DI CAMPIONAMENTO:

prevalenza circa 3%

Province	campioni da conferire per provincia
AL	10
AT	10
BI	10
CN	16
NO	16
TO	16
VC	16
VCO	16
<b>totale</b>	<b>110</b>

*Numero di capi da sottoporre a prelievo per la sorveglianza passiva*

# WEST NILE

**SPECIE** avifauna. Preferibilmente esemplari degli ordini ritenuti a rischio dal Piano Nazionale: Passeriformi, Ciconiiformi, Caradriiformi, Falconiformi e Strigiformi

**TIPO DI SORVEGLIANZA: Passiva** (animali rinvenuti morti di specie a rischio, o conferiti dai CRAS nel rispetto di vincoli di anamnesi - provenienza e data di morte). I numeri serviranno anche per integrare quanto previsto dal Piano Nazionale.

## CASO SOSPETTO

- carcassa o animale per il quale viene riscontrata una positività al test RT-PCR

## CASO CONFERMATO

- carcassa o animale per il quale viene riscontrata positività al test (RT-PCR)

## MATRICE DI PRELIEVO

- Carcassa

**PROTOCOLLO DIAGNOSTICO** (prevede esame anatomopatologico e fase di preparazione campioni)

- RT-PCR

**MISURE DI MITIGAZIONE IN CASO DI POSITIVITA'**: applicazione delle misure previste dal Piano Nazionale e secondo le indicazioni del Centro di Referenza

## NUMEROSITA' CAMPIONARIA E UNITA' DI CAMPIONAMENTO:

Prevalenza circa 3%

<b>Province</b>	<b>campioni da conferire per provincia</b>
AL	10
AT	10
BI	10
CN	16
NO	16
TO	16
VC	16
VCO	16
<b>totale</b>	<b>110</b>

*Numero di capi da sottoporre a prelievo per la sorveglianza passiva*

# MALATTIA DI AUJESZKY

## SPECIE

Ordine Artiodactyla Famiglia Suidae: Cinghiale (*Sus scrofa*) reservoir

Mammiferi (fondi ciechi epidemiologici) con lesioni sospette (“aspetto impagliato”, lesioni da autotraumatismo quali ad es. grattamento, morsi e graffi)

**TIPO DI SORVEGLIANZA:** Attiva (prelievo venatorio) e passiva per il cinghiale; passiva per le altre specie (animali con sintomi e/o lesioni sospette)

## CASO SOSPETTO

- animale di specie sensibile con sintomi o lesioni post-mortem compatibili con la malattia
- animale di specie sensibile proveniente da areali con uno o più casi di malattia di Aujeszky (correlazione epidemiologica)

## CASO CONFERMATO

animale di specie sensibile per la quale venga confermata l'infezione mediante IFD, isolamento virologico o identificazione di DNA virale in organi e tessuti

## MATRICE DI PRELIEVO:

**Sorveglianza attiva:** polmoni e coagulo (siero) appaiati.

**Sorveglianza passiva:** carcassa /testa

**PROTOCOLLO DIAGNOSTICO** (prevede esame anatomopatologico e fase di preparazione campioni)

INDIRETTA (sierologia):

- ELISA

DIRETTA

- IFD (Immunofluorescenza diretta)
- PCR
- Isolamento virale su colture cellulari:

**MISURE DI MITIGAZIONE IN CASO DI POSITIVITA'**: estensione del monitoraggio sui selvatici sensibili e intensificazione delle misure di biosicurezza e allerta presso gli allevatori del territorio interessato; intensificazione del controllo diagnostico.

