

LA NUOVA LEGISLAZIONE EUROPEA AHL VISTA DAL LABORATORIO: ALCUNI ESEMPI PRATICI

Salvatore Catania

SCT1 Verona Vicenza, IZS delle Venezie

Fiera Cavalli 2021

Verona 12 novembre, 2021



Programma.. ed alcune considerazioni....

- Come è organizzata la presentazione
 - Evoluzione
 - Cercare di valutare sempre differenti punti di vista
- Il contesto generale
 - La nuova zootecnia e la trasformazione degli alimenti
- Da una Normativa verticale ad una normativa trasversale
- Il laboratorio nel contesto del AHL
 - Da dove partiamo ... art 17 del 429
 - Alcuni interessanti spunti di riflessione
- Considerazioni conclusive



Avvertenze per l'uso

- In alcuni punti salteremo da un regolamento ad un altro ma non ci sono alternative, anzi dobbiamo cercare sempre più un approccio di questo tipo

L'evoluzione della medicina e non solo



La nuova zootecnia e la trasformazione degli alimenti



La nuova zootecnia e la trasformazione degli alimenti



- Il contesto ha determinato la necessita del cambiamento normativo, passaggio da una normativa da verticale a trasversale



Il concetto di network

- ... andiamo ad un considerando



Il concetto di network

- ... andiamo ad un considerando

(51) Una gestione ottimale della sanità animale può essere conseguita soltanto in cooperazione con i detentori di animali, gli operatori, i veterinari, i professionisti della sanità animale, le altre parti interessate e i partner commerciali. Per garantirsi il loro sostegno, è necessario organizzare le procedure decisionali e l'applicazione delle misure di cui al presente regolamento in modo chiaro, trasparente e inclusivo.



Da dove possiamo partire...

- Se non dal 429.... dall'art. 17

Articolo 17

Laboratori di sanità animale

1. I laboratori ufficiali per la sanità animale, costituiti dai laboratori di riferimento dell'Unione, dai laboratori di riferimento nazionali e dai laboratori ufficiali per la sanità animale, nell'esercizio dei loro compiti e responsabilità, cooperano nell'ambito di una rete dell'Unione di laboratori per la sanità animale.



Reg. 625

Articolo 37

Designazione dei laboratori ufficiali

1. Le autorità competenti designano laboratori ufficiali cui far effettuare analisi, prove e diagnosi di laboratorio a partire dai campioni prelevati durante i controlli ufficiali e le altre attività ufficiali nello Stato membro nel cui territorio operano tali autorità competenti o in un altro Stato membro o in un paese terzo che è parte contraente dell'Accordo sullo Spazio economico europeo.

DL 27 2 febbraio 2021

11-3-2021

GAZZETTA UFFICIALE DELLA

Art. 9.

Laboratori ufficiali

1. Ai sensi dell'articolo 37 del Regolamento sono individuati, nei settori di competenza del Ministero della salute di cui all'articolo 2, comma 1, i seguenti laboratori ufficiali:

- a) l'Istituto superiore di sanità (ISS);
- b) gli Istituti zooprofilattici sperimentali (IIZZSS);
- c) i Laboratori di sanità pubblica delle unità sanitarie locali;
- d) i Laboratori delle agenzie per la protezione dell'ambiente (ARPA);
- e) i Laboratori designati quali laboratori nazionali di riferimento (LNR).

Considerando sui laboratori li troviamo nel 625

- Risultati solidi ed affidabili, norme univoche per la scelta dei metodi raccomandati

(47) Per garantire l'affidabilità e la coerenza dei controlli ufficiali e delle altre attività ufficiali in tutta l'Unione, i metodi utilizzati per campionamento, analisi, prove e diagnosi di laboratorio dovrebbero rispondere agli standard scientifici e soddisfare le specifiche necessità del laboratorio interessato in fatto di analisi, prove e diagnosi, permettendo di giungere a risultati solidi e affidabili. È opportuno istituire norme univoche per la scelta del metodo da utilizzare quando esistano diversi metodi raccomandati da varie fonti, quali ad esempio l'Organizzazione europea e mediterranea per la protezione delle piante (OEPP), la convenzione internazionale per la protezione delle piante (IPPC), l'Organizzazione mondiale per la salute animale (OIE), i laboratori di riferimento a livello di Unione e nazionale, o il diritto nazionale.

Sempre nel 625 (competenze, attrezzature personale ed accreditamento)

- (50) I laboratori designati dalle autorità competenti per effettuare analisi, prove e diagnosi a partire da campioni prelevati nel contesto di controlli ufficiali e di altre attività ufficiali dovrebbero possedere competenze, attrezzature, infrastrutture e personale adeguati per eseguire tali compiti nel rispetto degli standard più elevati. Per garantire risultati solidi e affidabili, tali laboratori dovrebbero essere accreditati per l'utilizzo di questi metodi secondo la
- (51) L'accreditamento, se da un lato costituisce lo strumento d'elezione per garantire che i laboratori ufficiali agiscano in conformità di standard elevati, costituisce altresì un processo complesso e costoso, tale da comportare un onere sproporzionato per il laboratorio qualora il metodo di analisi, prova o diagnosi sia particolarmente semplice da eseguire e non richieda procedure o apparecchiature specializzate, come avviene per l'individuazione di Trichine in sede di ispezione, e, a certe condizioni, qualora il laboratorio svolga analisi, prove e diagnosi unicamente nel contesto di altre attività ufficiali ma non di controlli ufficiali.
- (52) Per assicurare un approccio flessibile e proporzionato, in particolare per i laboratori che accertano la sanità di animali o piante, si dovrebbe prevedere l'adozione di deroghe al fine di consentire che alcuni laboratori non siano accreditati per tutti i metodi che essi utilizzano. Ciò avviene in particolare quando non sono disponibili metodi convalidati per individuare organismi nocivi per le piante. L'accreditamento di un laboratorio per tutti i metodi da esso utilizzati a titolo di laboratorio ufficiale potrebbe inoltre non essere immediatamente ottenibile qualora si debba ricorrere a metodi nuovi o modificati di recente, nel caso di rischi emergenti o in situazioni di emergenza. I laboratori ufficiali dovrebbero pertanto essere autorizzati in determinate circostanze ad effettuare analisi, prove e diagnosi per le autorità competenti prima di ottenere il relativo certificato di accreditamento.

