



UNIVERSITA' DI PISA

Corso di Laurea Magistrale in Medicina Veterinaria

## *Aggiornamento sulla Scrapie in Toscana*

Candidato: Sanna Giovanna

Relatori: Prof.ssa Bandecchi Patrizia

Dott. Mazzei Maurizio

*ANNO ACCADEMICO 2009 – 2010*

*Alla mia famiglia,  
che mi è stata vicina in questi anni.*

# INDICE

	<b>Pag.</b>
<b>RIASSUNTO/SUMMARY</b>	<b>5</b>
<b>Cap. 1. LA SCRAPIE</b>	
<b>1.1.</b> Definizione	6
<b>1.2.</b> Ipotesi eziopatogenetiche	7
<b>1.3.</b> Influenza dei fattori genetici	11
<b>1.4.</b> Patogenesi	13
<b>1.5.</b> Epidemiologia	17
<b>1.6.</b> Aspetti clinici	20
<b>1.7.</b> Aspetti anatomoistopatologici	24
<b>1.8.</b> Scrapie atipica	25
<b>1.9.</b> Diagnosi	27
<b>1.10.</b> Aspetti di sanità pubblica	30
<b>1.10.1.</b> Esposizione umana all'agente della scrapie tramite latte e derivati	30
<b>1.10.2.</b> Esposizione umana all'agente della scrapie tramite carne	31
<b>1.11.</b> Controllo e profilassi	32
<b>1.11.1.</b> Prevenzione	32
<b>1.11.2.</b> Eradicazione	32
<b>1.11.3.</b> Controllo	34
<b>Cap.2. SITUAZIONE EPIDEMIOLOGICA</b>	<b>35</b>
<b>2.1.</b> in Italia	36
<b>2.2.</b> in Toscana	39

<b>Cap.3. SORVEGLIANZA</b>	
<b>3.1. Piano di sorveglianza della regione Toscana.</b>	<b>46</b>
<b>3.1.1. Sorveglianza attiva sui morti in allevamento</b>	<b>47</b>
<b>3.1.2. Sorveglianza passiva</b>	<b>53</b>
<b>3.2. Compiti del veterinario ispettore</b>	<b>55</b>
<b>3.2.1. Visita ante mortem</b>	<b>55</b>
<b>3.2.2. Visita post mortem</b>	<b>56</b>
<b>3.2.3. Prelievo campioni</b>	<b>57</b>
<b>3.2.4. Interventi successivi agli esiti dei campionamenti</b>	<b>59</b>
<b>Cap.4. RACCOLTA DI INFORMAZIONI ED ANALISI DEI DATI SUI FOCOLAI DI SCRAPIE IN TOSCANA</b>	<b>61</b>
<b>Cap.5. CONCLUSIONI</b>	<b>71</b>
<b>Cap.6. NORMATIVA DI RIFERIMENTO</b>	
<b>6.1. Normativa comunitaria.</b>	<b>72</b>
<b>6.2. Normativa nazionale.</b>	<b>76</b>
<b>6.3. Normativa Regione Toscana.</b>	<b>79</b>
<b>6.4. Comunicazioni CEA.</b>	<b>80</b>
<b>ALLEGATI</b>	<b>81</b>
<b>BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA</b>	<b>113</b>
<b>RINGRAZIAMENTI</b>	<b>118</b>

## **RIASSUNTO**

La Scrapie, è stata la prima malattia neurodegenerativa da agenti non convenzionali ad essere studiata. Attualmente, dopo la drastica riduzione dei casi di BSE, rimane la encefalopatia spongiforme trasmissibile (TSE) più diffusa negli animali, ed il suo controllo è un obiettivo prioritario dell'UE. La malattia si caratterizza per il deposito nel SNC e negli organi linfoidi di PrP<sup>Sc</sup>, isoforma patologica di PrP<sup>C</sup> e per l'assenza di risposta immunitaria da parte dell'ospite. Dopo un lungo periodo di incubazione, la malattia si manifesta con alterazioni comportamentali e motorie, preludio di un progressivo deperimento che termina con il decesso dell'animale. La necessità di un'efficace sorveglianza ha portato le autorità sanitarie a mettere in atto un programma di monitoraggio, in base al quale a partire dal 1° gennaio 2002 alla sorveglianza passiva (SP) in tutta la Unione Europea è stata affiancata la sorveglianza attiva (SA). In Italia la malattia è stata segnalata per la prima volta nel 1976, mentre in Toscana il primo focolaio risale al 1990.

In questa tesi si intende fornire un aggiornamento sulla situazione epidemiologica della malattia in Italia, ed in particolare nella regione Toscana dal 1990 ad oggi, fornendo elementi di riflessione sulle misure di controllo e di sorveglianza intraprese.

**Parole chiave: scrapie, PrP<sup>Sc</sup>, Toscana, epidemiologia, sorveglianza.**

## **SUMMARY**

Scrapie was the first neurodegenerative disease by non-conventional agents detected in animals. After the reduction of BSE cases, it remains the most widespread transmissible spongiform encephalopathy (TSE) among animals, and its control is a priority for UE. This disease is characterized by accumulation in the Central Nervous System and lymphoid tissues of PrP<sup>Sc</sup>, a pathological isoform of cellular PrP<sup>C</sup>. The infection does not elicit immunological response in the infected animals. The disease is characterized by a prolonged incubation period, clinical signs refer to behavior of the animal, movements difficulties and lost of general health conditions. With the aim to set up an efficient control of the disease in the UE a monitoring program was implemented starting from January 2002. Active surveillance is now carried out along with the previous passive surveillance. Scrapie was first detected in Italy in 1976 and first cases in Tuscany dates back to 1990.

In this thesis the epidemiological situation of scrapie in Italy and particularly in Tuscany has been updated. Control and surveillance measures adopted in the outbreaks have been also discussed.

**Key words: scrapie, PrP<sup>Sc</sup>, Tuscany, epidemiology, surveillance.**

## Cap. 1. LA SCRAPIE

### 1.1 Definizione

Le Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili (TSE) ( secondo l'acronimo inglese di *Transmissible Spongiform Encephalopathies*) o malattie da prioni, rappresentano un gruppo di malattie degenerative che colpiscono il Sistema Nervoso Centrale (SNC) dell'uomo e degli animali [1].

Nell'uomo sono state descritte le seguenti TSE :

- **Malattia di Creutzfeldt-Jakob (MCJ) o CJD (*Creutzfeldt-Jakob Disease*)**
  - *CJD sporadica*
  - *CJD iatrogena*
  - *CJD familiare*
- **Malattia di Gerstmann-Straussler-Scheinker (GSS)**
- **Kuru**
- **Insonnia Familiare Fatale (IFF)**
- **Insonnia Sporadica Fatale**
- **Nuova variante della malattia di Creutzfeldt-Jakob (nvMCJ) o nvCJD**

Negli animali sono state descritte le seguenti TSE:

- **Scrapie della pecora, della capra e del muflone**
- **Encefalopatia spongiforme bovina (ESB) o BSE (*Bovine Spongiform Encephalopathy*)**
- **Encefalopatia trasmissibile del visone (TME o *Transmissible Mink Encephalopathy*)**
- **Malattia del dimagrimento cronico del cervo (CWD o *Chronic Wasting Disease*)**
- **Encefalopatia spongiforme dei bovidi selvatici**
- **Encefalopatia spongiforme del gatto e dei felidi (FSE o *Feline Spongiform Encephalopathy*)**

Le TSE sono malattie caratterizzate da un lungo periodo di incubazione - superiore a due anni - e portano inevitabilmente a morte il soggetto colpito, provocando lesioni microscopiche di tipo spongiforme nel SNC per la presenza di vacuoli a carico dei neuroni [2, 3].

Caratteristica comune di queste malattie è la trasformazione di una proteina cellulare (PrP<sup>C</sup>), normalmente presente nei tessuti dei soggetti sani, in una proteina patologica (PrP<sup>Sc</sup>) che progressivamente si accumula a livello cerebrale (Prusiner, 1982).

In campo veterinario la prima TSE segnalata è stata la scrapie, malattia neurodegenerativa e trasmissibile di pecora, capra e muflone che prende il nome da uno dei suoi segni clinici più caratteristici: un intenso prurito, che induce gli animali a prodursi ferite anche profonde strofinandosi contro qualsiasi superficie (dall'inglese “*to scrape*” che significa “grattare”).

La scrapie è conosciuta da più di 250 anni, ma solo dopo la comparsa della BSE, che ha determinato una intensificazione della sorveglianza su tutte le encefalopatie spongiformi, la malattia è stata segnalata in tutte le regioni italiane [4, 5].

## 1.2 Ipotesi eziopatogenetiche

L'agente responsabile della scrapie e delle altre TSE non è stato ancora completamente caratterizzato.

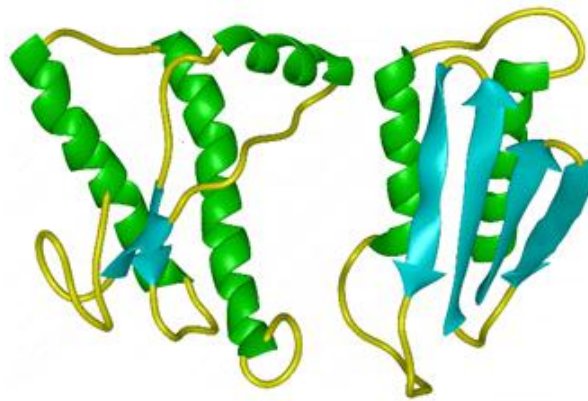
Sulla natura di questi agenti sono state fatte diverse ipotesi, le più accreditate sono quella del virino e quella prionica.

- *Teoria del virino* - Secondo questa teoria, l'agente infettante sarebbe una molecola di acido nucleico protetto dalla proteina prionica, codificata da un gene cellulare specifico. L'acido nucleico sarebbe il depositario dell'informazione per la replicazione dell'agente.

Il complesso proteina-acido nucleico sarebbe riconosciuto come *self* dal sistema immunitario e questo spiegherebbe l'assenza di risposta immunitaria. Inoltre la proteina prionica, sotto forma di sostanza amiloide, proteggerebbe l'acido nucleico. Le TSE sarebbero quindi amiloidosi virus-indotte e la formazione della sostanza amiloide, tuttavia non costantemente presente, sarebbe una conseguenza del legame dell'agente con recettori glicoproteici sulla superficie dei neuroni [6].

- *Teoria prionica* - Secondo questa teoria, elaborata da Prusiner, che attualmente riceve più consensi fra i ricercatori, l'agente infettante sarebbe una sostanza di natura proteica consistente nell'isoforma anomala di una proteina normalmente espressa nelle cellule animali e denominata proteina prionica cellulare (PrP<sup>C</sup>).

**Figura 1. La proteina prionica**



**Normale**

**Patologica**

Fonte: Progetto regionale di selezione genetica  
per la resistenza alle encefalopatie spongiformi trasmissibili degli ovini,  
Regione Toscana, 2005.

La proteina patologica infettante, definita anche prione (*proteinaceous infectious particle*) o proteina prionica associata alla scrapie ( $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ ), sarebbe derivata da una modificazione conformazionale di  $\text{PrP}^{\text{C}}$  da una struttura prevalentemente ad  $\alpha$ -elica ad una struttura prevalentemente a foglietto  $\beta$ . La  $\text{PrP}^{\text{C}}$  è codificata da un gene presente in tutti i mammiferi (fig. 1, 2).

La struttura primaria della  $\text{PrP}^{\text{C}}$  è una sequenza di oltre 200 aminoacidi con diverse regioni ripiegate ad  $\alpha$ -elica; è solubile, sensibile alle proteasi e quindi degradabile dai processi catabolici cellulari (tab.1). La sua attività biologica non è ancora nota, ma presumibilmente è implicata nel mantenimento dell'integrità funzionale del SNC. Alcuni studi sui topi indicano che possa essere implicata nei meccanismi di regolazione del sonno [7].

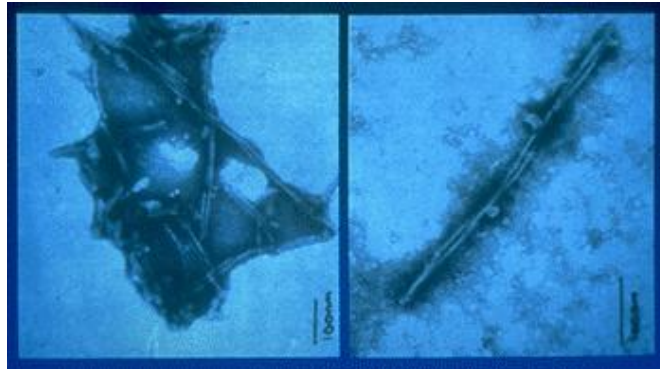
Le modificazioni conformazionali da  $\text{PrP}^{\text{C}}$  a  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  determinano l'acquisizione di nuove proprietà:

- struttura terziaria fibrillare;
- resistenza alle proteasi, con conseguente accumulo in sede intra ed extracitoplasmatica;
- insolubilità in acqua e tendenza a formare aggregati;
- estrema resistenza agli agenti fisico-chimici;
- capacità di favorire la conversione di  $\text{PrP}^{\text{C}}$  in  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ , proprietà che sta alla base della “infettività” della  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ .



## Figura 2. Immagini al microscopio elettronico del PRIONE

(Scrapie associated fibrils).



Fonte: Dr. A.C. Scott - Central Veterinary Laboratory, UK. Bar=100nm

Secondo la teoria prionica, l'informazione per l'infettività risiederebbe quindi nella struttura secondaria e terziaria che la proteina assume in particolari condizioni.

Ci troveremmo di fronte ad un nuovo meccanismo biologico di trasferimento delle informazioni che stanno alla base dell'infettività. Fino alla comparsa della teoria prionica si pensava che queste informazioni risiedessero esclusivamente negli acidi nucleici degli agenti infettanti; con la teoria prionica si ipotizza che la "cattiva informazione" dell'infettività possa risiedere anche nella conformazione anomala di una proteina.

L'aspetto più oscuro e controverso di questa teoria, rimane la modalità con la quale una proteina anomala possa indurre la trasformazione di una proteina normale in proteina anomala. Recentemente è stato dimostrato che le proprietà biochimiche e conformazionali di una proteina possono essere trasferite ad altre molecole proteiche mediante una tecnica di laboratorio definita "*amplificazione ciclica dell'anomalia conformazionale proteica*". Mediante tale tecnica è stata ottenuta un'amplificazione della conformazione anomala della proteina prionica, con modalità concettualmente analoghe alla amplificazione del DNA mediante reazione a catena della polimerasi (PCR).

I punti di forza a sostegno della teoria prionica sono diversi:

- non esistono ancora dimostrazioni convincenti che particelle simil-virali o frammenti di acido nucleico possano essere associati alla infettività e l'infettività persiste anche dopo trattamenti che denaturano gli acidi nucleici;
- il grado di infettività è associato alla quantità di PrP<sup>Sc</sup> presente nel

materiale infettante e l'infettività si perde a seguito di trattamenti con sostanze in grado di denaturare tale proteina;

- la PrP<sup>C</sup> e la PrP<sup>Sc</sup> sono identiche nella loro struttura primaria e non è stato ancora identificato un gene specifico che codifichi per la PrP<sup>Sc</sup>, quindi si suppone che quest'ultima possa essere codificata dallo stesso gene cellulare della PrP<sup>C</sup>;
- se si trasmette sperimentalmente l'infezione da una specie ad un'altra, l'animale infettato produce una PrP<sup>Sc</sup> con una struttura primaria identica a quella della propria PrP<sup>C</sup>: non avviene perciò una "replicazione" della PrP<sup>Sc</sup> della specie donatrice, ma una trasformazione della PrP<sup>C</sup> della specie ricevente;
- l'espressione di PrP<sup>C</sup> a livello degli organi bersaglio è necessaria per la sua trasformazione in PrP<sup>Sc</sup>, infatti topi transgenici privati del gene della PrP<sup>C</sup> non sono recettivi all'infezione.