**NUMEROSITA' CAMPIONARIA E UNITA' DI CAMPIONAMENTO:**

Prevalenza 10% precisione 5 e IC 95% calcolo stima su base regionale. Allocazione proporzionale sulla provincia

Province	campioni da conferire per provincia
AL	21
AT	10
BI	6
CN	41
NO	10
TO	35
VC	10
VCO	6
<b>totale</b>	<b>139</b>

*Numero di capi da sottoporre a prelievo per la sorveglianza attiva*

# MALATTIA DI NEWCASTLE

**SPECIE** avifauna selvatica

**TIPO DI SORVEGLIANZA:** **Passiva** (animali rinvenuti morti di specie a rischio, o conferiti dai CRAS nel rispetto di vincoli di anamnesi - provenienza e data di morte) e attiva.

## CASO SOSPETTO

- animale di specie sensibile con sintomi o lesioni post-mortem compatibili con la malattia
- carcassa rinvenuta in aree con mortalità anomale dell'avifauna

## CASO CONFERMATO

Animale o carcassa di specie sensibile per la quale venga confermata l'infezione mediante identificazione e sequenziamento di RNA virale (RT-PCR) o isolamento del virus (eventuale verifica di patogenicità)

## MATRICE DI PRELIEVO

- carcassa
- tamponi faringei, cloacali o sangue se vivi

**PROTOCOLLO DIAGNOSTICO:** (prevede esame anatomopatologico e fase di preparazione campioni)

- RT- RT-PCR
- Isolamento virologico

**MISURE DI MITIGAZIONE IN CASO DI POSITIVITA':** raccomandazione sui piani di vaccinazione, intensificazione delle misure di biosicurezza e allerta presso gli allevatori del territorio interessato; raccomandazione sulla necessità della vaccinazione degli allevamenti rurali.

## NUMEROSITA' CAMPIONARIA E UNITA' DI CAMPIONAMENTO:

Prevalenza circa 3%

<b>Province</b>	<b>campioni da conferire per provincia</b>
AL	10
AT	10
BI	10
CN	16
NO	16
TO	16
VC	16
VCO	16
<b>totale</b>	<b>110</b>

*Numero di capi da sottoporre a prelievo per la sorveglianza passiva*

# TRICHINELLOSI

## **SPECIE:**

Ordine Artiodactyla Famiglia Suidae: Cinghiale (*Sus scrofa*)

Ordine Carnivora, Famiglia Canidae: Volpe (*Vulpes vulpes*), Lupo (*Canis lupus*);

Ordine Carnivora, Famiglia Mustelidae: Martora (*Martes martes*), Faina (*Martes foina*),  
Puzzola (*Mustela putorius*), Ermellino (*Mustela erminea*), Donnola (*Mustela nivalis*), Tasso  
(*Meles meles*);

**TIPO DI SORVEGLIANZA passiva** (animali rinvenuti morti di specie a rischio).

**CASO SOSPETTO** NO SINTOMI CLINICI O LESIONI MACROSCOPICHE

## **CASO CONFERMATO**

Carcassa per la quale venga confermata l'infezione mediante la visualizzazione di larve di *Trichinella* spp. nel tessuto muscolare

## **MATRICE DI PRELIEVO**

- Carcassa

**PROTOCOLLO DIAGNOSTICO:** (prevede esame anatomopatologico e fase di preparazione campioni)

Esame trichinoscopico per digestione

**MISURE DI MITIGAZIONE IN CASO DI POSITIVITA':** informazione alla popolazione sulla gestione e manipolazione delle carni

## **NUMEROSITA' CAMPIONARIA E UNITA' DI CAMPIONAMENTO**

secondo quanto conferito

# **SALMONELLOSI**

**SPECIE** tutte le specie di mammiferi e di avifauna selvatica

**TIPO DI SORVEGLIANZA passiva** (animali rinvenuti morti o defedati o conferiti dai CRAS)

## **CASO SOSPETTO**

Animale o carcassa con sintomi o lesioni post-mortem compatibili con la malattia

## **CASO CONFERMATO**

carcassa di specie sensibile per la quale venga confermata l'infezione da Salmonella spp mediante isolamento batteriologico