Mentre nel 429 (biocontenimento)

- (53) Per evitare che agenti patogeni si diffondano da laboratori, istituti e altri impianti di manipolazione dei medesimi, è essenziale che tali strutture adottino misure appropriate di biosicurezza, bioprotezione e biocontenimento. Il presente regolamento dovrebbe pertanto prevedere misure di sicurezza da rispettare durante la manipolazione o il trasporto di tali agenti patogeni, vaccini e altri prodotti biologici. L'obbligo imposto a tale riguardo dovrebbe applicarsi anche a qualsiasi persona fisica o giuridica coinvolta in tali attività. Al fine di garantire il rispetto delle norme di sicurezza durante la manipolazione di agenti biologici, vaccini e altri prodotti biologici altamente contagiosi, dovrebbe essere delegato alla Commissione il potere di adottare atti, conformemente all'articolo 290 TFUE, riguardo alle misure di sicurezza in tali laboratori, istituti ed impianti e durante gli movimenti di agenti patogeni.

Da dove possiamo partire... ripartiamo

- Se non dal 429.... dall'art. 17

Articolo 17

Laboratori di sanità animale

1. I laboratori ufficiali per la sanità animale, costituiti dai laboratori di riferimento dell'Unione, dai laboratori di riferimento nazionali e dai laboratori ufficiali per la sanità animale, nell'esercizio dei loro compiti e responsabilità, cooperano nell'ambito di una rete dell'Unione di laboratori per la sanità animale.

Articolo 17. Laboratori di sanità animale

- 1. I laboratori ufficiali per la sanità animale, costituiti dai laboratori di riferimento dell'Unione, dai laboratori di riferimento nazionali e dai laboratori ufficiali per la sanità animale, nell'esercizio dei loro compiti e responsabilità, cooperano nell'ambito di una rete dell'Unione di laboratori per la sanità animale.
- 2. I laboratori di cui al paragrafo 1 cooperano sotto il coordinamento dei laboratori di riferimento dell'Unione, al fine di garantire che la sorveglianza, la notifica e la comunicazione delle malattie, i programmi di eradicazione, la definizione dello status di indenne da malattia, i movimenti di animali e prodotti all'interno dell'Unione, il loro ingresso nell'Unione e le esportazioni verso paesi terzi o territori previsti dal presente regolamento si basino su analisi, prove e diagnosi di avanguardia, solide e affidabili.

Articolo 17. Laboratori di sanità animale

- 3.I risultati e le relazioni fornite dai laboratori ufficiali sono soggetti ai principi di riservatezza e segretezza professionale e all'obbligo di notifica all'autorità competente che li ha designati, indipendentemente dalla persona fisica o giuridica che ha chiesto le analisi, prove o diagnosi di laboratorio.

Articolo 17. Laboratori di sanità animale

- 4. Nel caso in cui un laboratorio ufficiale in uno Stato membro conduca analisi diagnostiche su campioni provenienti da animali originari di un altro Stato membro, tale laboratorio ufficiale notifica all'autorità competente dello Stato membro da cui provengono i campioni: a) immediatamente qualsiasi risultato che indichi il sospetto o il rilevamento di una delle malattie elencate di cui all'articolo 9, paragrafo 1, lettera a); b) senza indebito ritardo qualsiasi risultato che indichi il sospetto o il rilevamento di una delle malattie elencate di cui all'articolo 9, paragrafo 1, lettera e), diversa da quelle di cui all'articolo 9, paragrafo 1, lettera a).



Quindi

- Il laboratorio svolge un ruolo definito oltre che importante ... per la individuazione dei patogeni (differenziazione??)



La notifica

CAPO 1

Notifica e comunicazione della malattia

Articolo 18

Notifica all'interno degli Stati membri

1. Gli Stati membri provvedono affinché gli operatori e altre pertinenti persone fisiche o giuridiche:
 - a) notifichino immediatamente all'autorità competente qualora vi siano motivi di sospettare la presenza negli animali di una delle malattie elencate di cui all'articolo 9, paragrafo 1, lettera a), o qualora la presenza di tale malattia sia rilevata negli animali;

31.3.2016

IT

Gazzetta ufficiale dell'Unione europea

L 84/41

- b) notifichino non appena possibile all'autorità competente qualora vi siano motivi di sospettare la presenza negli animali di una delle malattie elencate di cui all'articolo 9, paragrafo 1, lettera e), diversa da quelle di cui all'articolo 9, paragrafo 1, lettera a), o qualora la presenza di tale malattia sia rilevata negli animali;
 - c) notifichino a un veterinario mortalità anomale e altri sintomi di malattie gravi o una riduzione significativa dei tassi di produzione per cause indeterminate, affinché compia ulteriori indagini, compreso il campionamento per effettuare esami di laboratorio laddove la situazione lo esiga.

2. Gli Stati membri possono decidere che le notifiche di cui al paragrafo 1, lettera b), possano essere trasmesse all'autorità competente.



Quali malattie notificare all'AC?

- Le malattie di categoria E (Reg. 2018/1882)
- INFORMAZIONI NOTIFICA:
 - Agente patogeno
 - Date sospetto e conferma
 - Sede focolaio
 - Animali interessati
 - Misure adottate
 - Origine del focolaio
 - Metodi diagnostici



Risulta quindi fondamentale

- Definire il caso sospetto e il caso confermato
- https://ec.europa.eu/food/system/files/2021-07/reg-com_ahw_20210713_ahl_case-def.pdf

Risulta quindi fondamentale

- Definire il caso sospetto e confermato
- https://ec.europa.eu/food/system/files/2021-07/reg-com_ahw_20210713_ahl_case-def.pdf
- Evitare di classificare automaticamente i test "falsi positivi" come caso confermato esclusivamente sulla base dei risultati di laboratorio (eccetto l'isolamento) (ricordarsi di fare discriminazione da eventuali ceppi vaccinali vivi attenuati)

● Dove possiamo cercare risposte alla nostra domanda...