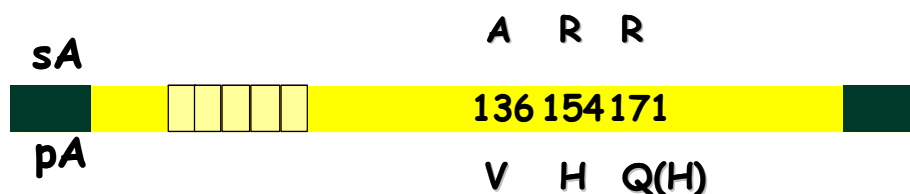
**Tabella 1. Confronto delle proprietà biochimiche di PrP<sup>C</sup> e PrP<sup>Sc</sup>**

	<b>PrP<sup>C</sup></b>	<b>PrP<sup>Sc</sup></b>
<b>Infettività</b>	Non infettante	Infettante
<b>Sensibilità a Proteinasi K</b>	Sensibile	Parzialmente, ma comunque altamente resistente
<b>Solubilità</b>	Solubile (idrofila)	Insolubile (idrofoba)
<b>Stato di aggregazione</b>	Monomeri/dimeri/oligomeri	Aggregati
<b>Struttura secondaria</b>	$\alpha$ -elica (42%) $\beta$ -foglietto (3%)	$\alpha$ -elica (30%) $\beta$ -foglietto (43%)

### 1.3 Influenza dei fattori genetici

La malattia scrapie è il risultato di una complessa interazione tra un agente infettante trasmissibile (la PrP<sup>Sc</sup> o prione) e alcune caratteristiche genetiche dell'ospite. In linea generale si può dire che nell'ospite il gene che codifica per la proteina prionica cellulare (PrP<sup>C</sup>), presenta dei polimorfismi che sono in grado di condizionare la resistenza o la suscettibilità dell'individuo a contrarre la malattia (fig. 3).

**Figura 3. Schema del gene che codifica la proteina prionica cellulare (PrP<sup>C</sup>)**



Fonte: Progetto regionale di selezione genetica  
per la resistenza alle TSE degli ovini, M.Sala e F.School IZS-LT 2005.

Nella scrapie i polimorfismi più importanti sono quelli dei codoni 136, 154 e 171.

Al codone 136 il gene PrP<sup>C</sup> può codificare rispettivamente per Alanina (A) o per Valina (V); al codone 154 per Arginina (R) o Istidina (H); al codone 171 per Arginina (R), Glutamina (Q) o più raramente Istidina (H). Questo significa che i tre codoni producono varie combinazioni possibili (alleli) (tab. 2).

Le specificità di ogni allele vengono sintetizzate con le lettere che rappresentano l'aminoacido codificato dai tre codoni interessati.

**Tabella 2. Combinazioni possibili di alleli**

<i>Allele</i>	<i>Aminoacido codificato dal codone 136</i>	<i>Aminoacido codificato dal codone 154</i>	<i>Aminoacido codificato dal codone 171</i>
<b>ARR</b>	Alanina (A)	Arginina (R)	Arginina (R)
<b>AHQ</b>	Alanina (A)	Istidina (H)	Glutamina (Q)
<b>ARH</b>	Alanina (A)	Arginina (R)	Istidina (H)
<b>ARQ</b>	Alanina (A)	Arginina (R)	Glutamina (Q)
<b>VRQ</b>	Valina (V)	Arginina (R)	Glutamina (Q)

L'allele ARR conferisce resistenza alla malattia, mentre il VRQ conferisce suscettibilità. In considerazione del fatto che ogni individuo eredita una copia del gene PrP<sup>C</sup> dal padre e una copia dalla madre, avremo nello stesso individuo due alleli che possono essere uguali (condizione definita *omozigosi*) oppure due alleli diversi (condizione di *eterozigosi*). Come dimostra la tabella che segue, potremo avere individui con la combinazione di due alleli: ARR/ARR i quali presenteranno la massima resistenza alla malattia, mentre gli individui con la combinazione VRQ/VRQ presenteranno la massima suscettibilità alla malattia (tab.3). Fra i due estremi, ovviamente, avremo una serie di coppie di alleli che determinano condizioni intermedie di suscettibilità o resistenza.

**Tabella 3. Grado di suscettibilità dei vari genotipi**

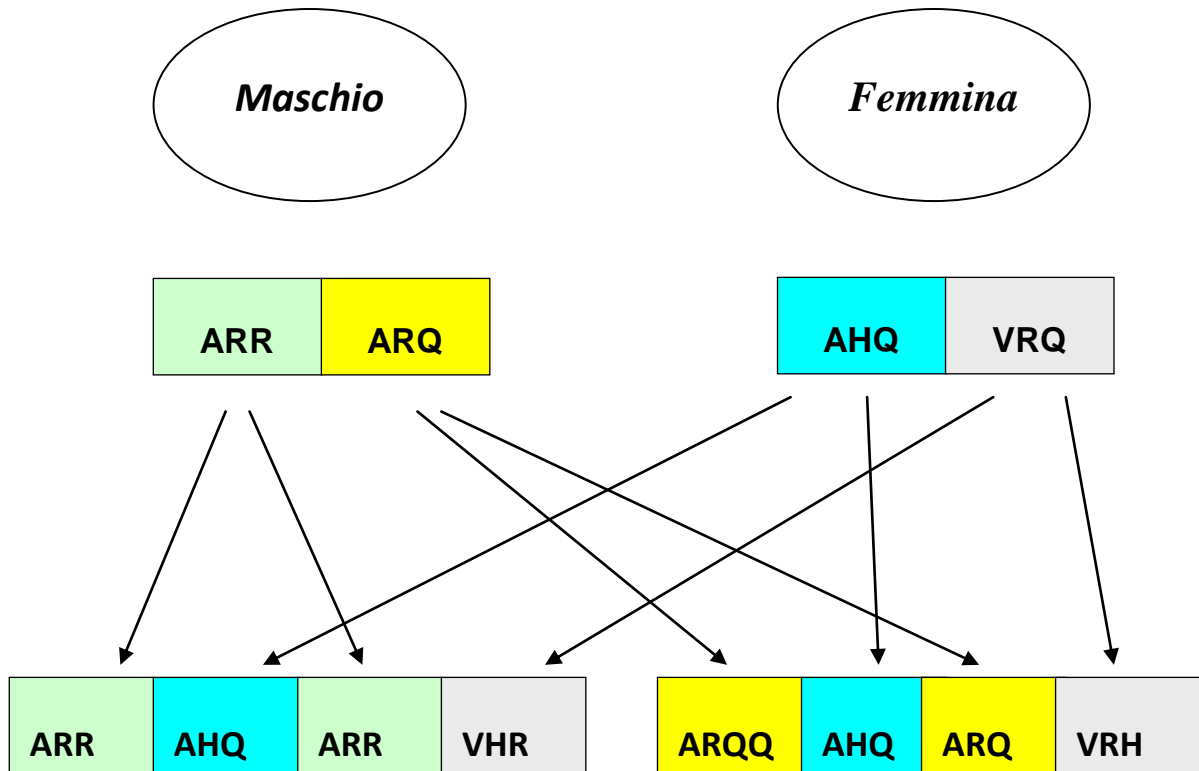
<b>GENOTIPO</b>	<b>SUSCETTIBILITÀ</b>
<b>ARR/ARR</b>	Suscettibilità minima o nulla
<b>ARR/ARH</b>	Genotipo raro per il quale mancano dati di suscettibilità. Si presuppone tuttavia una suscettibilità scarsa
<b>ARR/AHQ</b>	Genotipo raro per il quale mancano dati di suscettibilità. Si presuppone tuttavia una suscettibilità scarsa
<b>ARQ/ARR</b>	Suscettibilità scarsa
<b>ARQ/ARH</b>	Genotipo raro per il quale mancano dati di suscettibilità
<b>ARH/ARH</b>	Genotipo raro per il quale mancano dati di suscettibilità
<b>AHQ/ARH</b>	Genotipo raro per il quale mancano dati di suscettibilità
<b>ARQ/ARQ</b>	Suscettibilità elevata
<b>ARQ/AHQ</b>	Suscettibilità elevata
<b>VRQ/VRQ</b>	Suscettibilità elevata
<b>VRQ/ARH</b>	Genotipo raro per il quale mancano dati di suscettibilità. Portatore dell'allele maggiormente suscettibile
<b>VRQ/ARR</b>	Suscettibilità scarsa ma portatore dell'allele maggiormente suscettibile.

Fonte: *Progetto regionale di selezione genetica per la resistenza alle TSE degli ovini*, M.Sala e F.School IZS-LT, 2005.

Ovviamente la distanza genetica fra una razza e un'altra ha fatto sì che alcune combinazioni di alleli possano conferire caratteristiche diverse da una razza all'altra [8].

Lo studio dei genotipi nell'ambito di ogni razza può essere utilizzato come uno strumento per attuare programmi di selezione genetica, con l'obiettivo di aumentare nella popolazione la frequenza degli alleli di resistenza e di limitare il più possibile la frequenza degli alleli che conferiscono la massima suscettibilità alla Scrapie (fig. 4).

**Figura 4. Sistema predittivo del genotipo**



Fonte: *Compulsory Scrapie flocks Scheme Booklet*,  
DEFRA (Department for Environment Food and Rural Affairs), 2005

Sul sito Genotype Predictor predisposto dal DEFRA, al seguente indirizzo: [www.defra.gov.uk/animalh/bse/Scrapie/nsp/predictor.html](http://www.defra.gov.uk/animalh/bse/Scrapie/nsp/predictor.html), è disponibile un sistema predittivo nel genotipo.

### 1.4 Patogenesi

Nonostante la scrapie sia una malattia conosciuta da più di due secoli, le conoscenze sulla sua evoluzione nel soggetto malato presentano ancora numerose lacune. Ciò che avviene nella fase preclinica della malattia è ancora lungi dall'essere chiarito e spiega perché manchino ancora strumenti diagnostici precoci utilizzabili nell'animale in vita .

I dati sinora a disposizione sembrano confermare che, dopo un'infezione per via orale, viene coinvolto il sistema linfatico, nel quale il prione si replica prima di raggiungere il SNC.

Ricercatori francesi (Andreoletti et al., 2000) hanno evidenziato la precoce presenza del prione nel sistema linfatico associato alla parete dell'intestino tenue (placche del Peyer) in agnelli con genotipo VRQ/VRQ a 2-3 mesi di età.

Questo fenomeno è stato confermato in un altro studio nel quale si è visto che agnelli di genotipo VRQ/VRQ di 5 mesi di età presentavano il prione nel sistema linfatico e nel tessuto nervoso associato all'intestino tenue (Van Kullen e coll. 2000).

In seguito il prione raggiunge il SNC progredendo lungo i nervi periferici. I primi siti interessati, sono localizzabili nel midollo allungato e nel tratto toracico del midollo spinale. Tuttavia è bene ricordare che il tropismo cellulare dei prioni varia a seconda delle specie animale e, almeno in parte, dipende dal ceppo di prione in causa. Per esempio, il prione coinvolge il sistema linfatico nella scrapie e nella vCJD dell'uomo, ma non nella BSE del bovino e nella forma sporadica di CJD dell'uomo. Nelle TSE, nelle quali si ha l'interessamento del sistema linfatico, è possibile di fatto fare una diagnosi in vita nell'animale e nell'uomo tramite biopsia su un frammento di tessuto di un organo linfatico aggredibile chirurgicamente. Ad esempio la biopsia può essere fatta sulla tonsilla sulla quale poi mediante particolari esami di laboratorio si può cercare il prione.

Già dal 1993 (Büeler et al.) era nota la resistenza all'infezione prionica di topi ai quali era stato asportato (*knockout*) il gene che codifica per la proteina prionica (PrP<sup>C</sup>). Questo significa che è necessaria la presenza della proteina prionica normale affinché si abbia il trasporto dell'agente infettante dalla periferia al cervello e la sua diffusione all'interno del cervello. Tuttavia, la sola presenza del PrP<sup>C</sup> sulla membrana delle cellule nervose ed emopoietiche del sistema linfatico, non è sufficiente affinché la malattia si sviluppi nell'animale infettato, mentre è essenziale la presenza di alcune particolari cellule del sistema linfatico, tra le quali giocano un ruolo importante le cellule follicolari dendritiche (FDCs).

A loro volta le cellule follicolari dendritiche per essere presenti, mature e reattive, necessitano dei linfociti B, che non necessariamente esprimono la PrP<sup>C</sup>. Probabilmente l'importanza dei linfociti B risiede nel ruolo che essi hanno nella produzione di particolari sostanze: le linfo tossine  $\alpha$  e  $\beta$  (LT  $\alpha$ ,  $\beta$ ) (Mabbott et al. 2001) necessarie per la maturazione delle FDCs. Le FDCs quindi, da una parte sostengono la formazione e il mantenimento della microarchitettura degli organi linfoidi, dall'altra catturano

immunocomplessi mediante recettori Fcγ e legano antigeni ai recettori del complemento CD21/CD35. Per questo si ritiene che anche il sistema del complemento svolga un ruolo nella patogenesi delle malattie prioniche.

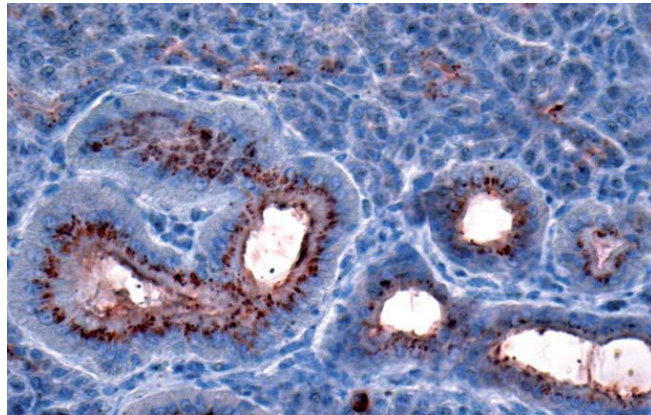
Anche le cellule del sistema immunitario svolgono un ruolo cruciale nell'evoluzione della scrapie. Come già detto la proteina prionica normale (PrP<sup>C</sup>) non è da sola sufficiente per permettere l'accumulo della sua forma patologica nelle cellule che la espongono nella loro membrana. Infatti il prione (PrP<sup>Sc</sup>) si deposita a livello dei tessuti nervosi e linfatici, ma non in altri tessuti che pure esprimono la proteina prionica normale. Recentemente alcuni ricercatori (Heikenwalder et al. 2005) hanno dimostrato l'accumulo del prione in organi e tessuti al di fuori del SNC e del sistema linfatico. Per dimostrarlo hanno creato dei topi modificati geneticamente in grado di produrre maggiori quantità di linfotossine α e β, le quali, richiamano cellule linfatiche in organi - come ad esempio fegato, rene e pancreas - che in condizioni normali ne sono privi. Di fatto in questi organi tali topi presentano una proliferazione di cellule tipiche degli organi linfoidi che hanno una funzione immunocompetente nei processi infiammatori (macrofagi, FDCs linfociti etc.). Qualora gli stessi topi vengano infettati sperimentalmente con l'agente della scrapie, in questi organi si deposita il prione infettante. Questo, in conclusione, significa che la presenza di infiammazione in determinati organi potrebbe determinare accumulo di proteina prionica patologica anche al di fuori degli organi linfoidi e del SNC [9].

In un lavoro svolto dal Laboratorio di Istopatologia dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, dall'Istituto Superiore di Sanità e dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana è stata dimostrata, mediante immunoistochimica (IHC), Paraffin Embedded Tissue blot (PET Blot) e Western Blot (WB) (fig.5 e 6), la presenza della proteina patologica (PrP<sup>Sc</sup>) nelle ghiandole salivari di pecore naturalmente e sperimentalmente infette da scrapie [12].

La presenza della PrP<sup>Sc</sup> è stata inoltre evidenziata nelle parotidi (9/9), nei linfonodi mandibolari (6/7), buccali (5/8), palatini (5/6) e labiali (2/2) di pecore affette da scrapie naturale, così come nelle parotidi (7/9) e nei linfonodi buccali (4/4) di pecore infettate sperimentalmente.