## **MATRICE DI PRELIEVO**

- Carcassa

**PROTOCOLLO DIAGNOSTICO** (prevede esame anatomopatologico e fase di preparazione campioni)

- isolamento batteriologico e successiva identificazione/tipizzazione

**MISURE DI MITIGAZIONE IN CASO DI POSITIVITA'**: informazione alla popolazione sulla gestione e manipolazione delle carni

## **NUMEROSITA' CAMPIONARIA E UNITA' DI CAMPIONAMENTO**

secondo quanto conferito

# ECHINOCOCCOSI

## SPECIE

### OSPITI DEFINITIVI

Ordine Carnivora, Famiglia Canidae: Volpe (*Vulpes vulpes*), Lupo (*Canis lupus*)

### OSPITI INTERMEDI

Ordine Artiodactyla Famiglia Suidae: Cinghiale (*Sus scrofa*)

Ordine Artiodactyla Famiglia Cervidae: Cervo (*Cervus elaphus*), Daino (*Dama dama*), Capriolo (*Capreolus capreolus*);

Ordine Artiodactyla Famiglia Bovidae: Camoscio (*Rupicapra rupicapra*), Stambecco (*Capra ibex*).

**TIPO DI SORVEGLIANZA passiva** (animali rinvenuti morti o defedati o conferiti dai CRAS)

### CASO SOSPETTO

- assenza di lesioni o sintomi negli ospiti definitivi
- carcassa di ospiti intermedi che mostra lesioni compatibili con echinococcosi;

### CASO CONFERMATO

- carcassa di ospite definitivo per la quale venga confermata l'infestazione mediante un esame parassitologico o biomolecolare
- carcassa di ospite intermedio per la quale venga confermata l'infezione mediante un esame anatomo-patologico/isto-patologico

### MATRICE DI PRELIEVO

Carcassa

Organi con lesioni sospette (ospiti intermedi)

**PROTOCOLLO DIAGNOSTICO** (prevede esame anatomopatologico e fase di preparazione campioni)

- esame parassitologico
- PCR

**MISURE DI MITIGAZIONE IN CASO DI POSITIVITA'**: informazione alla popolazione, trattamenti antiparassitari per animali domestici/cani da caccia e da guardiania soprattutto in funzione della densità e della tipologia di allevamenti zootecnici, intensificazione delle misure di biosicurezza.

#### **NUMEROSITA' CAMPIONARIA E UNITA' DI CAMPIONAMENTO**

Secondo quanto conferito

**ALLEGATO B**

# **MANUALE D'USO**



# ATTIVITÀ DI CAMPIONAMENTO

## MODALITA' DI PRELIEVO

Tutte le operazioni di prelievo devono essere eseguite indossando gli appositi dispositivi di protezione individuale (guanti monouso, camice monouso, etc.).

Possono essere prelevate tipologie differenti di campioni:

carcassa in toto;

coagulo cardiaco / siero ;

organi / tessuti;

porzioni anatomiche (es. testa);

tamponi (es. cloacali, oro-faringei).

### **Nota bene:**

i campioni devono essere inviati solo se in buono stato di conservazione;

- per i campioni di **siero** è preferibile procedere alla centrifugazione del campione di sangue, dopo circa 30 minuti dal prelievo (1500-2000 giri x 10 minuti) con separazione del siero per successivo invio;

- per i campioni di **polmone** inviati per esame sierologico (Brucellosi, Aujeszky) prelevare una porzione di circa 6-7 cm di lato.

## MODALITA' DI CONFEZIONAMENTO

Tutti i campioni devono essere inviati in **triplo** involucro (contenitore a chiusura ermetica per materiale biologico).

In particolare, l'involucro primario per i **coaguli cardiaci** deve essere un barattolo sterile con tappo ermetico, a vite.

In caso di invio di più campioni con una sola documentazione di accompagnamento è fondamentale il confezionamento separato di ogni campione (il 3° involucro può essere unico per tutti i campioni).