- REGOLAMENTO DELEGATO (UE) 2020/689 DELLA COMMISSIONE del 17 dicembre 2019
- che integra il regolamento (UE) 2016/429 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda le norme relative alla sorveglianza, ai programmi di eradicazione e allo *status* di indenne da malattia per determinate malattie elencate ed emergenti
- **Risulta fondamentale tenere a mente il concetto di network**

Da dove possiamo partire... se non dai considerando

- **REGOLAMENTO DELEGATO (UE) 2020/689 DELLA COMMISSIONE del 17 dicembre 2019**

(17) Le definizioni di caso sospetto e di caso confermato di una malattia elencata e, se del caso, di una malattia emergente sono di importanza fondamentale. Consentono infatti agli operatori, ai veterinari e ad altre parti interessate coinvolte nella sorveglianza di individuare le circostanze nelle quali sono necessarie la notifica all'autorità competente e l'applicazione, da parte di questa, delle misure di controllo delle malattie. È pertanto necessario stabilire criteri generali per le definizioni di caso sospetto e di caso confermato e fornire, ove necessario, definizioni specifiche per malattia, in funzione delle caratteristiche specifiche di determinate malattie.

Da dove possiamo partire... se non dai considerando

- **REGOLAMENTO DELEGATO (UE) 2020/689 DELLA COMMISSIONE del 17 dicembre 2019**

(36) Nell'applicare le misure di controllo delle malattie in risposta a un caso sospetto o confermato, l'autorità competente dovrebbe introdurre determinati divieti di movimento degli animali. L'autorità competente dovrebbe tuttavia avere anche la possibilità di consentire il movimento di determinati animali dallo stabilimento in cui è detenuto un caso sospetto o confermato per tenere conto delle condizioni di benessere degli animali e per favorire la sostenibilità delle misure di controllo delle malattie.

Conferma della malattia e definizioni di caso

Articolo 8

Criteria per la conferma ufficiale delle malattie elencate, diverse dalle malattie di categoria A, e di determinate malattie emergenti e la successiva conferma dei focolai

1. Se sospetta la presenza di malattie elencate, diverse da una malattia di categoria A, o di una malattia emergente, l'autorità competente conduce un'indagine per confermare o escludere la presenza di tale malattia quando:
 - a) occorre determinare lo stato sanitario dello Stato membro o di una zona o un compartimento dello stesso; oppure
 - b) occorre raccogliere le informazioni necessarie sull'insorgenza della malattia per uno dei seguenti scopi:
 - i) l'attuazione di misure per proteggere la sanità animale o la salute umana;
 - ii) l'attuazione delle prescrizioni in materia di sanità animale per i movimenti di animali o prodotti; oppure
 - iii) il rispetto delle prescrizioni stabilite in un programma di sorveglianza dell'Unione.
2. L'autorità competente conferma un focolaio di una delle malattie di cui al paragrafo 1 quando ha classificato un animale o un gruppo di animali come un caso confermato di tale malattia conformemente all'articolo 9, paragrafo 2.

Il perché



Articolo 8

- 2.. L'autorità competente conferma un focolaio di una delle malattie di cui al paragrafo 1 quando ha classificato un animale o un gruppo di animali come un caso confermato di tale malattia conformemente all'articolo 9, paragrafo 2..

Caso Confermato

Articolo 9

Definizioni di caso

2. L'autorità competente classifica un animale o un gruppo di animali come un caso confermato di una malattia elencata o di una malattia emergente quando:
- a) in un campione prelevato da un animale o da un gruppo di animali è stato isolato l'agente patogeno, ad eccezione dei ceppi vaccinali;
 - b) in un campione prelevato da un animale o da un gruppo di animali che presentano segni clinici compatibili con la malattia o una connessione epidemiologica con un caso sospetto o confermato è stato individuato un antigene o un acido nucleico specifico dell'agente patogeno, non derivante dalla vaccinazione; oppure
 - c) in un campione prelevato da un animale o da un gruppo di animali che presentano segni clinici compatibili con la malattia o una connessione epidemiologica con un caso sospetto o confermato è stato ottenuto un risultato positivo, non derivante dalla vaccinazione, utilizzando un metodo diagnostico indiretto.



Caso Sospetto

Articolo 9

Definizioni di caso

1. L'autorità competente classifica un animale o un gruppo di animali come un caso sospetto di una malattia elencata o di una malattia emergente quando:
 - a) gli esami clinici, post mortem o di laboratorio concludono che i segni clinici, le lesioni post mortem o i risultati istologici sono indicativi della presenza di tale malattia;
 - b) i risultati ottenuti utilizzando un metodo diagnostico indicano la probabile presenza della malattia in un campione prelevato da un animale o da un gruppo di animali; oppure
 - c) è stata stabilita una connessione epidemiologica con un caso confermato.

E poi i commi 3 e alla fine il 4

Articolo 9

Definizioni di caso

3. Le definizioni specifiche per malattia di caso sospetto e di caso confermato delle malattie elencate sono stabilite nell'allegato I per gli animali terrestri e nell'allegato VI, parte II, capitoli da 1 a 6, sezione 5, punto 3, per gli animali acquatici.

4. In assenza di definizioni specifiche per malattia a norma del paragrafo 3, i criteri di cui ai paragrafi 1 e 2 si applicano alle definizioni di caso sospetto e di caso confermato delle malattie elencate e, se del caso, delle malattie emergenti.

- Sistema a cascata (trasversalità)

Art. 9 *in pillole*

- Comma 1 sospetto
- Comma 2 confermato
 - a) isolamento con eccezione ceppi vaccinali
 - b) antigene o DNA/RNA (non derivante da vaccinazione) rilevato in animali che presentano segni clinici compatibili con al malattia o in animali contatto..
 - c) sierologia positiva non derivante da vaccinazione in animali che presentano segni clinici compatibili con al malattia o in animali contatto..

Alcune considerazioni preliminari...