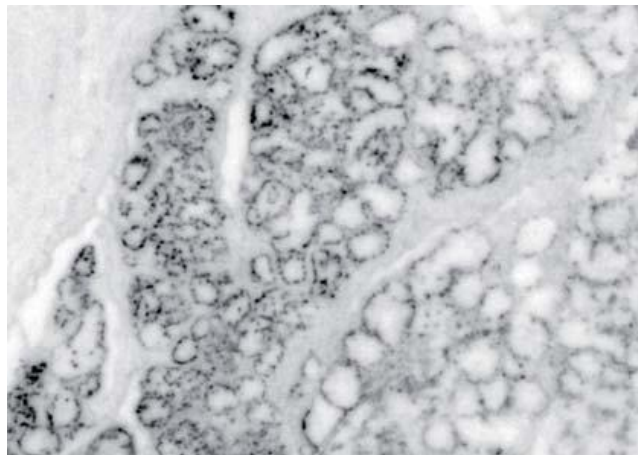
**Figura 5. Immunoistochimica con anticorpo primario 2G11**

*Presenza di depositi di PrP<sup>Sc</sup> nelle cellule epiteliali duttali e secernenti della parotide*



**Figura 6. PET Blot con anticorpo primario 2G11**

*Presenza di depositi di PrP resistenti alla digestione con Pk nelle cellule acinari del linfonodo palatino*



I risultati dello studio portano a concludere che una percentuale significativa di pecore affette da scrapie accumula bassi livelli di PrP<sup>Sc</sup> nelle ghiandole salivari.

Questo fenomeno era già stato osservato in precedenza (Hermann e coll., 2000; Moudjou e coll., 2001), mentre la presenza di depositi di PrP<sup>Sc</sup> nelle ghiandole salivari non era mai stato dimostrato.

Altri lavori hanno evidenziato depositi di PrP<sup>Sc</sup> anche nelle fibre muscolari (Andreoletti e coll., 2004), nella placenta (Andreoletti e coll., 2002, Tuo e coll., 2002), nelle papille della lingua (Casalone e coll., 2005) e nell'interstizio renale (Sisò e coll., 2006).



Tuttavia, ad oggi, negli ani mali naturalmente infetti, non è mai stata dimostrata l'infettività della saliva, delle secrezioni nasali, dell'aerosol, dell'urina e delle feci.

## 1.5 Epidemiologia

L'epidemiologia della scrapie è piuttosto complessa e influenzata da:

- trasmissibilità dell'agente infettante;
- elevata stabilità dell'agente infettante e notevole persistenza negli ambienti contaminati;
- ruolo delle caratteristiche genetiche dell'ospite sulla recettività alla malattia;
- mancanza di una risposta immunitaria nei soggetti colpiti e mancanza quindi di una immunità di popolazione che limiti la diffusione dell'infezione nelle popolazioni infette.

a) *Trasmissione prenatale* - L'agente della scrapie è presente in placenta, liquido amniotico, utero e ovaie di pecore e capre con infezione naturale, la trasmissione per via transplacentare è quindi molto probabile. In letteratura è riportato un solo esempio di isolamento dell'agente infettante dai tessuti fetali, a seguito di infezione sperimentale nella madre. Feti di pecora e di capra sono recettivi all'infezione sperimentale per inoculazione attraverso la parete uterina. E' molto probabile che nel periodo prenatale gli agnelli possano infettarsi ingerendo liquidi amniotici contaminati. Non si è potuto ancora dimostrare se l'infezione possa essere trasmessa attraverso l'ovocellula.

Studi condotti su pecore infettate sperimentalmente e sottoposte ad embryo transfer, hanno dato risultati contraddittori. In una ricerca, trasferendo con le normali procedure di lavaggio embrioni da pecora infetta a pecora sana, questi non hanno manifestato l'infezione; in un'altra 6 embrioni su 26, trasferiti senza lavaggio, sono invece risultati infetti. La possibilità che l'infezione sia trasmessa dalla madre al feto *in utero* è anche supportata dalle osservazioni che la progenie di pecore infette può contrarre la malattia in giovane età. L'agente della scrapie non è stato isolato da materiale seminale, testicoli e vescicole seminali di arieti infetti. Mediante inseminazione strumentale con seme di arieti infetti non è stata dimostrata la trasmissione dell'infezione alle pecore ed alla progenie. Il ruolo dell'ariete nella trasmissione verticale sembra quindi meno importante di quello della pecora.

b) *Trasmissione perinatale* - All'interno dei greggi infetti la scrapie presenta maggiore incidenza in gruppi di pecore consanguinee, ciò è dovuto in parte all'influenza dei

fattori genetici sulla recettività alla malattia, ed in parte alla trasmissione dell'agente infettante che avviene prevalentemente nel periodo perinatale. Non si sa quando la placenta si infetta durante il lungo decorso dell'infezione extraneurale, ma è certo che ancora prima delle manifestazioni cliniche, l'agente può essere presente nella placenta e venire disperso nell'ambiente al momento del parto. Gli agnelli si infettano prevalentemente per via digerente assumendo l'agente dall'ambiente contaminato, pertanto all'interno dei greggi infetti anche gli agnelli nati da pecore non infette presentano un elevato rischio di infezione. Il contatto prolungato con la madre potrebbe far assumere all'agnello quantità di agente sufficienti a consentire l'attecchimento dell'infezione. L'importanza della esposizione prolungata al contagio è stata dimostrata sperimentalmente. I soggetti che erano stati sottoposti ad una esposizione più prolungata manifestarono una incidenza più alta di malattia e tempi di incubazione più brevi. Risultati simili sono stati ottenuti nella capra. A seguito della trasmissione perinatale, dato il lungo periodo di incubazione, il picco dei casi di malattia si verifica generalmente intorno al 3°- 4° anno di età. Una dimostrazione indiretta dell'importanza della carica infettante ambientale viene da diverse osservazioni fatte in Gran Bretagna, Islanda, Francia ed USA, secondo le quali una volta che la scrapie è divenuta endemica nel gregge l'età media dei soggetti colpiti tende ad abbassarsi. Questo può essere dovuto al fatto che, con il diffondersi dell'infezione nel gregge, gli agnelli vengono a contatto con quantità di agente infettante sempre maggiori. La trasmissione orizzontale dell'agente della scrapie può avvenire anche fra soggetti non consanguinei di qualsiasi età. In condizioni naturali la via di penetrazione più importante dell'agente sembra essere quella digerente, con orofaringe ed intestino come prime sedi di localizzazione, ma in condizioni sperimentali è stata ottenuta anche la trasmissione per via congiuntivale e mediante scarificazione, per cui non si può escludere la possibilità di penetrazione dell'agente anche attraverso ferite, escoriazioni ed iniezioni. Non si hanno informazioni su quale sia la dose infettante minima. L'opinione prevalente è che la ricettività all'infezione naturale delle pecore e delle capre sia massima al momento della nascita e poi diminuisca gradualmente. L'agente è stato frequentemente identificato nell'intestino e talvolta nella mucosa nasale e rettale dei soggetti infetti. Fino a poco tempo fa, in base ad una serie di studi sperimentali, latte, colostro e ghiandola mammaria venivano considerati nella categoria dei materiali biologici ad "infettività non misurabile". I risultati di una recente ricerca eseguita in Inghilterra aggiungono ulteriori utili

informazioni sulle modalità di trasmissione delle TSE nei piccoli ruminanti, dimostrando che oltre gli ambienti contaminati anche il latte infetto può essere una sorgente di infezione per gli agnelli e che la trasmissione può avvenire successivamente anche per via orizzontale da agnelli infetti ad agnelli sani. L'agente può resistere per alcuni anni negli ambienti contaminati, in letteratura è riportato un esperimento in cui un omogenato di cervello infetto è stato interrato e lasciato sepolto per 3 anni. Trascorso tale periodo la terra contaminata conteneva ancora un certo grado di infettività. In Islanda la malattia è ricomparsa in alcune aziende, a distanza di 3 anni, dopo che queste erano state ripopolate con soggetti provenienti da zone indenni. L'infezione si diffonde da un gregge all'altro soprattutto mediante l'introduzione di animali clinicamente sani con infezione a livello dei tessuti linforeticolari, dai quali viene presumibilmente diffuso nell'ambiente. La trasmissione dell'infezione da parte dei soggetti portatori asintomatici è supportata dal fatto che l'incidenza della scrapie nella progenie delle pecore infette non varia a seconda che queste manifestino o non manifestino la malattia. La presenza dell'agente della scrapie nei tessuti linfoidei da un lato, con tempi più o meno lunghi, porta al passaggio dell'infezione al SNC ed al manifestarsi della malattia, dall'altro contribuisce alla trasmissione dell'infezione ad altri soggetti. Anche se la maggior parte dei nuovi focolai prende origine da contatti con animali infetti, le esperienze islandesi non escludono che il contagio possa avvenire anche tramite vari veicoli contaminati: fieno, attrezzature per la tosatura, la cura ed il governo degli animali. Pecore indenni si sono infettate pascolando due volte alla settimana per 3 anni consecutivi, su terreni dove avevano soggiornato pecore malate. E' segnalato in letteratura un caso di trasmissione iatrogena dell'infezione. L'agente infettante era presente nel cervello di agnelli di 8 mesi figli di una pecora infetta. Il cervello di questi agnelli era stato usato per la preparazione di un vaccino contro il Louping-ill e l'infezione fu trasmessa ad animali vaccinati in greggi nei quali non erano stati segnalati in precedenza casi di scrapie. Diversi focolai d'infezione sono stati messi in relazione con l'introduzione, alcuni anni prima, di un ariete nel gregge, quindi è probabile che arieti infetti, in fase preclinica, possano diffondere l'infezione, anche se non esiste alcuna dimostrazione sicura che la trasmissione possa avvenire mediante il coito. E' anche possibile che in alcuni casi l'ariete, trasmettendo alla progenie caratteristiche genetiche di maggiore recettività alla malattia, contribuisca a che l'infezione, già presente nel gregge, si manifesti in forma clinicamente apparente.

## 1.6 Aspetti clinici

La malattia è caratterizzata clinicamente da un decorso cronico e colpisce animali adulti di età compresa tra i 2 anni e mezzo ed i 4 anni e mezzo, mentre raramente si riscontra in animali sotto i 18 mesi di età.

Il periodo di incubazione dell'infezione naturale è molto lungo e va dai 2 ai 5 anni a seconda del genotipo della pecora infetta.

Il decorso clinico della malattia naturale va da 8 a 24 settimane nella pecora e da 2 a 24 settimane nella capra.

L'insorgenza della malattia è subdola con segni clinici che vengono spesso notati solo dall'allevatore, variano ampiamente tra gli animali e si sviluppano molto lentamente.

L'esame clinico mette in evidenza :

- stato di nutrizione scadente (emaciazione) con appetito conservato ;
- musello e/o zampe imbrattati di materiale ruminale;
- vello sfilacciato ed aree alopeciche simmetriche (fig.7);
- presenza di lesioni cutanee da autotraumatismo (eritemi, escoriazioni, croste).

**Figura 7. Soggetti colpiti da scrapie**



L'esame clinico particolare del SNC permette di evidenziare alterazioni a carico del comportamento, della sensibilità, del movimento e del Sistema Nervoso Autonomo.

### Alterazioni del comportamento, stato mentale

- timore/apprensione;
- aggressività;
- attacchi convulsivi;
- digrignamento dei denti (bruxismo);
- atteggiamenti di stupore;

- depressione del sensorio.

### Alterazioni della sensibilità

- prurito, grattamento:
  - sfregamento contro oggetti fissi (testa, fianchi, sacro, base della coda);
  - mordicchiamento delle estremità degli arti;
  - grattamento della regione laterale del torace con gli arti posteriori;
  - aree alopeciche e lesioni simmetriche dovute al grattamento.
- nibble: estensione del collo sulla testa, digrignamento dei denti e sollevamento ritmico e rapido del labbro superiore associato a movimenti di masticazione; può essere spontaneo o provocato grattando il soggetto nella parte posteriore del collo e sul dorso);
- frequenti leccamenti del musello;
- movimenti delle orecchie che tendono a rimanere estese lateralmente ad ali di aereo;
- tosse;
- belato tremolante o assente;
- maggiore sensibilità a stimoli tattili, luminosi, acustici;
- percezione visiva alterata, fino alla completa cecità.

### Alterazioni del movimento

- postura:
  - arti anteriori incrociati, arti posteriori divaricati;
  - postura della testa alterata;
  - coda portata in alto;
  - decubito.
- andatura:
  - incerta, barcollante, atassica;
  - ipermetria/dismetria;
  - andatura trotterellante;
  - saltellamento con arti posteriori (hopping);
  - cadute e/o difficoltà ad alzarsi.
- fascicolazioni muscolari;
- tremori;

### Alterazioni del Sistema Nervoso Autonomo

- ridotta cinesi ruminale;
- accumulo del materiale ruminale in cavità boccale;
- scialorrea;
- modificazione del ritmo cardiaco;
- polidipsia.

I segni clinici della scrapie possono essere confusi con quelli di una serie di altre malattie che vengono di seguito elencate:

#### → Emaciazione

- paratubercolosi;
- parassitosi;
- patologie polmonari croniche;
- fascioliasi;
- tossicità da rame;
- neoplasie;
- linfadenite caseosa;
- patologie a carico dei denti.

#### → Alterazioni del comportamento

- meningiti batteriche;
- listeriosi;
- ascessi cerebrali;
- cenurosi;
- tossiemia gravidica.

#### → Aggressività

- rabbia;
- ipomagnesiemia.

#### → Bruxismo

- acidosi ruminale;
- enteriti;
- parassitosi;
- chetosi.

→ Prurito/perdita del vello

- rogna;
- pediculosi;
- dermatofitosi;
- pseudo rabbia.

→ Nibble

- pseudorabbia;
- dermatofitosi;
- fotosensibilizzazione;
- allergie.

→ Belato tremolante o assente

- faringiti traumatiche o infiammatorie;
- malattie sistemiche.

→ Alterazioni del movimento

- traumi;
- ipocalcemia;
- lesioni cerebellari;
- abiotrofia.

→ Tremori muscolari

- carenza di tiamina (Vit. B1);
- carenza di Vit. E – Selenio;
- infezioni (tossiemia);
- listeriosi;
- ipoglicemia;
- avvelenamenti.

## 1.7 Aspetti anatomoistopatologici

All'esame necroscopico gli animali mostrano segni di deperimento organico più o meno evidenti, eventuali abrasioni cutanee causate dal grattamento, ma nessuna lesione macroscopica a carico del SNC, salvo un lieve aumento del liquido cefalo rachidiano (LCR) associato a modesta ectasia dei ventricoli cerebrali.

Le lesioni istologiche, variabili per intensità e distribuzione, risultano confinate al SNC e, in particolare, ai nuclei telencefalici (nucleus accumbens septi), diencefalici (ipotalamici e talamici), al corpo striato, al peduncolo, al cervelletto (corteccia e nuclei sottocorticali), al midollo allungato (nucleo dorsale del nervo vago), alla corteccia cerebrale (incostantemente) ed al midollo spinale.

Tali lesioni, bilaterali e simmetriche, sono:

- spongiosi della sostanza grigia e anche della sostanza bianca;
- degenerazione e perdita neuronale
- gliosi astrocitaria (astrocitosi/astrogliosi).

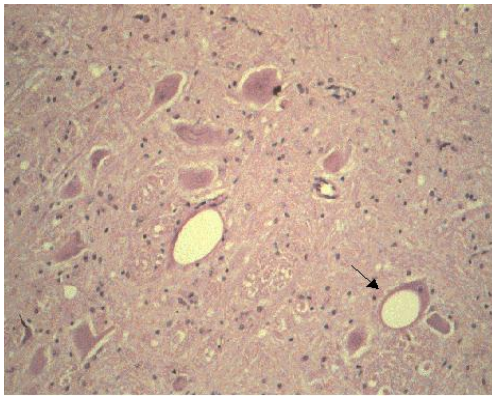
Tali alterazioni sono di rilevanza proporzionale al decorso della malattia.

La lesione di importanza diagnostica è la vacuolizzazione neuronale, che nella scrapie sperimentale compare rapidamente e prevalentemente nei dendriti (fig. 8).