L'identificazione del/i campione/i, che deve essere UNIVOCA (numerica, e/o di matrice, es.: fegato 1, fegato 2, etc);

deve essere effettuata:

> scrivendo l'identificativo direttamente sul 1° involucro con pennarello **indelebile**

oppure

> tramite etichetta cartacea contenuta all'interno di un involucro plastico, per evitare illeggibilità da imbrattamento.

La documentazione di accompagnamento deve essere posta esternamente ai contenitori di imballaggio, protetta da involucro plastico.

## TEMPERATURE DI MANTENIMENTO DEI CAMPIONI

CARCASSE/ORGANI:

**4°C** (con invio entro 24 h dal prelievo); **-18°C** (con invio oltre 24 h dal prelievo).

Nel caso di carcasse di avifauna da sottoporre a indagini diagnostiche per la ricerca di virus West Nile è consentita la sola conservazione e temperatura di refrigerazione di 4°C o eventualmente a **-80°C**

CARCASSA/TESTA di animale di cui si richiede esame neuropatologico:

**esclusivamente a 4°C**( con invio entro 24 h dal prelievo).

ORGANI di animale di cui si richiede esame istopatologico :

**esclusivamente a 4°C**( con invio entro 24 h dal prelievo).

COAGULO CARDIACO:

**4°C** (per invio entro 24-48 h dal prelievo)

SIERO:

4°C (con invio entro 24-48 h dal prelievo) ); -18°C(con invio oltre 48 h dal prelievo)

(NB: congelamento non superiore a 1 mese).

TAMPONI (cloacali, tracheali, etc.):

- a secco, a **4°C** (con invio entro 12 h dal prelievo) (es.: per tampone tracheale di volatile);

- in soluzione antibiotata o altro mezzo di trasporto, forniti su richiesta dal Laboratorio di Diagnostica molecolare virologica ed Ovocoltura, Sede di Torino (011/2686272), a 4°C, con invio entro 24 h dal prelievo (es. per tampone cloacale di volatile)

### MODALITA' DI INVIO

I campioni devono essere inviati all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta - Sede di Torino, Via Bologna 148 - 10154 Torino, o alle Sezioni Diagnostiche Provinciali, che provvederanno al conferimento alla Sede Centrale.

#### **Attività analitica & Laboratori di riferimento / contatti:**

Esami necroscopici - anatomo-patologici – batteriologici – parassitologici – immunofluorescenza diretta

Laboratorio di Patologia Animale e Diagnostica Specialistica e Rabbia: 011/2686242-244-250

(Dr. A.Dondo, Dr.ssa S.Zoppi) ([patologia.animale@izsto.it](mailto:patologia.animale@izsto.it))

Esami sierologici malattie batteriche/protozoarie

Laboratorio di Sierologia: 011/2686289-288-231(Dott.ssa S.Gennero)  
([mariasilvia.gennero@izsto.it](mailto:mariasilvia.gennero@izsto.it))

Esami virologici e sierologia virologica

Laboratorio di Virologia: 011/2686248-247 (Dr.ssa L.Masoero) ([loretta.masoero@izsto.it](mailto:loretta.masoero@izsto.it))  
([virologia@izsto.it](mailto:virologia@izsto.it))

Esami virologici e biologia molecolare

Laboratorio di Diagnostica molecolare, Virologica e Ovocoltura: 011/2686272-326 (Dr.ssa M.L.Mandola) ([marialucia.mandola@izsto.it](mailto:marialucia.mandola@izsto.it)) ([virologia.ovocoltura@izsto.it](mailto:virologia.ovocoltura@izsto.it))

Esami neuropatologici

Laboratorio di Neuropatologia: 011/2686261-296-341(Dr.ssa C.Casalone)  
([cristina.casalone@izsto.it](mailto:cristina.casalone@izsto.it)) ([cea@izsto.it](mailto:cea@izsto.it))

Esami istopatologici

Laboratorio di Istopatologia: 011/2686362/361 (Dr.ssa E.Bozzetta) ([elena.bozzetta@izsto.it](mailto:elena.bozzetta@izsto.it))  
([istopatologia@izsto.it](mailto:istopatologia@izsto.it))

Esami biomolecolari

Laboratorio di Microbiologia Molecolare e Analisi genomiche: 011/2686262-263 (Dr.ssa M.Goria) ([mariella.goria@izsto.it](mailto:mariella.goria@izsto.it)) ([biotecnologie.ufficio@izsto.it](mailto:biotecnologie.ufficio@izsto.it))

Esami per ricerca Trichinella spp.