- Ad eccezione di un isolamento (escludendo i ceppi vaccinali isolabili) è necessario che ci siano segni clinici compatibili oppure una connessione epidemiologica con un caso sospetto o confermato (es normativa sull'AI)
- Il ruolo del Medico Veterinario è fondamentale in caso di rilevazione di antigene/acido nucleico e sierologia (correlazione della sintomatologia alla positività rilevata e valutazione *status* vaccinale)
- Sistemi di differenziazione dei ceppi vaccinali dai ceppi di campo.....



Contesto

- Non tutte le malattie elencate (lettera a, b, c, d, e)
 - risultano essere eradiccate dal territorio EU
 - alcune sono endemiche in specifiche aree
 - I piani vaccinali possono essere variegati e non esistono specifiche normative a riguardo (*aggiungerei correttamente*)
- Quindi i metodi diagnostici possono svolgere un ruolo importante a sostegno della zootecnia e degli scambi commerciali (es 2035)

Un passo indietrodi 3 articoli...sistema a cascata

Articolo 6

Metodi diagnostici

1. L'autorità competente assicura che il prelievo di campioni, le tecniche, la convalida e l'interpretazione dei metodi diagnostici ai fini della sorveglianza siano conformi:
 - a) alla normativa specifica adottata conformemente al regolamento (UE) 2016/429 e alle informazioni e alle indicazioni pertinenti rese disponibili sui siti web dei laboratori di riferimento dell'Unione europea e della Commissione;
 - b) se non contemplati dalla normativa, dalle informazioni e dalle indicazioni di cui alla lettera a), al prelievo di campioni, alle tecniche, alla convalida e all'interpretazione dei metodi diagnostici descritti nel manuale dei test diagnostici e dei vaccini per animali terrestri dell'Organizzazione mondiale per la salute animale (OIE) («manuale terrestre») ⁽²¹⁾ modificato o nel manuale diagnostico per le malattie degli animali acquatici dell'OIE («manuale acquatico») ⁽²²⁾ modificato;
 - c) se non contemplati alle lettere a) e b) del presente paragrafo, ai metodi di cui all'articolo 34, paragrafo 2, lettera b), e paragrafo 3, del regolamento (UE) 2017/625.



Un salto nel 625 che non è solo alimenti.....

CAPO IV

Campionamento, analisi, prove e diagnosi

Articolo 34

Metodi di campionamento, analisi, prova e diagnosi

1. I metodi di campionamento e di analisi, prova e diagnosi di laboratorio utilizzati nel contesto dei controlli ufficiali e delle altre attività ufficiali sono conformi alle norme dell'Unione che stabiliscono tali metodi o ai relativi criteri di efficienza.

2. In assenza di norme dell'Unione di cui al paragrafo 1, e nel contesto di controlli ufficiali e altre attività ufficiali, i laboratori ufficiali applicano uno dei seguenti metodi a seconda della relativa idoneità per le esigenze specifiche di analisi, prova e diagnosi:
 - a) metodi disponibili conformi a pertinenti norme o protocolli riconosciuti internazionalmente, compresi quelli accettati dal comitato europeo di normalizzazione (CEN); o

metodi pertinenti sviluppati o raccomandati dai laboratori di riferimento dell'Unione europea e convalidati in base a ³⁷

Metodi di campionamento, analisi, prova e diagnosi

2. In assenza di norme dell'Unione di cui al paragrafo 1, e nel contesto di controlli ufficiali e altre attività ufficiali, i laboratori ufficiali applicano uno dei seguenti metodi a seconda della relativa idoneità per le esigenze specifiche di analisi, prova e diagnosi:

- a) metodi disponibili conformi a pertinenti norme o protocolli riconosciuti internazionalmente, compresi quelli accettati dal comitato europeo di normalizzazione (CEN); o

metodi pertinenti sviluppati o raccomandati dai laboratori di riferimento dell'Unione europea e convalidati in base a protocolli scientifici accettati internazionalmente;

- b) in assenza delle norme o dei protocolli opportuni di cui alla lettera a), metodi conformi alle norme pertinenti definite a livello nazionale o, se tali norme non esistono, metodi pertinenti sviluppati o raccomandati dai laboratori di riferimento dell'Unione europea e convalidati in base a protocolli scientifici accettati internazionalmente; o

metodi pertinenti sviluppati e convalidati da studi interlaboratorio o intralaboratorio sulla convalida dei metodi in base a protocolli scientifici accettati internazionalmente.

Torniamo al 689 art 6

2. I metodi diagnostici per la concessione e il mantenimento dello status di indenne da malattia sono stabiliti:
 - a) nell'allegato III, sezione 1, per l'infezione da *Brucella abortus*, *B. melitensis* e *B. suis*;
 - b) nell'allegato III, sezione 2, per l'infezione da complesso *Mycobacterium tuberculosis* (*Mycobacterium bovis*, *M. caprae* e *M. tuberculosis*) (MTBC);
 - c) nell'allegato III, sezione 3, per la leucosi bovina enzootica (LEB);
 - d) nell'allegato III, sezione 4, per la rinotracheite infettiva bovina/vulvovaginite pustolosa infettiva (IBR/IPV);
 - e) nell'allegato III, sezione 5, per l'infezione da virus della malattia di Aujeszky (ADV);
 - f) nell'allegato III, sezione 6, per la diarrea virale bovina (BVD);
 - g) nell'allegato VI, parte II, capitolo 1, sezione 5, punto 2, per la setticemia emorragica virale (SEV);
 - h) nell'allegato VI, parte II, capitolo 1, sezione 5, punto 2, per la necrosi ematopoietica infettiva (NEI);
 - i) nell'allegato VI, parte II, capitolo 2, sezione 5, punto 2, per l'infezione da virus dell'anemia infettiva del salmone con delezione a livello di HPR (*highly polymorphic region*) (ISAV con delezione a livello di HPR);
 - j) nell'allegato VI, parte II, capitolo 3, sezione 5, punto 2, per l'infezione da *Marteilia refringens*;
 - k) nell'allegato VI, parte II, capitolo 4, sezione 5, punto 2, per l'infezione da *Bonamia exitiosa*;
 - l) nell'allegato VI, parte II, capitolo 5, sezione 5, punto 2, per l'infezione da *Bonamia ostreae*;
 - m) nell'allegato VI, parte II, capitolo 6, sezione 5, punto 2, per l'infezione da virus della sindrome dei punti bianchi (WSSV).