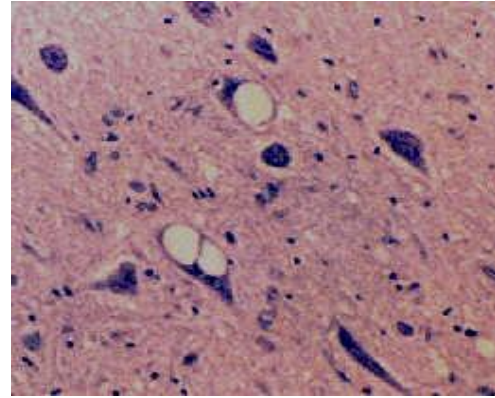
### Figura 8. Vacuolizzazione neuronale

- **a: SNC di ovino:** *Nucleo del nervo Facciale, vacuolo all'interno di un neurone.*
- **b: Tessuto cerebrale ovino.** *Vacuolizzazione dei neuroni.*  
(colorazione ematossilina - eosina).
- **c: Tessuto cerebrale ovino.** *Presenza di PrP<sup>Sc</sup> attorno ad un vaso cerebrale.*  
(colorazione immunoistochimica).
- **d: SNC di capra:** *colorazione immunoistochimica che mette in evidenza una placca amiloide (Anticorpo PEO306)*

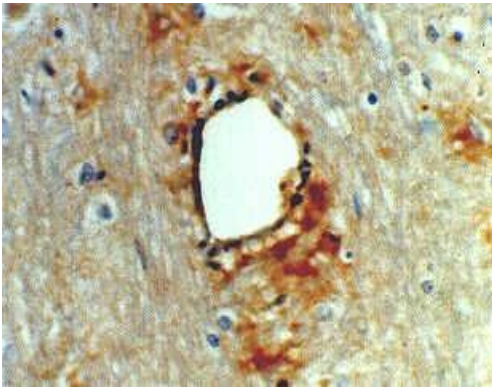




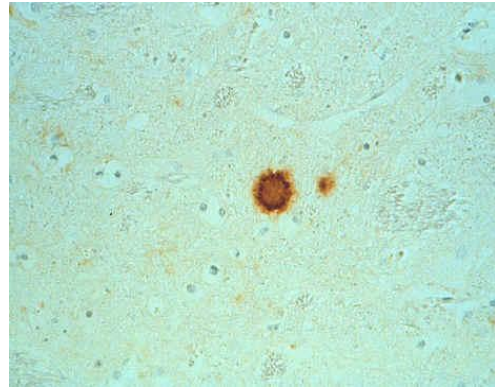
a



b



c



d

I caratteristici vacuoli citoplasmatici possono essere piuttosto ampi, hanno margini netti, sono unici o multipli ed eccentrici, non contengono di solito niente di colorabile, salvo talvolta dei globuli acidofili, che rappresentano accumuli di frammenti di membrane plasmatiche in degenerazione. I neuroni vacuolizzati si rinvennero particolarmente numerosi, in genere, nella formazione reticolare e nei nuclei vestibolare mediale, cuneato laterale e papilliforme. I neuroni possono essere occasionalmente affetti da altre alterazioni regressive, quali coartazione ed iperbasofilia citoplasmatica, cromatolisi centrale e coagulazione (alterazione cellulare ischemica).

### 1.8 Scrapie atipica

A partire dal 1998 in Norvegia, si sono verificati casi di scrapie ovina che avevano caratteristiche clinico-epidemiologiche e patologiche sensibilmente diverse dalla scrapie che si era sino ad allora osservata (Moum, 2005). Questa scrapie, così detta *atipica*, è stata indicata con la sigla Nor98 [13].

La scrapie Nor98 si differenzia dalla scrapie classica per distribuzione e gravità delle lesioni istopatologiche (*profilo istolesivo*) e per distribuzione e morfologia dei depositi di PrP<sup>Sc</sup> nel cervello (*profilo immunoistochimico*). L'esame istologico del tessuto cerebrale

rivela vacuolizzazione essenzialmente nel cervelletto e nella corteccia cerebrale, mentre la vacuolizzazione risulta meno diffusa, sino a mancare del tutto, a livello dell'obex. Con tecniche immunoistochimiche, gli aggregati di PrP<sup>Sc</sup> si osservano maggiormente nella corteccia cerebellare e cerebrale. Da quanto riportato sinora in letteratura, mediante tecniche immunobiochimiche e immunoistochimiche, nessun accumulo di PrP<sup>Sc</sup> è stato rilevato negli organi linfatici (Benestad, 2003).

Con l'ausilio del Western Blotting sul tessuto nervoso, si è dimostrata l'originalità del Nor98, che presenta un tipo di PrP<sup>Sc</sup> diverso da quelli sinora noti per la scrapie classica, caratterizzato da una banda bassa di circa 12 kDa di peso molecolare.

L'analisi del genotipo di circa 38 ovini affetti da Nor98 (Moum, 2005) ha rilevato 5 alleli, 4 dei quali – AHQ, ARQ, ARH, ARR – normalmente correlati ai caratteri di sensibilità/resistenza alla scrapie classica ed uno nuovo allele che porta una mutazione al codone 141 (AF<sub>141</sub>RQ).

Il clonaggio del gene che codifica per la PrP ha permesso di determinare la specifica combinazione dei polimorfismi in ciascun cromosoma stabilendo che la mutazione F<sub>141</sub> è legata esclusivamente all'allele ARQ.

Il carattere di maggior suscettibilità all'infezione è correlato agli alleli AF<sub>141</sub>RQ e AHQ, l'uno e l'altro o entrambi gli alleli erano presenti in 36 su 38 casi di Nor98, mentre solo due avevano genotipo ARQ/ARQ senza nessuna altra mutazione. Inoltre l'allele AF<sub>141</sub>RQ è associato ad un più alto rischio di malattia rispetto all'allele AHQ, con effetto cumulativo dei due. Di recente sono stati osservati casi anche in soggetti con il genotipo ARR/ARR.

Benché l'infezione da Nor98 sia riscontrata in tutti gli alleli, l'EFSA, riesaminando la suscettibilità dei vari genotipi osservati nei casi di Nor98 e atipici, (Annex III to The EFSA Journal (2006), 382. Opinion on the Breeding programme for TSE resi stance in sheep), stabilisce che i genotipi con gli alleli AF<sub>141</sub>RQ e AHQ (compreso AF<sub>141</sub>RQ/ARR e l'AHR/ARR) risultano essere quelli maggiormente correlati alla suscettibilità.

Tra questi, i genotipi più suscettibili sembrano essere l' AF<sub>141</sub>RQ/AFRQ, AHQ/AHQ e l'AFRQ/AHQ.

Per quanto riguarda la presenza del genotipo ARR/ARR fra i casi atipici di scrapie, sebbene nel Regno Unito ed in Francia la prevalenza della malattia tra le pecore ARR/ARR sia più alta che tra quelle con il genotipo AL<sub>141</sub>RQ/ AL<sub>141</sub>RQ le differenze non sono risultate significative, e il rischio di infezione sembra essere uguale a quello dell'allele ARQ, a sua volta correlato con un basso rischio di infezione.

L'età media dei soggetti malati è approssimativamente di 6 anni, con una variabilità che va dai 36 mesi ai 100 mesi. Gli animali più giovani colpiti dalla malattia hanno genotipo AF<sub>141</sub>RQ/ AF<sub>141</sub>RQ, AF<sub>141</sub>RQ/AHQ, AHQ/AHQ. Nessuna differenza sostanziale di età è stata osservata tra gli animali con gli altri genotipi.

La scrapie Nor98 sembra essere una malattia sporadica con un'incidenza bassissima: generalmente all'interno del gregge si ammala un solo animale, a volte due (Moum, 2005). Questo fa pensare che tale malattia non abbia un'origine infettiva come la scrapie classica, ma che possa essere paragonata alla forma sporadica umana della malattia di Creutzfeldt-Jakob.

## 1.9 Diagnosi

Il Reg. 999/2001/CE - e successive modifiche - stabilisce che qualsiasi animale trovato morto, abbattuto, oppure regolarmente macellato di età superiore ai 24 mesi (bovini) o ai 18 mesi (ovi-caprini), venga sottoposto ad un esame per TSE in uno dei 24 Laboratori accreditati degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali, che costituiscono la rete di sorveglianza sul territorio nazionale.

Tale attività si basa sull'applicazione di test detti "rapidi" che, rispetto i metodi di diagnostica classica, l'analisi di un numero relativamente elevato di campioni di tronco encefalico in tempi brevi [26].

In caso di esito positivo o dubbio al test il campione deve essere inviato al Centro di Referenza Nazionale per le Encefalopatie Animali (CEA), presso l'Istituto Zooprofilattico di Torino, per essere sottoposto alle prove diagnostiche di conferma (esame istologico, esame immunostochimico e Western Blot).

I test rapidi approvati dalla Commissione Europea al momento sono cinque:

- Prionics Check Western;
- Enfer e Biorad, test di prima generazione, già approvati nel 2001;
- Prionics Check Lia e InPro CDI, introdotti in seguito.

Sono tutti test post mortem, basati sulla rilevazione della PrP<sup>Sc</sup> nel SNC. Il sito di elezione per il prelievo del campione da sottoporre a prova, indipendentemente dal tipo di test applicato, è l'obex: porzione più aborale del tronco encefalico (fig. 9 ), poiché è a questo livello che si trovano i nuclei indicati come prima sede di accumulo della PrP<sup>Sc</sup> nel SNC [14].

L'esecuzione di un prelievo non idoneo, nel quale non sia presente l'obex, preclude la certezza di un risultato negativo. In assenza dell'obex però il test viene comunque eseguito perché, qualora la PrP<sup>Sc</sup> fosse presente e rilevabile, il dato di positività sarebbe comunque attendibile.

In caso di prelievo non idoneo la carcassa dell'animale, anche se proviene da un animale regolarmente macellato e risultato negativo, viene destinata all'incenerimento.

Resta comunque immutato il provvedimento che riguarda gli animali con sintomatologia neurologica, che prevede di procedere al prelievo del SNC in toto ed all'invio al CEA, dove la regione dell'obex viene sottoposta alle prove di conferma; se queste ultime risultano negative, l'encefalo in toto viene esaminato per formulare una diagnosi differenziale.

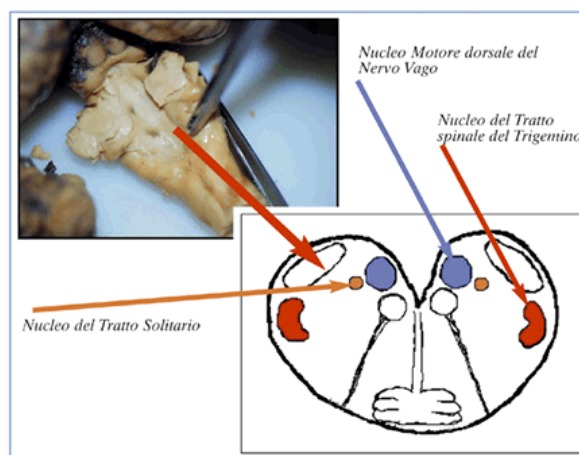
Poiché anche le prove di conferma vengono eseguite a livello dell'obex è necessario dividere a metà il tronco encefalico con un taglio longitudinale a livello del rafe mediano: una metà deve essere fissata in formalina per l'esame istologico ed immunoistochimico, dall'altra metà viene prelevato un campione di obex utilizzato per il test rapido.

Quanto resta del campione viene congelato per il Western Blot di conferma (fig.10).

Una nota ministeriale (Prot. 600.6/BSE/3115, del Luglio 2002) invita ad inviare al CEA una porzione di midollo allungato congelato di peso non inferiore ai 2 g.

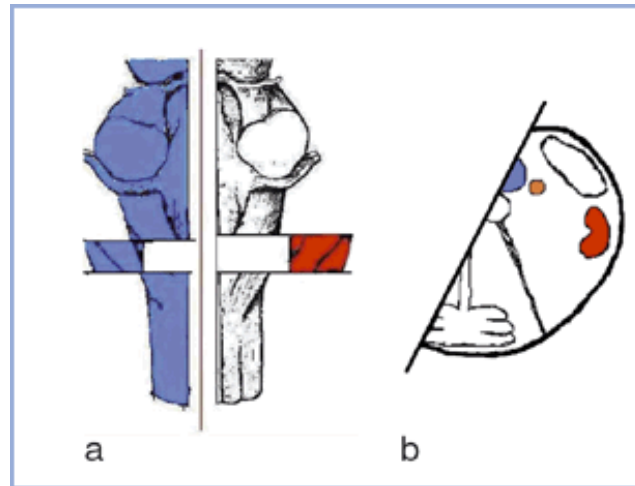
in caso di risultato positivo si procedere, in accordo con il Reg 999/2001/CE, si procede ai test discriminatori per differenziare gli stipiti di scrapie da quelli di BSE. Questi si basano sul pattern immunoistochimico della PrP<sup>Sc</sup> e sul glicotipo al Western Blot, successivamente si effettua la prova biologica nel topino.

**Figura 9. Midollo allungato**  
*Rappresentazione schematica dei principali nuclei dell'obex.*



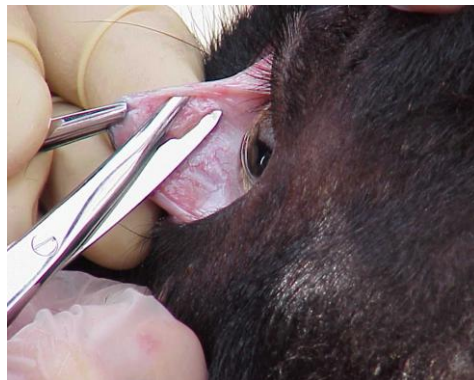
### Figura 10. Obex

**(a)** rappresentazione schematica di corretta esecuzione del prelievo: in blu porzione da fissare in formalina 10%, in rosso area da campionare per il test rapido, in bianco parte da congelare a  $-20^{\circ}$ ; **(b)** tagli asimmetrici.



Per quanto riguarda la diagnosi ante mortem, è possibile effettuare una indagine immunohistochimica (IHC) mediante biopsia di diversi tessuti e organi, quali terza palpebra (vedi figura 11) [26], tonsille, mucosa rettale e altri tessuti linfoidi, al fine di svelare positività prima dell'esordio dei segni clinici. Per il momento tali indagini, costose e laboriose, rimangono ancora confinate all'ambito della ricerca e non trovano applicazione nella routine diagnostica. [27].

### Figura 11. Biopsia della terza palpebra



Sono stati effettuati anche tentativi per identificare la PrP<sup>Sc</sup> nel sangue, senza ottenere risultati soddisfacenti. I test utilizzati sono:

- Immunocompetitive Capillary Electrophoresis (ICCE), basata sull'emissione di fluorescenza da parte della PrP<sup>Sc</sup> in sede ematica, metodica però ancora in fase di perfezionamento;
- Protein Misfolding Cyclic Amplification (PMCA), concettualmente analoga alla PCR.

È oggetto di studio anche la ricerca della PrP<sup>Sc</sup> nelle urine, dato che, seppur a basse concentrazioni, è stata provata la presenza della proteina prionica in questo secreto.

## **1.10 Aspetti di sanità pubblica**

Ne la forma classica, ne quella atipica di scrapie hanno mai determinato casi di infezione nell'uomo. Un potenziale pericolo per l'uomo si poteva avere se l'agente della BSE del bovino si fosse diffuso nella popolazione ovina, ma questo fortunatamente non è avvenuto. Nonostante ciò tramite il sistema di sorveglianza attiva si continua a monitorare la situazione epidemiologica ed in ogni focolaio di scrapie vengono eseguiti i test discriminatori, per escludere la presenza della BSE.

### **1.10.1 Esposizione umana all'agente della scrapie tramite latte e derivati**

Il gruppo di esperti sui pericoli biologici (BIOHAZ) dell'EFSA ha valutato l'esposizione umana e animale agli agenti della TSE nel latte di ovini e caprini e nei suoi derivati [10]. Il gruppo BIOHAZ ha concluso che il consumo del latte e dei suoi derivati, provenienti da allevamenti con presenza di scrapie classica potrebbe esporre l'uomo all'agente della scrapie. Poiché la scrapie classica è una malattia che non risulta colpire l'uomo, non ci sono implicazioni per la salute umana.

In un articolo pubblicato il 3 novembre del 2005 sulla rivista *Nature Medicine*, Ciriaco Ligios e collaboratori dell'Istituto Zooprofilattico di Sassari, segnalavano di aver evidenziato la PrP<sup>Sc</sup> nella mammella di pecore affette da scrapie in particolare quando era contemporaneamente presente mastite interstiziale da lentivirus. Gli stessi ricercatori non sono stati in grado di mettere in evidenza la PrP<sup>Sc</sup> nel latte di soggetti affetti da scrapie..