Laboratorio di Controllo Alimenti: 011/2686240 (Dr.ssa L.Decastelli)  
([lucia.decastelli@izsto.it](mailto:lucia.decastelli@izsto.it))

Centro di Referenza Nazionale per le Malattie degli Animali Selvatici:0165/238558 (Dr. Orusa) ([cermas@izsto.it](mailto:cermas@izsto.it))

Esami per diagnosi di echinococcosi - cheratocongiuntivite (isolamento)

Laboratorio di Diagnostica Specialistica Fauna Selvatica: 0165/238558 (Dr.Orusa)  
([riccardo.orusa@izsto.it](mailto:riccardo.orusa@izsto.it))

**Gestione e Rielaborazione Dati:**

Osservatorio Epidemiologico: 011/2686317 (Dr.ssa L.Chiavacci) ([laura.chiavacci@izsto.it](mailto:laura.chiavacci@izsto.it))

## **PRINCIPALI PATOLOGIE CONTROLLATE & TECNICHE DIAGNOSTICHE**

### **RABBIA**

**Immunofluorescenza diretta (IFD)** (carcassa o testa fresche/congelate):

per la ricerca dell'antigene virale, mediante allestimento di striscio di omogenato encefalico (ev. ghiandolare), e trattamento con anticorpi marcati con fluoresceina.

**Prova biologica** (su topino):

in caso di animali morsicatori viene inoculata una sospensione di materiale cerebrale, antibiotata, in una famiglia di topini lattanti, ed esame con IFD degli encefali dei topini venuti a morte nel periodo di osservazione. Tempi di esecuzione: 28 gg.

**Colture cellulari:**

in caso di animali morsicatori viene inoculata una sospensione di materiale cerebrale, antibiotata, su un monostrato cellulare (neuro2A). Dopo 72 ore si procede all'esecuzione della prova di immunofluorescenza diretta per la rilevazione dell'antigene virale.

## **TUBERCOLOSI**

### **Esame colturale** (organi freschi/congelati):

per l'isolamento di *Mycobacterium* spp viene eseguito un esame batteriologico con terreni all'uovo e differenti modalità di incubazione, da organi opportunamente toelettati, omogenati, e decontaminati con acidi e alcali; un'aliquota viene destinata alla PCR Hemi-nested da tessuto (esito: rilevato/non rilevato *Mycobacterium* TB complex); in caso di crescita di colonie sospette (verifica delle colture con cadenza settimanale) vengono avviate procedure di identificazione con tecniche biomolecolari (Multiplex PCR-spiligotyping) e/o biochimiche (Colorazione di Ziehl-Neelsen-prove biochimiche); Il rapporto di prova finale comprende l'esito dell'esame colturale, della PCR da tessuto ed eventualmente, se eseguito, dell'esame istologico\*.

\*Esame istologico (su organi NON congelati, in presenza di lesioni sospette): colorazione di ematossilina –eosina, ed eventuale colorazione di Ziehl- Neelsen per bacilli acido-alcool resistenti.