DEFINIZIONE SPECIFICA DI CASO DI MALATTIA DEGLI ANIMALI TERRESTRI

Sezione 1

Influenza aviaria ad alta patogenicità (HPAI)

1. Un animale o un gruppo di animali deve essere considerato dall'autorità competente come un caso sospetto di HPAI se soddisfa i criteri di cui all'articolo 9, paragrafo 1.
2. Un animale o un gruppo di animali deve essere considerato dall'autorità competente come un caso confermato di HPAI se:
 - a) l'agente patogeno responsabile dell'HPAI, ad eccezione dei ceppi vaccinali, è stato isolato in un campione prelevato da un animale o da un gruppo di animali;
 - b) l'acido nucleico specifico dell'agente patogeno dell'HPAI, non derivante dalla vaccinazione, è stato individuato in un campione prelevato da un animale o da un gruppo di animali; oppure
 - c) è stato ottenuto un risultato positivo, non derivante dalla vaccinazione, mediante un metodo diagnostico indiretto in un campione prelevato da un animale detenuto o da un gruppo di animali detenuti che presentano segni clinici compatibili con la malattia o sono epidemiologicamente connessi con un caso sospetto o confermato.
3. Ai fini della presente definizione di caso, l'agente patogeno responsabile dell'HPAI deve essere:
 - a) un virus dell'influenza A dei sottotipi H5 e H7 o qualsiasi virus dell'influenza A con un indice di patogenicità intravenosa (IVPI) superiore a 1,2; oppure
 - b) un virus dell'influenza A dei sottotipi H5 e H7 con una sequenza di amminoacidi basici multipli a livello del sito di clivaggio dell'emoagglutinina (HA0) analoga a quella riscontrata in altri isolati dell'HPAI.

Sezione 2

Infezione da virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità (virus LPAI)

Sezione 3

Infezione da virus della malattia di Newcastle (NDV)

1. Un animale o un gruppo di animali deve essere considerato dall'autorità competente come un caso sospetto di infezione da NDV se soddisfa i criteri di cui all'articolo 9, paragrafo 1.

3. Ai fini della presente definizione di caso, l'agente patogeno responsabile dell'infezione da NDV deve essere qualsiasi paramyxovirus aviario tipo 1 (APMV-1) (*Avulavirus* aviario 1), il quale:
 - a) abbia un indice di patogenicità intracerebrale (ICPI) pari o superiore a 0,7; oppure
 - b) possieda amminoacidi basici multipli al C-terminale della proteina F2 e la fenilalanina al residuo 117, che è l'N-terminale della proteina F1. Il termine «amminoacidi basici multipli» si riferisce ad almeno tre residui di arginina o lisina tra i residui 113 e 116. Qualora non si dimostri la configurazione caratteristica dei residui di amminoacidi secondo la descrizione di cui sopra, è necessario caratterizzare il virus isolato mediante un test ICPI. In questa definizione, i residui di amminoacidi sono contati a partire dall'N-terminale della sequenza di amminoacidi dedotta dalla sequenza nucleotidica del gene F0 (113-116 corrisponde ai residui da -4 a -1 dal sito di clivaggio).

**METODI DIAGNOSTICI PER LA CONCESSIONE E IL MANTENIMENTO DELLO STATUS DI INDENNE DA
MALATTIA PER DETERMINATE MALATTIE DEGLI ANIMALI TERRESTRI**

1. Prove sierologiche:
 - a) prove per campioni di sangue:
 - i) prove con antigene brucella tamponato;
 - ii) prova di fissazione del complemento (CFT);
 - iii) ELISA indiretto (I-ELISA);
 - iv) metodo di fluorescenza polarizzata (FPA);
 - v) ELISA competitivo (C-ELISA);
 - b) prove per campioni di latte:
 - i) ring test (MRT);
 - ii) I-ELISA.
2. Prova di intradermoreazione alla brucellina (BST).

Per quanto riguarda le prove di cui all'allegato IV, parte I, capitolo 1, sezioni 1 e 2, la prova di intradermoreazione alla brucellina (BST) deve essere utilizzata solo per gli ovini e i caprini.



Di seguito

- Stesso schema semplificato per
- TBC, LEB

Sezione 4

Rinotracheite Infettiva Bovina/Vulvovaginite Pustolosa Infettiva (Ibr/Ipv)

	Metodi:	Matrice:
Bovini non vaccinati	I-ELISA BHV-1 ^(a)	Campioni individuali di siero ^(d)
		Campioni di latte
	B-ELISA gB ^(b)	Campioni individuali di siero ^(d)
		Campioni individuali di succo di carne
Bovini vaccinati con metodo DIVA con vaccino gE-deleto	B-ELISA gE ^(c)	Campioni individuali di siero
		Campioni individuali di succo di carne

^(a) I-ELISA utilizzato per la ricerca degli anticorpi contro il BHV-1 (virus intero). Per le prove per la concessione dello status di indenne da IBR/IPV possono essere utilizzati pool contenenti fino a 50 campioni di latte (individuale o di massa), mentre per le prove ai fini del mantenimento di tale status possono essere utilizzati pool contenenti fino a 100 campioni di latte (individuale o di massa).

^(b) B-ELISA utilizzato per la ricerca degli anticorpi contro la glicoproteina B del BHV-1. Tale metodo può essere utilizzato anche per effettuare prove per la ricerca degli anticorpi contro il BHV-1 (virus intero) di cui all'allegato IV, parte IV.

^(c) B-ELISA utilizzato per la ricerca degli anticorpi contro la glicoproteina E del BHV-1. Quando le prove sono effettuate per dimostrare il mantenimento dello status di indenne da IBR/IPV, possono essere utilizzati campioni di latte individuali. I campioni possono essere aggregati in pool; il numero di campioni per ciascun pool può essere scelto sulla base di elementi documentati attestanti che la prova è sufficientemente sensibile da rilevare, in situazioni di normale attività di laboratorio, un unico campione positivo nel pool.