Il fatto che sia difficile ritrovare la PrP<sup>Sc</sup> nel latte ovino di pecore con scrapie, non esclude che tale proteina possa essere comunque presente, a titoli molto bassi, tali da non poter essere svelata con le metodiche analitiche attuali. Questo fatto, se da un lato non ha

conseguenze di sanità pubblica, dall'altro sottolinea l'importanza della trasmissione dell'agente della scrapie tramite il latte nelle popolazioni ovine infette.

### **1.10.2 Esposizione umana all'agente della scrapie tramite carne**

Come è noto la cosiddetta “nuova variante di Creutzfeldt-Jakob” - che sino al dicembre del 2006 ha colpito nella sola Europa 192 persone - ha avuto origine dalla BSE.

Per quanto fino ad ora non siano stati segnalati casi di infezione naturale da parte dell'agente della BSE in ovini e caprini, non si può escludere che farine animali, prodotte durante l'epidemia di BSE, possono essere finite in mangimi destinati a ovini e caprini, e che non possano essersi verificate forme di contaminazione crociata fra farine destinate alle due specie [11].

La BSE è stata indotta sperimentalmente negli ovini e nei caprini, dove ha determinato una malattia che dal punto di vista clinico indistinguibile dalla scrapie. Inoltre le dinamiche di neuroinvasione dell'agente della BSE nei piccoli ruminanti sono più precoci e più estese rispetto al bovino e coinvolgono anche gli organi linfoidi, così come avviene nella scrapie. Se l'agente della BSE si diffondesse negli ovini e nei caprini, a differenza di quanto accade nei bovini, l'eliminazione dei tessuti specifici a rischio degli animali macellati non tutelerebbe i consumatori e per fare ciò sarebbe necessario distruggere l'intera carcassa. Per quanto tale rischio sia per il momento del tutto teorico alcuni Stati hanno approntato piani di emergenza che prevedono, in caso di TSE negli ovini, di avviare al consumo umano solo i soggetti di genotipo resistente e distruggere tutti gli altri.

Inoltre a livello comunitario è emersa l'esigenza di risanare gli allevamenti ovini e caprini dalla scrapie, mediante la selezione genetica (Decisione della Commissione del 13 febbraio 2003 pubblicata sulla GU dell'UE del 14.2.2003).

In questo documento, al punto 2, è evidenziata la mancanza di un metodo diagnostico routinario per distinguere la BSE dalla scrapie e l'eventuale possibilità che le TSE negli ovini e nei caprini possano rappresentare un potenziale pericolo per la salute pubblica. Pur essendo basata su robuste evidenze sperimentali, la decisione riconosce esplicitamente una vasta area di incompletezza conoscitiva sul tema, che si auspica venga colmata quanto prima..

Un punto critico è costituito dalle scarse conoscenze sulla patologia negli animali infetti asintomatici che non permettono una gestione sanitaria sicura dei greggi affetti da scrapie.

L'obiettivo è quello di evitare che:

- animali clinicamente sani, ma infetti vengano avviati alla macellazione e al libero consumo;
- animali clinicamente sani ma infetti siano venduti ad altri allevamenti con rischio di diffusione della malattia.

## **1.11 Controllo e profilassi**

Nei confronti della scrapie non sono possibili profilassi vaccinale e trattamenti terapeutici. I metodi di lotta contro la malattia dipendono dalla situazione epidemiologica e a seconda dei casi consistono nella prevenzione, nella eradicazione e nel controllo [15,26].

### **1.11.1 Prevenzione**

I Paesi indenni dalla malattia riescono a mantenersi tali attraverso rigide misure di prevenzione che comportano il divieto di importazione di pecore e capre dai Paesi non indenni. Più difficile è riuscire a prevenire l'introduzione dell'infezione in greggi indenni all'interno di Paesi nei quali l'infezione è presente. Il metodo più sicuro di prevenzione consiste nel mantenere il gregge completamente isolato, eseguendo la rimonta interna senza introdurre soggetti da altri greggi.

In caso di introduzione di animali si dovrebbe acquistare solo da greggi sicuramente indenni, ma in pratica se si introducono animali si corre sempre qualche rischio, infatti, in mancanza di test diagnostici che permettano di svelare i soggetti con infezione preclinica e dato il lungo periodo di incubazione della malattia, anche in greggi apparentemente sani è difficile essere assolutamente certi sulla indennità dei singoli soggetti.

La denuncia di scrapie è stata resa obbligatoria con l'OM 10.5.91. La normativa sugli scambi dei piccoli ruminanti nell'Unione Europea (DPR 30.12.92 n° 556) stabilisce in 2 anni il tempo minimo di assenza della scrapie dall'azienda di origine, ma questo tempo può essere spesso insufficiente.

### **1.11.2 Eradicazione**

L'eradicazione ha avuto successo soltanto in focolai isolati verificatisi nel 1952 in Australia e Nuova Zelanda a seguito di importazione di soggetti infetti dalla Gran Bretagna. La malattia è stata eradicata con successo mediante l'abbattimento di tutte le pecore importate, la loro progenie e tutti i soggetti venuti in contatto con loro. In Australia



nel 1984 è stata proibita l'importazione di pecore dai Paesi con infezione endemica ed è iniziato un rigido programma di prevenzione (*Scrapie Freedom Assurance Program*) che prevede un periodo di quarantena di 5 anni per animali importati e loro progenie.

L'eradicazione della scrapie dai Paesi con infezione endemica risulta molto difficile a causa della lunga sopravvivenza dell'agente infettante nei pascoli e negli ovili contaminati; il ripopolamento delle zone dove hanno soggiornato animali infetti sottopone al rischio di reinfezioni, anche a distanza di anni dall'estinzione del focolaio. Per questo in Islanda, dove l'interesse economico ad eradicare la scrapie è molto alto, dal 1978 è iniziato un programma molto rigido, con l'obiettivo di raggiungere gradualmente l'eradicazione abbattendo tutte le pecore dei greggi infetti ed in alcuni casi anche quelle dei sospetti contaminati. Le aziende, dopo gli abbattimenti devono essere lasciate vuote per due anni. Un anno prima del ripopolamento, che deve avvenire acquistando i capi in una zona del Paese libera dalla malattia, devono essere attuate procedure scrupolose di pulizia, disinfezione e risanamento ambientale che in sintesi comportano:

- lavaggio a pressione con soluzioni saponose;
- disinfezione con ipoclorito di sodio;
- flambatura delle parti non combustibili;
- bruciatura delle parti in legno e non disinfettabili;
- verniciatura dei locali fino a m 1,50 di altezza;
- rimozione del terreno antistante ai ricoveri ed eventuale asfaltatura;
- divieto di utilizzare il primo taglio di fieno dei pascoli infetti.

Vengono inoltre controllati campioni di cervello prelevati ai mattatoi delle zone infette per identificare eventuali aziende con infezione asintomatica, ed è proibito l'uso dei residui della macellazione per la preparazione di mangimi per animali.

Negli Stati Uniti il primo caso di scrapie fu diagnosticato nel 1947. Nel 1952 fu iniziato un programma di eradicazione che comprendeva la conferma dei focolai di scrapie mediante diagnosi di laboratorio, il sequestro e l'abbattimento dei greggi infetti, il rintraccio e l'abbattimento dei soggetti che provenivano da tali greggi. Questo programma non ha raggiunto l'obiettivo dell'eradicazione, ed è stato modificato con il passare del tempo a semplici misure di controllo per cui soltanto le pecore colpite da scrapie e la loro progenie vengono abbattute.

### 1.11.3 Controllo

Nei Paesi dove la scrapie è presente allo stato endemico il controllo viene attuato con l'abbattimento dei soggetti malati e, limitatamente ai greggi dove vengono sistematicamente registrati gli accoppiamenti e le nascite, anche con l'abbattimento selettivo dei soggetti imparentati con gli infetti e degli animali nati nello stesso periodo dei soggetti infetti. Queste misure riducono le probabilità di trasmissione dell'infezione ed allo stesso tempo consentono di eliminare i soggetti predisposti geneticamente a contrarre la malattia.

Altre misure di profilassi mirano a ridurre il rischio di contagio al momento dei parti e consistono nella rotazione, pulizia e disinfezione dei locali dove avvengono i parti e lo svezzamento precoce degli agnelli.

La strategia di controllo intrapresa a livello europeo, sancita da alcune Decisioni europee, è quella dell'abbattimento selettivo dei soggetti nei focolai in base al genotipo della PrP, in alternativa allo *stamping out* di tutti i soggetti presenti nel gregge. Nei focolai di scrapie si adottano le seguenti misure:

- divieto di entrata ed uscita animali;
- monitoraggio con test rapido ed istologico di tutti gli animali morti in azienda;
- analisi dei polimorfismi genetici sul gene della PrP eseguita con PCR, su DNA estratto da campioni di sangue di tutti i soggetti presenti in azienda;
- abbattimento solo dei capi considerati geneticamente ad alto rischio (femmine: senza almeno un allele ARR o portatrici dell'allele VRQ, maschi non omozigoti per l'allele ARR);
- analisi genetica dei nati dopo l'abbattimento delle ultime pecore;
- analisi genetica dei nuovi soggetti introdotti in allevamento.

## Cap.2. SITUAZIONE EPIDEMIOLOGICA

La scrapie è nota da quasi 3 secoli, il primo caso fu segnalato nel 1730 nel Regno Unito, ma molte sono le testimonianze che indicano la presenza di diversi focolai in Europa anche prima di quella data.

La scrapie attualmente è presente nella maggior parte degli Stati membri europei (Austria, Belgio, Francia, Germania, Grecia, Irlanda, Italia, Paesi Bassi, Regno Unito e Spagna). L'incidenza è comunque molto bassa, meno di 1000 casi nel 2000 in una popolazione ovina e caprina dell'UE di oltre 100 milioni di animali.

Danimarca, Lussemburgo, Finlandia, Portogallo e Svezia non hanno segnalato alcun caso di scrapie negli ultimi cinque anni (tab. 4).

**Tabella 4. Patrimonio zootecnico di alcuni Stati membri**

	<b>Pecore femmine da allevamento</b>	<b>Capre femmine da allevamento</b>
Belgio		
Danimarca	80.000	
Germania	1.590.000	
Grecia	6.173.000	4.072.000
Spagna	18.363.000	1.985.000
Francia	7.306.000	922.000
Irlanda	4.013.900	
Italia	8.334.000	1.175.000
Lussemburgo	6.160	
Paesi Bassi	1.040.000	
Austria	217.809	
Portogallo	2.436.000	454.000
Finlandia	49.600	5.100
Svezia	194.000	
Regno Unito	18.512.961	38.511

La malattia è stata segnalata anche in USA, Canada e Giappone e non è presente in Nuova Zelanda ed Australia.

## 2.1. In Italia

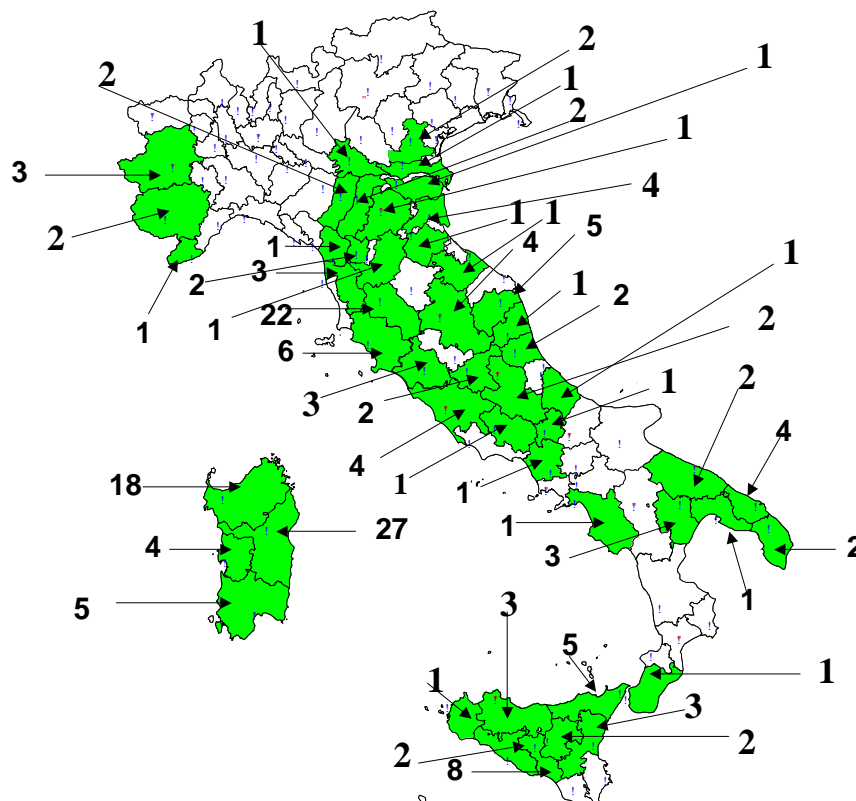
In Italia la malattia è stata segnalata per la prima volta nel 1976 in Piemonte.

Nel 1991 un'Ordinanza Ministeriale ha incluso la scrapie nell'elenco delle malattie infettive denunciabili e nel 1995 è stato segnalato il primo caso ufficiale.

In Italia, nel periodo 1995-2001, sono stati identificati 63 focolai (19 nel 1997, 9 nel 1998, 14 nel 1999, 15 nel 2000 e 6 nel 2001) con conferma della diagnosi almeno su un soggetto per ciascun focolaio, da parte del Centro di Referenza Nazionale (fig. 12,13).

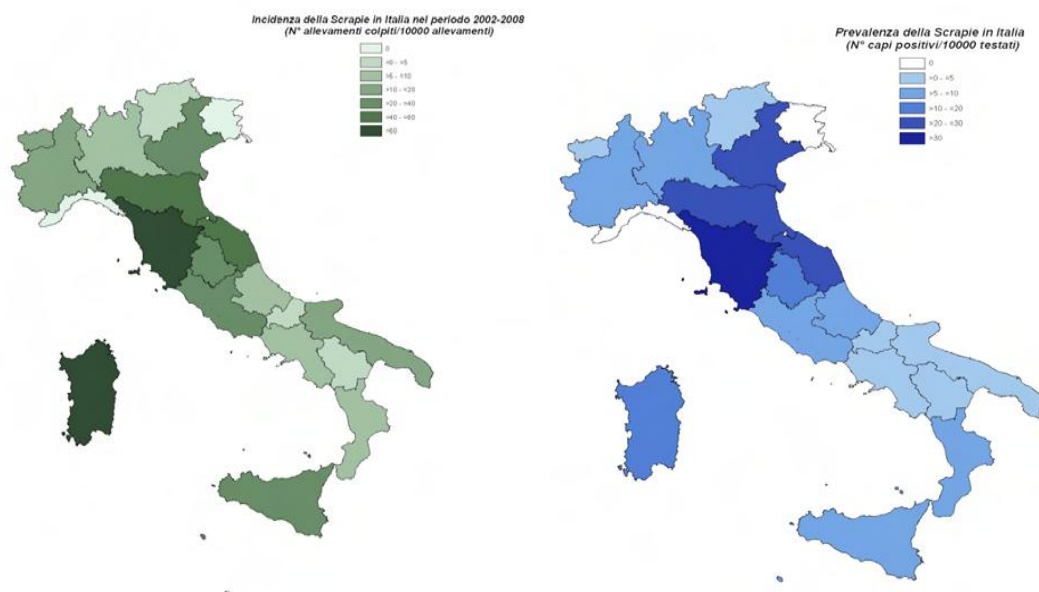
I focolai hanno interessato 39 greggi ovini, 5 greggi caprini e 19 misti (ovini e caprini), anche se in questi ultimi non sempre risultano coinvolte ambedue le specie. Oltre alle regioni Puglia, Sardegna, Sicilia e Toscana già interessate da focolai nel triennio 1995-1997, il quadriennio 1998-2001 ha visto il coinvolgimento di nuove regioni: Piemonte ed Emilia Romagna nel 1998; Basilicata, Lazio ed Abruzzo nel 1999; Liguria e Marche nel 2000; Umbria nel 2001. [16,17].