## **BRUCELLOSI**

### **Esame sierologico:**

Tutti i sieri raccolti e non emolizzati saranno sottoposti alle prove di test al Rosa Bengala e di Fissazione di Complemento; i sieri ottenuti dallo spremuto polmonare saranno saggiati con la sola metodica di Fissazione del Complemento. Campioni positivi:  $\geq 20$  U.I (FdC)

### **Esame colturale** (organi freschi/congelati):

per l'isolamento di *Brucella* spp. viene eseguito un esame batteriologico con terreni selettivi, sui visceri previamente cauterizzati in superficie, utilizzando un quantitativo di parenchima pari a circa 20 grammi, nel caso di visceri provenienti da cinghiale o ruminanti selvatici, o inferiore, in caso di visceri provenienti da lagomorfi, opportunamente omogenato; in caso di negatività l'esame è concluso in 21 gg, dalla data di semina; in caso di isolamento positivo (positività all'identificazione morfologica e biochimica del ceppo batterico) l'esame è concluso solo dopo l'identificazione di specie e biotipo, che

viene effettuata dal Centro di Referenza per la Brucellosi presso l'Istituto Zooprofilattico dell'Abruzzo-Molise.

## **PESTE SUINA CLASSICA**

### **Esame sierologico:**

con metodica ELISA competitiva. Si utilizza un kit prodotto dal Centro di Referenza Nazionale delle Pesti (CEREP, presso IZS Umbria e Marche). In caso di esito positivo la conferma avviene mediante sieroneutralizzazione differenziale eseguita presso il CEREP.

### **Immunofluorescenza diretta (IFD) (organi freschi/congelati):**

per la Ricerca dell'antigene virale, mediante allestimento di sezioni di tessuto congelato, al criostato, trattate con anticorpi marcati.

### **RT-PCR per la Ricerca dell'antigene virale (organi freschi/congelati):**

Isolamento virologico eseguito presso il CEREP per conferma

## **INFLUENZA AVIARIA (sorveglianza extra piano nazionale)**

### **Real Time RT-PCR per la Ricerca dell'antigene virale (organi/tamponi freschi):**

la Real Time RT-PCR è seguita da prove di conferma (sequenziamento) in grado di discriminare i ceppi ad alta patogenicità da quelli a bassa sulle stesse matrici impiegate per l'isolamento virale su uova embrionate.

### **Isolamento su uova embrionate SPF:**

una porzione di campioni d'organo (apparato respiratorio, pacchetto intestinale-valvole ileo-ciecali-, encefalo) viene minuzzato e omogeneizzato, trasferito in provetta contenente soluzione antibiotata e centrifugato. Il surnatante viene utilizzato per infettare le uova embrionate di pollo in 9<sup>a</sup>-11<sup>a</sup> giornata di incubazione. Vengono eseguiti in totale, normalmente, 2 passaggi ciechi, seguiti in caso di positività da una fase di identificazione finale per la caratterizzazione dell'isolato.

## **WEST NILE**

### **Real Time RT-PCR per la Ricerca dell'antigene virale (carcassa a temperatura di refrigerazione):**

Da ciascun animale sono prelevati due campioni: SNC e pool d'organi costituito da milza, cuore e rene. Ogni campione è sminuzzato e omogeneizzato e in seguito è sottoposto a estrazione dell'acido ribonucleico (RNA). La Real Time RT-PCR distintiva per i Lineages I e II del virus è quindi effettuata sia sul campione omogeneizzato che sull'estratto (RNA). I campioni positivi sono inviati al Centro di Referenza per le Malattie Esotiche (CESME presso IZS Abruzzo e Molise) per le opportune conferme.

## **MALATTIA DI AUJESZKY**

### **Esame sierologico con metodica ELISA competitiva:**

I campioni di sangue vengono centrifugati e 50 µl di siero dispensati nei pozzetti di una micropiastra. L'esame viene eseguito utilizzando un kit commerciale. Viene eseguita la lettura allo spettrofotometro.

### **Immunofluorescenza diretta (IFD) (organi freschi/congelati):**

per la ricerca dell'antigene virale mediante allestimento di sezioni di tessuto congelato, al criostato, trattate con anticorpi marcati.