^(d) Quando le prove sono effettuate per dimostrare il mantenimento dello status di indenne da IBR/IPV, i campioni prelevati singolarmente possono essere aggregati in pool. Il numero di campioni per ciascun pool può essere adattato sulla base di elementi documentati attestanti che il sistema di prove è sufficientemente sensibile da rilevare, in situazioni di normale attività di laboratorio, un campione debolmente positivo nel pool di dimensioni adattate.



Sezione 5

Infezione da virus della malattia di Aujeszky (ADV)

	Metodi:	Matrice:
Suini non vaccinati	ELISA ADV ^(a)	Campioni individuali o pool costituiti da un massimo di cinque campioni di siero (o plasma)
		Campioni individuali o pool costituiti da un massimo di cinque campioni su carta da filtro
		Campioni individuali di succo di carne
Suini vaccinati con metodo DIVA con vaccino gE-deleto	ELISA gE ^(b)	Campioni individuali di siero

^(a) ELISA utilizzato per la ricerca degli anticorpi contro il virus intero della malattia di Aujeszky o contro la sua glicoproteina B (ADV-gB) o glicoproteina D (ADV-gD). Per il controllo dei lotti dei kit ADV-gB e ADV-gD o dei kit per il virus intero della malattia di Aujeszky, il siero di riferimento comunitario ADV 1 o i relativi substandard devono essere catalogati come positivi a una diluizione di 1:2. Per effettuare le prove per la ricerca del virus intero della malattia di Aujeszky di cui all'allegato IV, parte V, può essere utilizzata una qualsiasi delle suddette prove.

^(b) ELISA utilizzato per la ricerca degli anticorpi contro la glicoproteina E dell'ADV. Per il controllo dei lotti, il siero di riferimento comunitario ADV 1 o i relativi substandard devono essere catalogati come positivi a una diluizione di 1:8.



Sezione 6

Diarrea virale bovina (BVD)

1. Metodi diretti:
 - a) reazione a catena della polimerasi-trascrittasi inversa real-time;
 - b) ELISA per la ricerca dell'antigene del BVDV.
2. Prove sierologiche:
 - a) I-ELISA;
 - b) B-ELISA.



Considerazioni su quanto abbiamo dal 689

- Per alcune malattie livello di dettaglio nella definizione di caso e delle metodiche da utilizzare risulta essere elevato
- Graduale riduzione del dettaglio per altre malattie
- Assenza di riferimenti per altre (per la lista completa vedi reg 1882)
- **Anche se può apparire limitativo non sempre è utile cristallizzare in norme livelli di dettaglio puntuali come possono essere le metodiche**

Flessibilità nell'approccio normativo del AHL

- Anche se può apparire limitativo non sempre è utile cristallizzare in norme livelli di dettaglio puntuali come possono essere le metodiche
- Basti pensare alle malattie emergenti
- Quindi è fondamentale strutturare un *modus operandi* per la contestualizzazione dei differenti scenari
- Ciò comporta una responsabilizzazione di tutti inclusi i laboratori (responsabilità sui differenti ambiti abbastanza chiare)

REGOLAMENTO DI ESECUZIONE (UE) 2018/1882

Articolo 1

Ai fini del presente regolamento si applicano le seguenti definizioni:

- (1) «malattia di categoria A»: malattia elencata che non si manifesta normalmente nell'Unione e che, non appena individuata, richiede l'adozione immediata di misure di eradicazione, di cui all'articolo 9, paragrafo 1, lettera a), del regolamento (UE) 2016/429;
- (2) «malattia di categoria B»: malattia elencata che deve essere oggetto di controllo in tutti gli Stati membri allo scopo di eradicarla in tutta l'Unione, di cui all'articolo 9, paragrafo 1, lettera b), del regolamento (UE) 2016/429;
- (3) «malattia di categoria C»: malattia elencata rilevante per alcuni Stati membri e rispetto alla quale sono necessarie misure per evitarne la diffusione in parti dell'Unione che ne sono ufficialmente indenni o che hanno programmi di eradicazione per la malattia elencata interessata, di cui all'articolo 9, paragrafo 1, lettera c), del regolamento (UE) 2016/429;
- (4) «malattia di categoria D»: malattia elencata per la quale sono necessarie misure per evitarne la diffusione a causa del suo ingresso nell'Unione o dei movimenti tra Stati membri, di cui all'articolo 9, paragrafo 1, lettera d), del regolamento (UE) 2016/429;
- (5) «malattia di categoria E»: malattia elencata per la quale vi è la necessità di sorveglianza all'interno dell'Unione, di cui all'articolo 9, paragrafo 1, lettera e), del regolamento (UE) 2016/429.

Articolo 9: Categorizzazione delle malattie

- Pre
-
-

Categoria	Descrizione	Misure da adottare
A Afta, FLU HPAI, ND, PPCB	normalmente non si manifestano nell'Unione e non appena individuate richiedono l'adozione immediata di misure di eradicazione.	Adozione immediata misure di eradicazione <ul style="list-style-type: none"> • presa di coscienza e preparazione • controllo delle malattie • Compartimentalizzazione
B TBC, BRUC Rabbia	devono essere oggetto di controllo in tutti gli SM allo scopo di eradicarle in tutta l'Unione.	<ul style="list-style-type: none"> • Programmi di eradicazione obbligatoria • Norme per l'ottenimento di status di indenne • compartimentalizzazione • controllo delle malattie
C IBR, BVD,	rilevanti per alcuni SM e rispetto alle quali sono necessarie misure per evitare la diffusione in parti dell'Unione che sono ufficialmente indenni o che hanno programmi di eradicazione.	<ul style="list-style-type: none"> • Programmi di eradicazione facoltativa • Norme per l'ottenimento di status di indenne • compartimentalizzazione • controllo delle malattie
D Carb. MG, MM, SP, Clam av., PRRS	sono necessarie misure per evitarne la diffusione tra gli SM o il loro ingresso in Unione	<ul style="list-style-type: none"> • Norme per le movimentazioni all'interno dell'UE In ingresso/uscita dall'UE
E West Nile	necessaria una sorveglianza all'interno dell'Unione	<ul style="list-style-type: none"> • Norme per la notifica e sorveglianza Valide anche per cat. A, B, C