**Figura 12. Distribuzione geografica dei focolai nel periodo 1995-2005**



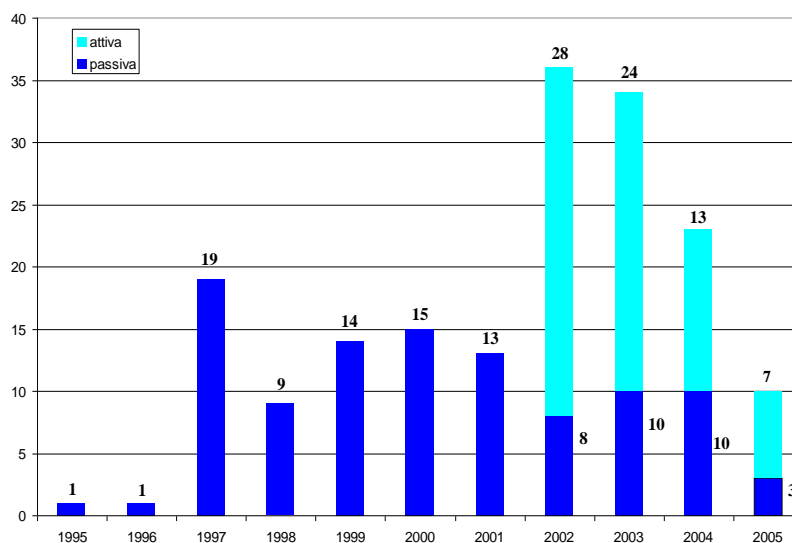
Fonte: CEA – Centro di Referenza nazionale per lo studio e le ricerche sulle encefalopatie animali e neuropatologie comparate.

**Figura 13. Confronto tra incidenza (fig. verde) e prevalenza (fig. blu) della scrapie in Italia dal 2002 al 2007**



Nei primi 10 mesi del 2003 sono stati identificati 26 focolai principalmente grazie alla sorveglianza attiva (SA) [18]. I dati di SA, riferiti al 2003 indicano che sino al 30 settembre sono stati sottoposti a test rapido 38.248 piccoli ruminanti, di cui 21 sono risultati positivi ( 15 appartenenti alla categoria regolarmente macellati e 6 alla categoria trovati morti); inoltre sono stati testati 2.878 animali abbattuti in sede di focolaio e tra essi il 3,9% è risultato positivo (grafico 1). Rispetto al numero di campioni richiesto all'Italia dall'UE è stato raggiunto il 78,5% dei test nella categoria degli animali morti e il 55,9% dei test nella categoria degli animali regolarmente macellati. La probabilità di trovare un caso di malattia è stata tre volte più elevata fra gli animali morti rispetto a quelli regolarmente macellati.

**Grafico 1. Andamento temporale dei focolai dal 1995 al 2005**

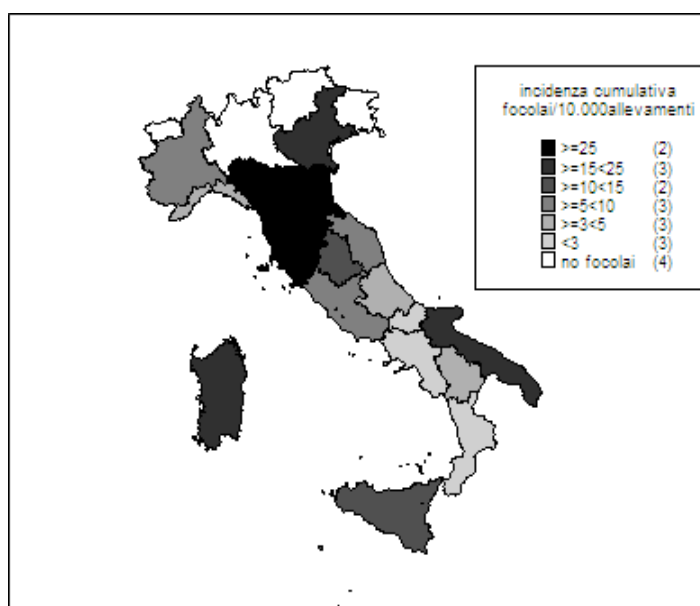


Fonte: CEA – Centro di Referenza nazionale per lo studio e le ricerche sulle encefalopatie animali e neuropatologie comparate.

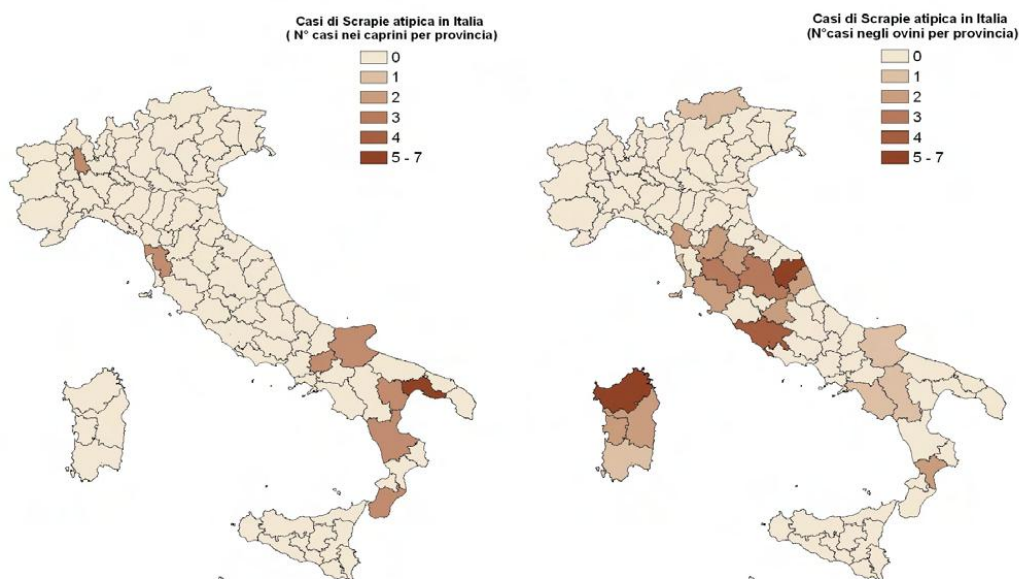
Il numero di regioni coinvolte è aumentato negli anni e negli ultimi due focolai hanno interessato 4 nuove regioni: Veneto, Calabria, Molise e Campania.

L'incidenza cumulativa di focolai per regione, indica che Toscana ed Emilia sono le regioni più interessate ( fig. 14); la specie colpita è nella maggior parte dei casi quella ovina, ma nel nostro paese il coinvolgimento della specie caprina risulta comunque importante.

**Figura 14. Distribuzione geografica e incidenza per regione**



**Figura 15. Scrapie atipica in Italia: numero assoluto di casi (animali) per provincia per ciascuna specie**



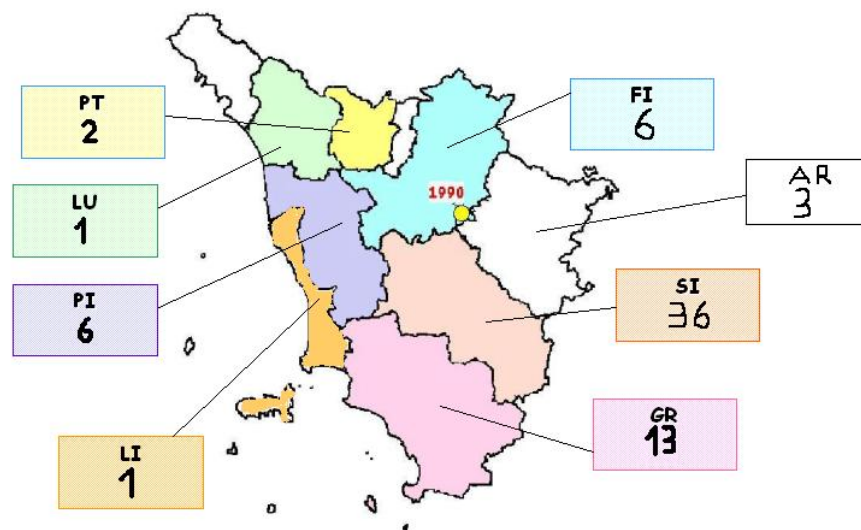
## 2.2. In Toscana

La Toscana è al quarto posto in Italia per consistenza numerica della popolazione ovicaprina, che secondo i dati dell'ultimo censimento ISTAT del 2000 è stimata in circa 572.000 capi, concentrati prevalentemente nelle province di Siena, Grosseto e Pisa.

La scrapie è presente in Toscana già da molti anni ed il primo caso descritto risale al 1990, in un allevamento di circa 500 ovini di razza sarda nel comune di Figline Valdarno (FI). Il primo focolaio denunciato secondo quanto stabilito da un'Ordinanza Ministeriale, risale al 1997 in un gregge di pecore massesi nel comune di S. Giuliano Terme (PI) [17]. Nell'aprile dello stesso anno la scrapie è stata diagnosticata in tre allevamenti contigui nel comune di Pienza (SI) e circa un mese dopo furono segnalati un focolaio nel comune di Radicofani (SI) e uno nel comune di Castelnuovo Berardenga (SI).

Dal 1990 al 2009 la malattia ha coinvolto 67 allevamenti, principalmente di razza sarda (fig.16)

**Figura 16. Localizzazione dei focolai di scrapie in Toscana**



Fonte: IZS-LT, Dipartimento di Siena

**.Tabella 5. Focolai distribuiti per ASL di competenza territoriale dal 1990 al 2009**

ANNO	1990	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003
ASL 10 FI	1	0	0	0	0	0	0	1
ASL 5 PI	0	1	0	0	0	0	1	0
ASL 7 SI	0	5	0	2	1	2	6	2
ASL 9 GR	0	0	2	0	0	1	1	1
ASL PT	0	0	0	0	0	0	0	1
ASL AR	0	0	0	0	0	0	0	0
ASL LU	0	0	0	0	0	0	0	0



ANNO	2004	2005	2006	2007	2008	2009
ASL 10 FI	0	1	0	2	1	0
ASL 5 PI	1	1	0	1	0	1
ASL 7 SI	3	7	3	4	1	0
ASL 9 GR	0	1	3	1	2	1
ASL PT	0	1	0	0	0	0
ASL AR	0	0	0	3	0	0
ASL LU	0	0	1	0	0	0

L'andamento temporale della malattia, ha subito un picco di 6 focolai nel 1997 e successivamente si è mantenuto stabile con 1 - 2 focolai all'anno. Nel 2002, con l' entrata in vigore della sorveglianza attiva sugli animali morti e su quelli regolarmente macellati, si è osservato un secondo picco con 8 focolai di cui 5 identificati con sorveglianza passiva e 3 con sorveglianza attiva. Negli anni seguenti si sono avuti altri 2 picchi rispettivamente nel 2005 e nel 2007, come si può vedere dalle tabelle 5 e 6.

L'incidenza cumulativa (numero di allevamenti colpiti ogni 10.000 allevamenti) per regioni italiane, indica che la Toscana insieme all'Emilia Romagna sono le regioni più colpite. La provincia di Siena rispetto alle altre province toscane presenta l'incidenza cumulativa più alta, sia come numero di capi presenti nei focolai rispetto alla popolazione totale, che come numero di focolai ogni 10.000 allevamenti.

Sebbene negli allevamenti colpiti le modalità di gestione del focolaio vengano prese in accordo con l'allevatore, la Regione Toscana propone l'abbattimento selettivo in alternativa all'abbattimento totale per salvaguardare il patrimonio ovicaprino regionale.

I dati di sorveglianza attiva, indicano che sino al 30 settembre 2003 sono stati sottoposti a test rapido 3.153 ovi-caprini; rispetto al numero di campioni atteso in base alla ripartizione regionale per il piano di sorveglianza (richiesto all'Italia dall'UE) è stato raggiunto il 52,3% dei test nella categoria degli animali morti (150/287) e il 28,7% dei test nella categoria degli animali regolarmente macellati (822/2866).

Dalle indagini sui fattori di rischio emerge che le movimentazioni di animali sono il fattore più importante di diffusione dell' infezione anche se non è possibile escludere un certo ruolo della promiscuità dei pascoli e dell'utilizzo di mangimi commerciali. Per alcuni focolai è stata ipotizzata una origine iatrogena, legata all'uso di un vaccino contro l'agalassia contagiosa, nella preparazione del quale erano stato usato encefalo ovino.

**Tabella 6. Distribuzione per anno focolai scrapie in Toscana**

ANNO	1990	1997	1998	1999	2000	2001	2002
N° focolai	1	6	2	2	1	3	8

ANNO	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
N° focolai	5	4	11	8	11	4	2

Il Decreto della Giunta Regionale della Regione Toscana n. 22 del 10/01/2005 istituisce il Progetto Regionale di Selezione Genetica per la resistenza alle TSE, sulla base delle linee guida emanate dal Ministero della Salute: *“Progetto nazionale di selezione genetica per la resistenza alle encefalopatie spongiformi negli ovini”*. (GU n. 51 del 3-3-2005)

L’obiettivo del Progetto è quello di incrementare la frequenza dei caratteri di resistenza genetica alle TSE nella popolazione ovina regionale al fine di:

- concorrere all’eradicazione delle TSE degli ovini sul territorio regionale;
- concorrere alla creazione di greggi a “basso rischio” di TSE;
- contribuire alla tutela della salute umana ed animale;
- valorizzare le produzioni ovine.

L’incremento dei caratteri di resistenza viene realizzato attraverso:

- l’eliminazione dell’allele VRQ tramite il divieto di utilizzo di riproduttori portatori di tale allele;
- l’incremento della frequenza dell’allele ARR negli allevamenti aderenti al Progetto;
- la costituzione di serbatoi di arieti omozigoti resistenti (ARR/ARR), utili anche per il ripopolamento degli allevamenti infetti;
- la progressiva diminuzione della frequenza dell’allele ARQ negli allevamenti aderenti al Progetto.

Il Progetto è obbligatorio a partire dal 1 aprile 2005, nei greggi di elevato valore genetico, mentre continua ad essere volontario per i greggi commerciali (tab.7).

**Tabella 7. Progetto regionale di selezione genetica per la resistenza alle TSE**

<b>Tipologia di allevamento</b>	<b>Descrizione Tipologia</b>	<b>Data di inizio</b>	<b>Tipo di adesione</b>
A) Greggi ad elevato valore genetico	Greggi interamente registrati presso i libri genealogici Nazionali	1 aprile 2005	Obbligatorio
B) Greggi ad elevato valore genetico	Greggi nei quali la percentuale di riproduttori maschi in età riproduttiva iscritti ai libri genealogici è uguale o superiore al 50%	1 aprile 2005	Obbligatorio
C) Greggi commerciali	Greggi non iscritti ai libri genealogici o nei quali la percentuale di riproduttori maschi in età riproduttiva iscritti ai libri genealogici è inferiore al 50%	1 aprile 2005	Volontario

Fonte: *Progetto regionale di selezione genetica per la resistenza alle TSE degli ovini*, M.Sala e F.School IZS-LT, 2005.

Il Progetto si basa su principi di selezione genetica della linea maschile.

A questo scopo viene autorizzato l'impiego a fini riproduttivi di montoni classificati, a seconda del genotipo, nelle classi descritte nella tabella che segue.

**Tabella 8. Classificazione dei montoni**

<b>GENOTIPO</b>	<b>Riproduttori di 1<sup>a</sup> classe</b>
ARR/ARR	Suscettibilità minima o nulla
	<b>Riproduttori di 2<sup>a</sup> classe</b>
ARR/ARH	Genotipo raro per il quale mancano dati di suscettibilità. Si suppone suscettibilità scarsa.
ARR/AHQ	Genotipo raro per il quale mancano dati di suscettibilità. Si suppone suscettibilità scarsa.
ARQ/ARR	Suscettibilità scarsa.
	<b>Riproduttori di 3<sup>a</sup> classe</b>
ARQ/ARQ	Suscettibilità elevata
ARQ/AHQ	Suscettibilità elevata
AHQ/AHQ	Genotipo raro per il quale mancano dati di suscettibilità. Si considera suscettibilità elevata.
ARQ/ARH	Genotipo raro per il quale mancano dati di suscettibilità. Si considera suscettibilità elevata.
ARH/ARH	Genotipo raro per il quale mancano dati di suscettibilità. Si considera suscettibilità elevata.
AHQ/ARH	Genotipo raro per il quale mancano dati di suscettibilità. Si considera suscettibilità elevata.
	<b>Divieto di impiego come riproduttori</b>
VRQ/VRQ	Suscettibilità elevata
VRQ/ARQ	Suscettibilità elevata
VRQ/ARH	Genotipo raro per il quale mancano dati di suscettibilità. Portatore dell'allele maggiormente suscettibile
VRQ/AHQ	Genotipo raro per il quale mancano dati di suscettibilità. Portatore dell'allele maggiormente suscettibile
VRQ/ARR	Suscettibilità scarsa ma portatore dell'allele maggiormente suscettibile.