### **PCR per la Ricerca dell'antigene virale (organi freschi/congelati)**

### **Isolamento virale (organi freschi/congelati):**

Una porzione del campione d'organo inviato viene sminuzzata, omogeneizzata, trasferita in provetta contenente terreno di coltura e centrifugata. Il surnatante viene utilizzato per infettare il monostrato cellulare sensibile. Dopo incubazione in termostato si osserva il monostrato al microscopio ottico rovesciato per valutare quale diluizione risulta idonea per il passaggio successivo. Solitamente sono necessari tre passaggi su monostrato cellulare per evidenziare la presenza/assenza di effetto citopatico. In presenza di effetto citopatico si procede all'esecuzione della prova di immunofluorescenza diretta, che viene eseguita partendo dal monostrato cellulare al terzo passaggio. Il monostrato viene fissato e trattato con un siero contenente anticorpi marcati con fluorescina. Il campione viene osservato al microscopio a fluorescenza.

## **NEWCASTLE DISEASE**

### **Esame sierologico:**

vengono impiegate due differenti metodiche di IHA (inibizione dell'emoagglutinazione) su siero, previamente trattato in laboratorio.

### **Real Time RT-PCR per la Ricerca dell'antigene virale (organi/tamponi refrigerati):**

Si esegue una Real Time RT-PCR sulle stesse matrici impiegate per l'isolamento virale su uova embrionate.

### **Isolamento su uova embrionate SPF:**

una porzione di campioni d'organo (apparato respiratorio, pacchetto intestinale-valvole ileo-ciecali-, encefalo) viene minuzzato e omogeneizzato, trasferito in provetta contenente soluzione antibiotata e centrifugato. Il surnatante viene utilizzato per infettare le uova embrionate di pollo in 9<sup>a</sup>-11<sup>a</sup> giornata di incubazione. Vengono eseguiti in totale, normalmente, 2 passaggi ciechi, seguiti in caso di positività da una fase di identificazione finale per la caratterizzazione dell'isolato.

## **TRICHINELLOSI**

### **Digestione enzimatica (organi freschi/congelati):**

vengono esaminati 5 grammi di tessuto muscolare (nella volpe, prelevato, se disponibile, dal muscolo tibiale anteriore), secondo il Reg. CE 2075, con digestione enzimatica in agitazione magnetica, con metodo automatico o manuale, ed eseguita lettura con microscopio in campo chiaro.

## **SALMONELLOSI**

### **Esame colturale (feci/organi di carcasse fresche/congelate):**

per l'isolamento di *Salmonella* spp, mediante utilizzo di idonei terreni selettivi; in caso di crescita di colonie sospette vengono avviate procedure di identificazione di specie e/o sierotipo con tecniche biochimiche/sierologiche/biomolecolari

### **ECHINOCOCCOSI (da *Echinococcus granulosus* o *Echinococcus multilocularis* )**

Determinazione dei parassiti adulti del Genere *Echinococcus*, con particolare attenzione per *Echinococcus multilocularis*, applicando la "Sedimentation and Counting Technique (SCT)" (Metodica riconosciuta per la determinazione quantitativa di *Echinococcus multilocularis* in accordo con quanto riportato nello "OIE Terrestrial Manual 2008" per la ricerca di parassiti adulti nell'intestino dell'ospite definitivo).

## **PATOLOGIE “MINORI” CONTROLLABILI & TECNICHE DIAGNOSTICHE**

(elenco patologie di eventuale approfondimento diagnostico da parte I.Z.S.)

**CHERATOCONGIUNTIVITE INFETTIVA** (da *Mycoplasma conjunctivae* o altro *Mycoplasma*)

### **Esame colturale con isolamento**

(tamponi oculo-congiuntivali freschi o refrigerati (evitare il congelamento) di camoscio (*Rupicapra rupicapra*), capriolo (*Capreolus capreolus*), muflone (*Ovis musimon*))

Semina parallela in brodo PPLO e Agar PPLO con incubazione fino a 7-10 giorni (verificando crescita colonie e/o intorbidimento del terreno liquido); semina su Agar sangue e Agar PPLO dei brodi che presentano intorbidimento, con eventuale filtrazione preventiva mediante filtri 0.45 µm, e successiva incubazione fino a 7-10 giorno.