tie
uropa
tare

Alcuni esempi per il settore buiatico

Patologia	Categoria	Specie di interesse
Afta	A + D + E	<i>Artiodactyla, Proboscidea</i>
Carbonchio	D + E	<i>Perissocactyla, Artiodactyla, Proboscidea</i>
Peste Bovina	A + D + E	<i>Artiodactyla</i>
PPCB	A + D + E	<i>Bison ssp., Bos., ssp, Bubalus ssp, Syncerus cafer</i>
Tricomoniasi	D + E	<i>Bison ssp., Bos., ssp, Bubalus ssp</i>
ParaTBC	E	<i>Bison ssp., Bos., ssp, Bubalus ssp, Ovis ssp, Capra ssp, Camelidae, cervidae</i>

Da Decreto attuativo: Regolamento 2018/1882

Alcuni esempi per il settore suinicolo

Patologia	Categoria	Specie di interesse
PSC	A + D + E	<i>Suidae, Tayassuidae</i>
PSA	A + D + E	<i>Suidae</i>
M. Aujeszky	C + D + E	<i>Suidae</i>
PRRS	D + E	<i>Suidae</i>

Da Decreto attuativo: Regolamento 2018/1882

Patologia aviare: malattia, specie e categoria

Patologia	Categoria	Specie di interesse
Influenza Aviaria alta patogenicità	A + D + E	Aves
Influenza Aviaria bassa patogenicità	D + E	Aves
Malattia di Newcastle	A + D + E	Aves
Mycoplasma gallisepticum e meleagridis	D + E	Gallus gallus, Meleagris gallopavo
Salmonella Pullorum, Gallinarum, [Arizonae (solo per il Tacchino)]	D + E	Gallus gallus, Meleagris gallopavo, Numida meleagris, Coturnix coturnix, Phasianus colchicus, Perdix perdix, Anas spp
Febbre del Nilo occidentale	E	Aves

Da Decreto attuativo: Regolamento 2018/1882



REGOLAMENTI

REGOLAMENTO DELEGATO (UE) 2019/2035 DELLA COMMISSIONE

del 28 giugno 2019

che integra il regolamento (UE) 2016/429 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda le norme relative agli stabilimenti che detengono animali terrestri e agli incubatoi nonché alla tracciabilità di determinati animali terrestri detenuti e delle uova da cova

(Testo rilevante ai fini del SEE)

ALLEGATO II

PROGRAMMA DI CONTROLLO MICROBIOLOGICO NEGLI INCUBATOI E PROGRAMMI DI SORVEGLIANZA DELLE MALATTIE NEGLI STABILIMENTI CHE DETENGONO POLLAME E NEGLI INCUBATOI

PARTE 1

Programma di controllo microbiologico negli incubatoi di cui all'articolo 7

Il programma di controllo microbiologico ai fini dei controlli igienici comprende quanto segue:

- a) devono essere prelevati campioni ambientali, da sottoporre a un esame batteriologico;
- b) i campioni devono essere prelevati almeno ogni sei settimane e ogni campionamento deve comprendere 60 campioni.

PARTE 2

Programmi di sorveglianza delle malattie negli incubatoi di cui all'articolo 7 e negli stabilimenti che detengono pollame di cui all'articolo 8

1. Obiettivo dei programmi di sorveglianza delle malattie

Dimostrare che i gruppi detenuti in stabilimenti riconosciuti che detengono pollame sono indenni dagli agenti patogeni di cui ai punti 2 e 3.

I programmi di sorveglianza delle malattie comprendono, come minimo, gli agenti patogeni e le specie elencate detenute di cui al punto 2.



2. Sorveglianza dei sierotipi di *Salmonella* di pertinenza per la sanità animale

2.1. Identificazione dell'infezione da parte degli agenti:

- a) *Salmonella* Pullorum: comprende *Salmonella enterica*, sottospecie *enterica* serovar Gallinarum variante biochimica (biovar) Pullorum;
- b) *Salmonella* Gallinarum: comprende *Salmonella enterica*, sottospecie *enterica* serovar Gallinarum variante biochimica (biovar) Gallinarum;
- c) *Salmonella arizonae*: comprende *Salmonella enterica* sottospecie *arizonae* sierogruppo K (O18) arizonae.

2.2. Specie bersaglio di pollame:

- a) per *Salmonella* Pullorum e *Salmonella* Gallinarum: *Gallus gallus*, *Meleagris gallopavo*, *Numida meleagris*, *Coturnix coturnix*, *Phasianus colchicus*, *Perdix perdix*, *Anas spp*;
- b) per *Salmonella arizonae*: *Meleagris gallopavo*.



2.6. Trattamento dei campioni e metodi di prova:

- a) i campioni prelevati devono essere sottoposti a:
 - i) prove sierologiche (¹);
 - ii) prove batteriologiche in alternativa o in aggiunta alle prove sierologiche di cui al punto i); i campioni per le prove batteriologiche non vanno tuttavia prelevati da pollame o uova che sono stati trattati con medicinali antimicrobici dalle due alle tre settimane precedenti le prove;
- b) i campioni prelevati devono essere trattati nel modo seguente:
 - i) arricchimento diretto in brodo selenite-cisteina per i campioni fecali/di meconio e intestinali o altri mezzi adeguati qualora sia prevista competizione tra la flora nei campioni;
 - ii) pre-arricchimento non selettivo seguito da un arricchimento selettivo in brodo di soia Rappaport Vassiliadis (RVS) o in brodo di Müller-Kauffmann al tetrionato-novobiocina (MKTTn) qualora sia prevista una competizione minima tra la flora nei campioni (ad esempio gli embrioni morti nel guscio);