Fonte: Progetto regionale di selezione genetica per la resistenza alle TSE degli ovini, M.Sala e F.School IZS-LT, 2005.

Solo i montoni sottoposti a prova di genotipizzazione e dotati di certificato individuale di genotipo possono essere impiegati e/o commercializzati negli allevamenti che partecipano alla selezione.

La ASL in base ai livelli di frequenza allelica raggiunti dalle aziende aderenti, conferisce i livelli di qualifica ufficiale riportati nella tabella 9.

**Tabella 9. Livello di qualifica acquisito dalle aziende**

<b>Qualifica</b>	<b>Requisiti</b>
Livello I	Azienda composta interamente da ovini con genotipo ARR/ARR
Livello II	Azienda composta interamente da soggetti recanti almeno un allele ARR e montoni ARR/ARR
Livello III	Azienda la cui progenie discende unicamente da montoni con genotipo ARR/ARR
Livello IV	Azienda la cui progenie discende unicamente da montoni recanti almeno un allele ARR
Livello V	Azienda aderente al progetto regionale di selezione per i caratteri di resistenza TSE

Fonte: *Progetto regionale di selezione genetica per la resistenza alle TSE degli ovini*, M.Sala e F.School IZS-LT, 2005.

Gli animali di specie caprina, non rientrano nel campo di applicazione del Progetto in quanto in essi non sono noti geni di resistenza alla scrapie.

## **Cap.3. SORVEGLIANZA**

### **3.1. Piano di sorveglianza della regione Toscana**

Il Sistema di Sorveglianza per la scrapie, come abbiamo visto, è costituito dalla Sorveglianza Attiva (SA) e da quella Passiva (SP) [18, 19].

Il sistema di SP è entrato in vigore con il D.M. 08/04/1999 e prevede il rilevamento e la notifica dei casi sospetti, con prelievo dei campioni per gli esami diagnostici. Se gli esami danno esito positivo viene disposto l'abbattimento, sotto controllo ufficiale, degli ovicapri presenti in allevamento.

Con il Reg. 999/2001/CE è stato adottato un sistema nazionale di SA sulla popolazione ovicaprina con l'introduzione dei test rapidi a campione. Nel 2002 ad esempio dovevano essere campionati 15.000 soggetti regolarmente macellati e 3.000 soggetti morti in allevamento [20].

Un Regolamento successivo disponeva per l'Italia un campionamento annuo di 60.000 ovicapri regolarmente macellati e 6.000 morti in allevamento, in modo da poter rilevare almeno una prevalenza dello 0,05% con un livello di confidenza del 95%.

La nota del Ministero della Salute prot. DGVA. VIII/22088/P-I.8.d/48 del 15/07/2004 informava che in caso di prelievo su animali morti, doveva essere inviata all'I.Z.S. l'intera testa, indipendentemente dalla causa della morte.

A seguito della nota del Ministero della Salute DGVA. VIII/6114/P-I.8.d/48 del 18/02/2005 tutti i capri regolarmente macellati con età maggiore a 18 mesi o nei quali erano già spuntati due denti incisivi, devono essere obbligatoriamente testati.

La successiva nota del Ministero della Salute prot. DGVA.VIII/19960/-I.8.d/48 del 23/05/2006 dispone l'obbligo di campionamento di tutti gli ovicapri di età superiore ai 18 mesi regolarmente macellati. Questa disposizione è stata adottata in attesa di una modifica del Regolamento 999/2001/CE ed allo scopo di intensificare le attività di sorveglianza per le TSE negli ovicapri a seguito della individuazione di alcuni casi in Francia e Cipro che presentavano un quadro molecolare simile alla BSE ovina indotta sperimentalmente.

La nota del Ministero della Salute prot. DGVA. VIII/25275/P-I.8.d/48 del 07.07.06 dispone che il campionamento deve riguardare gli allevamenti di tutte le Regioni e comprendere almeno il 20% degli ovini macellati per ogni allevamento. Il campionamento doveva essere completato entro il 31 dicembre 2006 [20].

Con la nota del Ministero della Salute prot. DGVA. VIII/31257/P-I8.d/48 del 01/09/2006 è stato di nuovo disposto il campionamento di tutti gli ovicaprini macellati di età superiore ai 18 mesi.

### **3.1.1. Sorveglianza attiva sui morti in allevamento**

#### *→ Ricevimento della segnalazione*

La segnalazione alla ASL competente per territorio può essere effettuata dal detentore, dal proprietario, dal veterinario aziendale, oppure dalle forze dell'ordine, in caso di ritrovamento di animali morti non identificati.

Nella segnalazione devono essere fornite le seguenti informazioni:

- denominazione, sede, codice aziendale dell'allevamento interessato o luogo del ritrovamento;
- identificazione ed età presunta dell'animale;
- tempo presunto trascorso dalla morte e/o stato di conservazione.

#### *→ Accertamenti*

Gli accertamenti vengono effettuati in allevamento o sul luogo del ritrovamento dell'animale e si procede a:

- verifica dell'identificazione del soggetto;
- applicazione di un mezzo di identificazione alla carcassa, allo scopo di riconoscerlo dopo la rimozione della testa;
- rimozione della testa e suo collocamento in idoneo contenitore;
- compilazione della Scheda di accompagnamento campioni, che deve essere firmata anche dal proprietario o detentore degli animali (allegato 1);
- compilazione del Documento di trasporto sottoprodotti Cat. 1 (allegato 2).

#### *→ Invio del campione e gestione dei risultati delle analisi*

Il campione viene inviato al più presto alla Sezione dell' IZS competente per territorio insieme alla scheda di accompagnamento campioni [23].

In caso di esito negativo degli esami di laboratorio la documentazione viene archiviata.

In caso di esito non negativo il Servizio Veterinario deve:

- informare Sindaco, Settore Sanità Pubblica Veterinaria Regione Toscana, Ministero della Salute, Azienda di provenienza dell'animale;
- emanare l'Ordinanza Sindacale di sequestro dell'allevamento (allegato 3);
- effettuare il censimento di tutti i capi presenti in azienda, informando l'allevatore delle opzioni possibili in caso di conferma di malattia

(abbattimento totale o abbattimento selettivo) e pianificando già le attività successive.

In caso di conferma di positività da parte del Centro di Referenza Nazionale, il Servizio Veterinario deve:

- dichiarare la presenza del focolaio e compilare il modello 1 sez. A art. 8 del Regolamento Polizia Veterinaria;
- richiedere al Sindaco l'emanazione delle disposizioni di sua competenza (allegato 4), ovvero:
  - ordinanza di abbattimento e distruzione degli animali, aperta alle due soluzioni di abbattimento, totale o selettivo degli animali;
  - individuazione della Ditta che dovrà effettuare lo smaltimento delle carcasse, dandone comunicazione al Servizio Veterinario;
  - nominare nel caso di abbattimento totale, un tecnico iscritto all'albo dei periti del Tribunale della provincia di competenza per la stima del valore di mercato di ulteriori beni da distruggere in quanto contaminati e non adeguatamente disinfettabili (attrezzature fisse e mobili, mangimi, prodotti agricoli e zootecnici secondo il D.M.20/7/89 n°298).
- stabilire le modalità di gestione del focolaio (abbattimento totale o selettivo) o richiedere una dichiarazione di rinuncia da parte dell'allevatore all'abbattimento selettivo per procedere all'abbattimento totale dei capi;
- effettuare un'indagine epidemiologica contattando preventivamente l'IZS, compilare la scheda ministeriale (allegato 5) e l'apposita modulistica fornita dal CEA (allegato 6);
- pianificare, in caso di ricorso all'abbattimento selettivo, l'identificazione individuale degli animali con boli endoruminali;
- inserire in Banca Dati Nazionale (BDN) i dati anagrafici individuali dei capi ovini e caprini presenti nelle aziende sede di focolaio, come disposto dalla Delibera R.T. N° 1013 del 17/10/2005.

Come già accennato in precedenza, sono due le opzioni possibili per la gestione del focolaio: abbattimento totale e abbattimento selettivo.

➤ *Abbattimento totale:*

L'ipotesi di abbattimento totale prevede:

- controllo dei numeri di matricola dei capi da abbattere;
- prelievo di sangue per la genotipizzazione;



- eutanasia degli animali in campo o presso macelli autorizzati ;
- asportazione della testa (in allevamento) o del midollo allungato con cervelletto (al macello), prelievo di porzioni di tessuti ed organi eventualmente richiesti dal laboratorio (linfonodi sottomandibolari, retrofaringei o meseraici, tonsille, lingua, milza, valvola ileo ciecale, mammella) .

Il numero di test rapidi da effettuare sugli ovicapri abbattuti in sede di focolaio (Reg. CE 2245/2003), selezionati in modo causale semplice, è riportato nella tabella che segue.

**Tabella 10. Tabella di campionamento capi con età superiore a 18 mesi**

Numero di animali del gregge di età superiore a 18 mesi o a cui sono spuntati due incisivi permanenti.	Dimensione minima del campione (1).
70 o inferiore	Tutti gli animali presenti
80	68
90	73
100	78
120	86
140	92
160	97
180	101
200	105
250	112
300	117
350	121
400	124
450	127
500 o superiore	150

(1) La dimensione del campione è stata calcolata in modo da garantire con un'affidabilità del 95%, l'inclusione di almeno un capo positivo se la malattia è presente con una prevalenza minima del 2 % nella popolazione sottoposta a test.

Fonte: Reg. CE 727/2007

A seguito dell'abbattimento totale sono necessarie operazioni di pulizia e disinfezione e un sopralluogo congiunto con il Perito della provincia di competenza, individuato dal Sindaco, per la valutazione del valore dei materiali non disinfettabili (fieno, mangimi, lettiera, divisori in legno ecc.) che saranno poi distrutti, ove possibile, con il fuoco.

Si deve inoltre comunicare al Sindaco:

- avvenuto abbattimento dei capi e la loro distruzione;
- distruzione dei materiali non disinfettabili;
- pulizia e disinfezione di locali e attrezzature;
- proposta di Ordinanza per la chiusura del focolaio (allegato 7).;

➤ *Abbattimento selettivo*

Nell'ipotesi di abbattimento selettivo, si eseguono i prelievi per la genotipizzazione (esclusi gli animali da scarto) nei quantitativi massimi giornalieri e settimanali consentiti dalla recettività del laboratorio, cercando di costituire gruppi di animali delle dimensioni desiderate da mantenere separati per il tempo necessario ad avere il referto [22].

L'abbattimento può avvenire presso stabilimenti di macellazione riconosciuti o presso l'azienda.

– *Ripopolamento*

Dopo che sono state effettuate le operazioni di disinfezione si possono introdurre solo:

- ovini maschi con genotipo ARR/ARR (resistente);
- ovini femmine con almeno un allele ARR e nessuno VRQ (genotipo resistente o semiresistente);
- caprini, a patto che per un periodo di tre anni, tutti gli ovini e caprini di età superiore ai 18 mesi, morti o macellati vengano sottoposti a test per TSE.

Per quanto riguarda l'inseminazione artificiale può essere utilizzato solo sperma di montoni del genotipo ARR/ARR ed embrioni aventi almeno un allele ARR e nessuno VRQ.

In ogni caso gli animali introdotti devono provenire da allevamenti dichiarati:

- ufficialmente indenni da brucellosi;
- nei quali nessun animale della specie ovina e caprina sia stato introdotto nel corso degli ultimi due anni, oppure nei quali i registri aziendali consentano di individuare le aziende di provenienza degli animali della specie ovina o caprina introdotti nel corso degli ultimi due anni. In tale ultimo caso, anche le aziende di provenienza degli animali devono soddisfare i requisiti di cui al presente articolo;

- non contigui ad allevamenti infetti da scrapie;
- nei quali il Servizio Veterinario competente per territorio abbia accertato mediante esame clinico l'assenza di casi neurologici riferibili ad encefalopatie spongiformi;
- nei quali le informazioni epidemiologiche raccolte tramite il questionario di cui all'allegato 3 del presente decreto 8 aprile 1999, suggeriscano l'assenza di scrapie nell'allevamento. Copia del questionario compilato deve essere trasmessa al Centro di Referenza (allegato 8);
- che non conducano pascolo vagante o in promiscuità con altri greggi.

– *Movimentazioni degli ovicaprini dalle aziende*

La movimentazione è soggetta ad alcune prescrizioni:

- Gli ovini con genotipo ARR/ARR non sono soggetti ad alcuna restrizione;
- Gli ovini maschi aventi soltanto un allele ARR possono essere spostati dall'azienda soltanto per il macello, mentre le femmine con genotipo semiresistente possono essere movimentate verso il macello o verso altre aziende sede di focolai di TSE;
- Gli ovini di genotipo diverso da quello resistente o semiresistente sono spostati dalla azienda solo ai fini dell'abbattimento e distruzione.

– *Durata delle misure restrittive*

Le misure riguardanti i due punti precedenti permangono per un periodo di tre anni a decorrere da:

- la data in cui tutti gli ovini dell'azienda risultano di genotipo resistente;
- la data in cui tutti i montoni presenti siano di genotipo ARR/ARR e tutte le pecore da riproduzione abbiano almeno un allele ARR e nessuno VRQ, a condizione che per un periodo di tre anni tutti gli ovini di età superiore ai 18 mesi, morti o macellati siano sottoposti a test rapido per TSE con esito negativo.

– *Vigilanza*

Negli allevamenti ripopolati a seguito di un focolaio di scrapie, il Servizio Veterinario competente per territorio effettua una vigilanza semestrale, che deve comprendere almeno un controllo clinico di tutti i soggetti presenti, per i cinque anni successivi al ripopolamento.

– *Procedure per gli indennizzi*

Dopo ogni abbattimento bisogna far presentare all'allevatore la richiesta di indennizzo prevista dalla Legge 218/88 e procedere alla liquidazione dell'importo dovuto entro 60 giorni, secondo le procedure fissate dalla Regione Toscana con Delibera di Giunta n. 468 del 17.05.04 e n° 5861 del 06 ottobre 2004.

– *Misure da adottare in focolai di scrapie atipica*

La scrapie atipica, riferibile al ceppo NOR 98, non risponde agli stessi caratteri di resistenza genetica della scrapie classica.

Grazie all'attività di sorveglianza, sono stati individuati 27 casi atipici in 25 greggi di cui 19 ovini e 6 caprini. I dati finora raccolti non evidenziano alcuna positività nei tessuti linforeticolari e solo 3 greggi hanno presentato casi multipli (due casi di malattia ciascuno).

Questi risultati fanno quindi ritenere che i casi "atipici" finora individuati si manifestino con sporadicità all'interno del gregge e che la presenza di PrP patologica sia confinata al solo SNC.

Oltre alla verifica dell'identificazione degli animali presenti nel gregge e alla corretta tenuta del registro aziendale, si applicano le seguenti disposizioni:

1. divieto di movimentazione, se non per il macello, dei capi presenti nel gregge sede di focolaio;
2. genotipizzazione dei montoni con abbattimento e distruzione dei soggetti con aplotipo AHQ e A(F141)RQ;
3. divieto di ripopolamento con montoni che presentano gli aplotipi di cui al punto 2;
4. applicazione di una sorveglianza sul gregge attraverso il controllo di tutti i capi macellati nonché di tutti i soggetti morti di età superiore ai 18 mesi;
5. i test rapidi effettuati nell'ambito della sorveglianza di cui al punto 4 dovranno essere condotti dall'IZS competente sia sul cervelletto che sull'obex.

Queste misure rimangono in vigore per una durata di 3 anni a decorrere dall'ultimo caso di scrapie NOR 98 individuato.