Tempi di esecuzione: 15-20 giorni

**PCR** (tamponi oculo-congiuntivali refrigerati/congelati)

Viene eseguita la ricerca di DNA di *Mycoplasma spp* e *conjunctivae* con metodica PCR.

Tempi di esecuzione: 5 gg

## **PARATUBERCOLOSI**

**Esame colturale** (feci, fresche/congelate):

per l'isolamento di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* viene eseguito un esame batteriologico con differenti terreni all'uovo; in caso di crescita di colonie sospette (verifica delle colture con cadenza mensile) vengono avviate procedure di identificazione con tecniche biomolecolari; l'esame colturale è concluso in 120 gg.

**PCR** (feci, fresche/congelate): ricerca di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* con Heminested-PCR

**Esame istologico:** (valvola ileo-cieco-colica e linfonodi meseraici): colorazione ematossilina-eosina, ed eventuale colorazione di Ziehl-Neelsen per bacilli acido-alcool resistenti

**Esame sierologico**

Viene utilizzata una metodica ELISA indiretta. Tempi di esecuzione: 7 giorni.

## **PASTEURELLOSI**

**Esame colturale** (organi freschi/congelati, con lesioni macroscopiche sospette):

per l'isolamento di *Pasteurella spp.* viene eseguito un esame batteriologico con terreni arricchiti, sui visceri previamente cauterizzati in superficie; in caso di crescita di colonie sospette vengono avviate procedure di identificazione con tecniche biochimiche. Tempi di esecuzione: variabili, legati a presenza/assenza di colonie sospette (da 3 a 7 -10 gg).

## **PATOLOGIE DA CHLAMYDIACEAE**

(organi, tamponi freschi/congelati)

Da volatile vivo: feci, tampone cloacale, nasale, congiuntivale, tracheale, essudato

Da volatile morto: milza, fegato, intestino, reni, pericardio, sacchi aerei

Da ruminante vivo: sangue intero, tamponi vaginali.

Tecniche immunocromatografiche per ricerca antigene, Real Time PCR per ricerca DNA, metodica Elisa per ricerca anticorpi; eventuale isolamento in coltura (se inviati organi freschi).

## **ROGNA**

**Esame parassitologico** (cute, di carcassa fresca/congelata, con lesioni macroscopiche sospette):

viene eseguito un esame parassitologico, previa digestione dei frammenti cutanei raschiati dalle zone sede di lesioni con KOH. L'identificazione di specie avviene con lettura microscopica. Tempi di esecuzione: 24 h.

## **TECNICHE DIAGNOSTICHE SPECIALISTICHE**

### **ESAME NEUROPATOLOGICO SU ANIMALI CON SINTOMATOLOGIA NERVOSA**

#### **Colorazione ematossilina–eosina**

In presenza di un animale con sintomatologia neurologica si prega di contattare il Laboratorio di Neuropatologia per concordare l'invio della carcassa intera o della testa, refrigerata, entro 12-24 ore dalla morte del soggetto. Presso tale Laboratorio verrà effettuato l'esame istologico sul Sistema Nervoso Centrale, al fine di individuare e

caratterizzare le lesioni neuro-patologiche eventualmente presenti, ed eventuale prelievo di altri organi, se inviata la carcassa intera, per esame istologico. Tempi di esecuzione: 15 giorni.

### **ESAME ISTOPATOLOGICO SU LESIONI MACROSCOPICHE (rilevabili in fase di prelievo)**

#### **Colorazione ematossilina-eosina**

In caso di lesioni macroscopicamente rilevabili a carico di organi e tessuti occorre inviare i campioni da sottoporre ad esame istopatologico in condizioni di refrigerazione entro le 12-24 ore dalla morte del soggetto.

Presso il Laboratorio di istopatologia verrà effettuato l'esame istologico per la caratterizzazione delle lesioni.