- iii) isolamento diretto in piastra in un agar minimamente selettivo, come l'agar MacConkey, di tessuti prelevati asepticamente;
- iv) la *Salmonella Pullorum* e la *Salmonella Gallinarum* non crescono facilmente nel mezzo semisolido modificato Rappaport Vassiliadis (MSRV) utilizzato per il monitoraggio della *Salmonella* spp. zoonotica nell'Unione, ma tale mezzo è adatto per la *Salmonella arizonae*;
- v) le tecniche di rilevamento devono essere in grado di distinguere le risposte sierologiche all'infezione da *Salmonella Pullorum* e *Salmonella Gallinarum* dalle risposte sierologiche causate dall'impiego del vaccino contro la *Salmonella Enteritidis*, qualora sia usato tale vaccino ⁽²⁾. Non si deve pertanto utilizzare questo tipo di vaccino se si prevede un monitoraggio sierologico. Se è stata effettuata la vaccinazione, vanno impiegate prove batteriologiche, ma il metodo di conferma usato deve essere in grado di distinguere tra ceppi vaccinali vivi e ceppi di campo.

2.7. Risultati:

un gruppo è considerato positivo se, dopo aver ottenuto risultati positivi alle prove effettuate conformemente ai punti da 2.3 a 2.6, una seconda prova appropriata conferma l'infezione da parte degli agenti patogeni.

Solo per non allontanarmi troppo dall'avicoltura

3. Sorveglianza di *Mycoplasma* spp. di pertinenza per il pollame:
 - 3.1. Identificazione dell'infezione da parte dei seguenti agenti:
 - a) *Mycoplasma gallisepticum*;
 - b) *Mycoplasma meleagridis*.
 - 3.2. Specie bersaglio:
 - a) *Mycoplasma gallisepticum*: *Gallus gallus*, *Meleagris gallopavo*;
 - b) *Mycoplasma meleagridis*: *Meleagris gallopavo*.



3.6. Esami, campionamento e metodi di prova:

le prove sierologiche, batteriologiche e molecolari per individuare la presenza dell'infezione devono essere effettuate con metodi convalidati riconosciuti dall'autorità competente.

3.7. Risultati:

un gruppo è considerato positivo se, dopo aver ottenuto risultati positivi alle prove effettuate conformemente ai punti da 3.3 a 3.6, una seconda prova appropriata conferma l'infezione da parte degli agenti patogeni.



PARTE 3

Ulteriori informazioni sulle tecniche diagnostiche

I laboratori che sono stati designati dall'autorità competente per svolgere le prove richieste alle parti 1 e 2 del presente allegato possono consultare il manuale dei test diagnostici e dei vaccini per animali terrestri dell'Organizzazione mondiale per la salute animale (OIE), edizione 2018, per una descrizione più dettagliata delle tecniche diagnostiche.



Cascade approach

- In assenza di riferimenti normativi specifici per una data malattia possono essere differenti i livelli di fonte partendo dai metodi centri di referenza Europei, dal manuale OIE, CDR Nazionali fino ai metodi riconosciuti nella normativa nazionale, metodi pertinenti sviluppati e convalidati da studi interlaboratorio o intralaboratorio sulla convalida dei metodi in base a protocolli scientifici accettati internazionalmente... fino ad arrivare in caso di urgenza se non esistono metodi e laboratori di riferimento ogni laboratorio designato in attesa della convalida può usare metodi differenti.

Conclusioni

- Di sicuro sulla base fin qui riportato possiamo dire il laboratorio riveste un ruolo ben definito all'interno della nuova normativa
- **Il laboratorio ufficiale di sanità animale oltre quindi a svolgere le analisi secondo determinati requisiti specifici è uno strumento a servizio del network per il supporto nella diagnosi delle malattie infettive**
- In alcuni casi è stato chiaramente definito il processo decisionale mentre in altri un sistema di cascata delle fonti ci permetterà di meglio chiarire i dubbi diagnostici che «fortunatamente» ci saranno sempre, e quindi era totalmente improprio cristallizzare in norme metodi



Final Remark

- Da parte nostra (laboratoristi) evitare di classificare automaticamente i test "falsi positivi" come caso confermato esclusivamente sulla base dei risultati di laboratorio (eccetto l'isolamento) (discriminazione da eventuali ceppi vaccinali vivi attenuati «possiamo definirlo un capitolo a se»)



Take home message 1

- ... ritorniamo ad un considerando

(51) Una gestione ottimale della sanità animale può essere conseguita soltanto in cooperazione con i detentori di animali, gli operatori, i veterinari, i professionisti della sanità animale, le altre parti interessate e i partner commerciali. Per garantirsi il loro sostegno, è necessario organizzare le procedure decisionali e l'applicazione delle misure di cui al presente regolamento in modo chiaro, trasparente e inclusivo.



Take home message 1

- Gli attori coinvolti devono costantemente investire energie nel costruire e mantenere un network in cui tutti gli attori che partecipano proattivamente al raggiungimento dell'obiettivo comune che risulta essere una «**Produzione sostenibile con elevati standard qualitativi**»

(51) Una gestione ottimale della sanità animale può essere conseguita soltanto in cooperazione con i detentori di animali, gli operatori, i veterinari, i professionisti della sanità animale, le altre parti interessate e i partner commerciali. Per garantirsi il loro sostegno, è necessario organizzare le procedure decisionali e l'applicazione delle misure di cui al presente regolamento in modo chiaro, trasparente e inclusivo.



Take home message 2

- **Il laboratorio è uno strumento a servizio del network per il supporto nella diagnosi delle malattie infettive**

- 
- Grazie a tutti i colleghi, in particolare del mio Istituto che mi hanno supportato ed aiutato nella organizzazione della presentazione ed anche e fornito alcune diapositive

A flock of flamingos is shown in flight against a clear blue sky. The birds are scattered across the frame, with some in the foreground and others further back, creating a sense of depth. The flamingos have long necks and long legs, and their wings are spread as they fly.

Grazie per l'attenzione

Nella lunga storia del genere umano (e anche del genere animale) hanno prevalso coloro che hanno imparato a collaborare ed a improvvisare con più efficacia.”
(Charles Darwin)