Il Ministero della Salute comunica alle Regioni la possibilità di genotipizzare, oltre ai montoni, anche le femmine presenti e la possibilità di utilizzare dei pascoli in alpeggio in promiscuità, in relazione al rischio trascurabile di malattia.

– *Misure da adottare in focolai di specie caprina*

Nel caso si riscontri una positività in un allevamento ovicaprino o esclusivamente caprino, tutti i soggetti appartenenti a quest'ultima specie dovranno essere abbattuti.

Mancando infatti dei dati certi circa la resistenza genetica dei caprini nei confronti della scrapie l'abbattimento selettivo non è applicabile.

Il ripopolamento avverrà con capi provenienti da allevamenti :

- ufficialmente indenni da brucellosi;
- nei quali nessun animale della specie ovina e caprina sia stato introdotto nel corso degli ultimi due anni, oppure nei quali i registri aziendali consentano di individuare le aziende di provenienza degli animali della specie ovina o caprina introdotti nel corso degli ultimi due anni. In tale ultimo caso, anche le aziende di provenienza degli animali devono soddisfare i requisiti di cui al presente articolo;
- non contigui ad allevamenti infetti da scrapie;
- nei quali il Servizio Veterinario competente per territorio abbia accertato mediante esame clinico l'assenza di casi neurologici riferibili ad encefalopatie spongiformi;
- nei quali le informazioni epidemiologiche raccolte tramite il questionario di cui all'allegato 3 del presente decreto 8 aprile 1999, suggeriscano l'assenza di scrapie nell'allevamento. Copia del questionario compilato deve essere trasmessa al Centro di Referenza (allegato 8);
- che non conducano pascolo vagante o in promiscuità con altri greggi.

Per un periodo di tre anni, successivo alla chiusura del focolaio, tutti gli ovini e caprini di età superiore ai 18 mesi , morti o macellati saranno sottoposti a sorveglianza con l'esecuzione del test per TSE.

### **3.1.2. Sorveglianza passiva**

La sorveglianza passiva si basa sull'evidenziazione, all'interno di un gregge, di animali di età superiore ai 12 mesi con manifestazioni cliniche a carico del sistema nervoso. Il ruolo dell'allevatore, sempre a contatto con gli animali, è fondamentale per evidenziare il prima possibile i sintomi e prevenire la propagazione dell'epidemia.

Individuare i casi sospetti ed informare il veterinario, oltre ad essere obbligatorio, può effettivamente evitare che l'intero gregge sia contagiato.

→ *Gestione del sospetto clinico in allevamento*

In un allevamento si intende per animale sospetto, un animale vivo, abbattuto o morto che presenta o ha presentato turbe neurologiche o comportamentali o una progressivo scadimento dello stato generale connesso a segni clinici a caratterer neurologico..

A seguito della segnalazione, il veterinario ufficiale, esegue un sopralluogo in azienda e dispone:

- il divieto di spostamento dell'animale sospetto;
- la compilazione della scheda di cui all'allegato I del Decreto 8 aprile 1999 (allegato 9);
- l'effettuazione di una visita clinico-neurologica sul capo sospetto associata ad una valutazione di tutti i dati di carattere anamnestico raccolti o delle eventuali prove di laboratorio o trattamenti effettuati su tale soggetto; (vedi visita ante-mortem paragrafo 3.2.1.);
- il censimento degli altri animali di specie sensibili alle TSE presenti nella azienda.

Nel caso in cui gli esiti della visita clinica e i dati raccolti non siano sufficienti ad emettere una diagnosi, occorre porre l'animale sotto osservazione clinica per un periodo massimo di 15 giorni ed effettuare, nel caso si ritenga opportuno, ulteriori trattamenti o esami di laboratorio.

Qualora, alla fine di detto periodo, la sintomatologia neurologica regredisca o sia possibile emettere una diagnosi eziologica diversa dalla scrapie, il veterinario ufficiale:

- revoca i vincoli relativi al divieto di spostamento dell'animale;
- invia la scheda allegato I Decreto 8 aprile 1999 ( scheda clinica ), debitamente integrata nelle parte relativa alle note con la diagnosi differenziale al CEA e al COVEPI.

Se invece alla fine del periodo di osservazione clinica, non sia invece possibile escludere la diagnosi di scrapie sulla base della sintomatologia neurologica, mancanza di risposta alla terapia o a seguito dei risultati di laboratorio o morte del soggetto, l'animale è considerato ufficialmente sospetto di TSE.

Il Veterinario Ufficiale provvede a:

- sottoporre i rimanenti soggetti del gregge a limitazioni di movimento. In caso di sospetto ufficiale di scrapie infatti il mod.4 deve riportare da dicitura: "l'animale di cui al presente certificato è sottoposto ad una

limitazione ufficiale di movimento ai sensi dell'art. 12 comma 1 del Reg. 999/2001 CE”;

- completare la scheda clinica di cui allegato I del Dec. 8 aprile 1999 (allegato 9);
- trasmettere copia scheda compilata al CEA e al COVEPI;
- inviare il capo in vincolo sanitario ad un macello posto nel territorio regionale, scortato dal Mod. 4;
- inviare la comunicazione del sospetto al Ministero della Salute , alla Regione, all'IZS-LT competente per territorio e all'Istituto Superiore di Sanità.

Se le prove di laboratorio condotte dal CEA non confermano la malattia, tutti i vincoli disposti devono essere rimossi.

– *Flusso dei dati del Sistema di sorveglianza*

Il Laboratorio Regionale invia settimanalmente all'Osservatorio Epidemiologico presso la Sede Centrale dell'IZS di Roma (OEVR), i seguenti dati:

- dati relativi ai campionamenti pervenuti ed agli esami effettuati giornalmente compilando il database secondo le indicazioni della Nota Ministeriale prot. N. DGVA.VIII/10196/P-I.8.d/28;
- record elaborati dal programma di accettazione, relativi ai campioni esaminati e stampato del report di servizio.

Inoltre, vengono spedite , copia delle Schede Ministeriali dei campioni esaminati settimanalmente .

L'OEVR informa il laboratorio sullo stato di avanzamento dell'attività attraverso tabelle epidemiologiche,. L'OEVR, dopo una accurata revisione dei dati, invia al CEA report mensili entro il giorno 15 di ogni mese e settimanale .

### **3.2. Compiti del veterinario ispettore**

Di seguito sono riportate indicazioni di natura operativa da adottare in caso di scrapie negli impianti di macellazione delle specie ovicaprina per effettuare campionamenti e per gestire un'eventuale esito positivo ai test.

#### **3.2.1. Visita ante mortem**

→ *Accettazione capi*

Il Reg.(CE) 21/2004 del Consiglio del 17 dicembre 2003 istituisce un sistema di identificazione e registrazione degli animali della specie ovina e caprina e rappresenta la

prima tappa nel percorso della tracciabilità della filiera ovicaprina. Tutti i capi che arrivano al macello devono essere correttamente identificati.

→ *Visita ante-mortem*

La visita ante-mortem deve essere effettuata conformemente alle disposizioni del Reg. (CE) 854/04 (ex 286/94). In base al suo esito si definirà la tipologia di campionamento da effettuare.

Tale visita deve verificare il benessere degli animali arrivati al macello, accertare l'età dei soggetti mediante valutazione della tavola dentaria, ed individuare eventuali segni clinici riferibili a TSE o ad altre patologie.

→ *Misure per lo stordimento*

In base al D.L.vo 333/98 gli animali devono essere avviati alla macellazione senza indugio e rispettando le norme sul benessere animale.

Il 64 % degli impianti che macellano ovini/caprini adulti e l'85,7% degli impianti che macellano agnelli/capretti utilizzano per lo stordimento l'elettronarcosi.

### **3.2.2. Visita post mortem.**

Gli ovicaprini sottoposti a test rapido dovrebbero essere macellati al termine delle normali operazioni di macellazione. In alternativa si dovrà provvedere a pulizia e disinfezione di locali e attrezzature esposte a contaminazione, con ipoclorito di sodio al 2 % per almeno un'ora [24, 25].

Durante la macellazione deve essere garantita la completa tracciabilità delle carcasse e di tutte le loro parti.

Tutte le parti degli animali sottoposti a prelievo (comprese pelli e sangue) sono poste sotto sequestro fino all'esito favorevole.

- Reg. CE 722/07 All. V parte B punto i) + ii): il cranio, compresi il cervello e gli occhi, le tonsille e il midollo spinale di ovini e caprini di età superiore a 12 mesi o ai quali è spuntato un dente incisivo permanente, nonché la milza e l'ileo di ovini e caprini di tutte le età, rappresentano materiale a rischio specifico (MRS);
- negli ovicaprini il midollo spinale e la dura madre devono essere eliminati (assenza di residui visibili) in tutti i soggetti con età superiore a 12 mesi o nei quali è già spuntato un dente incisivo permanente; per asportare il midollo spinale e la dura madre devono essere indossati appositi D.P.I.;



- Reg. CE 727/07 All. V punto 3: tutto l'MRS deve essere contraddistinto da un colorante e smaltito in conformità alle disposizioni fissate nel Reg (CE) n° 1774/02, in particolare art.4, paragrafo 2;
- manipolazione del materiale a rischio specifico (MRS): i contenitori per il MRS sono a tenuta stagna e contrassegnati con apposita etichetta. Il MRS è incenerito come materiale di categoria 1 senza contaminazioni ambientali.

### **3.2.3. Prelievo campioni**

I materiali necessari per i campionamenti di tronco encefalico sono:

- cucchiaini per il prelievo di tronco-encefalico (bianco o azzurro per gli ovicaprini);
- pinze anatomiche;
- forbici (se ritenute utili);
- guanti monouso;
- contenitori e buste per il campionamento;
- provette vetjet K3 in EDTA, per prelievo sangue nell'1% del regolarmente macellato per ricerca genotipo;
- ipoclorito di sodio per la decontaminazione degli strumenti utilizzati (in diluizione 1:4), ricordarsi di togliere gli strumenti in metallo dopo l'ora necessaria alla decontaminazione in quanto si corrodono;
- cartella con modulistica in bianco (schede di accompagnamento campioni, allegato 1, scheda di vincolo sanitario, allegato 10, etichette o cartellini o altro mezzo per l'apposizione del vincolo sanitario alle parti animali e contenitori che le contengono).

Per quanto riguarda le modalità di campionamento, ci si deve attenere il più possibile ai protocolli operativi per il campionamento predisposti dal CEA .

Presso ogni stabilimento di macellazione deve essere tenuto un registro dove annotare i test TSE effettuati, da aggiornare ogniqualvolta si procede a campionamento (allegato 11).

Questi saranno svolti su un campione rappresentativo di ovini con età superiore a 18 mesi o nei quali sono spuntati i due denti incisivi definitivi, e su tutti i caprini di età superiore a 18 mesi o nei quali sono spuntati due denti incisivi definitivi pervenuti al macello.

Si ricorda che nella eventualità di morte nella stalla di sosta del macello, l'animale dovrà essere obbligatoriamente testato inviando l'intera testa al laboratorio regionale.

Al momento della iugulazione dei capi da testare, il sangue viene raccolto in un unico apposito contenitore . .

Le singole carcasse proseguono lungo la guidovia, mantenendo ciascuna la connessione con la testa fin tanto che si trovano nel locale di stordimento e iugulazione. Al passaggio nel locale di macellazione si procede al distacco delle teste mantenute sottopelle degli animali da testare. Queste sono poste in successione, secondo l'ordine di macellazione e ulteriormente identificate al momento dello stordimento con un cartellino riportante il codice di tracciabilità, su un tavolo di lavoro d'acciaio dove si procede alla registrazione del numero di marca auricolare, alla verifica più dettagliata dell'età attraverso la valutazione della tavola dentaria ed infine si procede al prelievo del midollo allungato.

Riguardo le istruzioni relative al prelievo di campioni al macello vedi allegato 12 (fonte: Ufficio federale di Veterinaria, Berna, Svizzera, [www.bvet.admin.ch](http://www.bvet.admin.ch) )

Per la raccolta dei campioni, vengono utilizzati contenitori identificati con il numero della marca auricolare o con il numero d'ordine attribuito dal macello all'animale. Tale numero deve corrispondere ai dati relativi all'animale indicati sul verbale di campionamento.

In prossimità della zona di prelievo vengono posti uno o più contenitori identificati, in cui sono raccolte le teste. Unitamente a queste vengono immessi nel contenitore anche gli zampetti.

Le pelli invece, al termine della scuoiatura di ogni singola carcassa, vengono raccolte e poste su una ganciera separata in vincolo sanitario e sono trasferite nella cella pelli identificando ciascuna con un contrassegno riportante il codice di tracciabilità. I visceri una volta svuotati, vengono separati in contenitori identificati a tenuta insieme alle corate. Le carcasse degli animali testati vengono poste nella cella frigo dei sospetti in attesa dell'esito del test, avendo cura di mantenere su ogni carcassa il contrassegno di tracciabilità e di non apporre nessuna bollatura sanitaria.

Tutti i contenitori chiusi adeguatamente, che contengono le parti ricavate dalla carcassa animale (sangue, teste, visceri e corate), sono anch'essi riposti nella cella frigo dei sospetti. Su ogni carcassa, sulla ganciera che raccoglie le pelli degli animali testati e sui predetti contenitori è apposto un cartellino di Vincolo Sanitario con il riferimento al numero e alla data del verbale di prelievo . Il tronco encefalico prelevato secondo le indicazioni del CEA viene inviato alla sezione territoriale competente.

### **3.2.4. Interventi successivi agli esiti dei campionamenti**

In caso di esito negativo al test si procede allo svincolo delle carcasse e di tutte le parti. Sangue visceri, pelli e zampetti seguono il normale smaltimento a seconda delle tipologie di prodotto.

In caso di esito non-negativo al test, si deve procedere a:

- comunicazione ufficiale da parte del Veterinario al responsabile territoriale dell'ASL competente per l'allevamento e all'U.O. Veterinaria regionale in cui ha sede l'allevamento (allegato13);
- smaltimento come MRS delle carcasse positive e di tutte le parti del corpo, anche di altri animali, che sono venute in contatto con tali carcasse;
- invio al laboratorio regionale di riferimento di testa e milza del capo positivo. Se nella stessa seduta di macellazione, sono presenti altri capi provenienti dallo stesso allevamento, si inviano anche testa e milza di tali capi;
- distruzione (seguendo sempre il principio di precauzione) delle carcasse risultate negative ma appartenenti all'allevamento in questione;
- recupero, ritiro e distruzione di capi eventualmente macellati nei giorni precedenti e appartenenti a quell'allevamento;
- in caso di presenza nello stabilimento di macellazione di capi ancora vivi appartenenti all'azienda con focolaio scrapie, occorre isolare immediatamente dal resto del gregge tali soggetti e abbatterli nel più breve tempo possibile. Si effettua comunque il test rapido, ma la carcassa viene distrutta indipendentemente dal risultato;
- i soggetti vengono soppressi con Tanax (associazione di Barbiturico, Curarico ed Antiaritmico) previa sedazione con Rompum (Xilazina) . Per gli accertamenti diagnostici viene inviata o l'intera testa o il tronco encefalico con parte del cervelletto al laboratorio di riferimento;
- smaltimento e distruzione delle carcasse positive e tutti i loro sottoprodotti nel più breve tempo possibile, specificando nel DDT (allegato 2) il numero delle carcasse e il peso complessivo del materiale smaltito, evidenziando anche il sangue, e specificando che tale materiale è conseguenza di positività TSE;

- attesa di circa 10-15 giorni della conferma o meno del positivo da parte del CEA.

I titolari dei macelli hanno diritto ad un indennizzo per lo smaltimento di prodotti zootecnici ed eventuali capi ancora vivi presenti nella stalla che siano risultati non negativi al test rapido.

Infatti, secondo il regolamento (CE) 999/2001, “i proprietari sono indennizzati senza indugio per la perdita degli animali uccisi”. Dal momento che il titolare del macello acquista i capi destinati alla macellazione, come dimostrato dalla bolla di accompagnamento dei capi o fattura, egli rientra a tutti gli effetti nella nozione di “proprietario”, di cui alla norma comunitaria e nazionale, ed è pertanto legittimato alla richiesta di indennizzo.

## **Cap. 4. RACCOLTA DI INFORMAZIONI ED ANALISI DEI DATI SUI FOCOLAI DI SCRAPIE IN TOSCANA**

I focolai di scrapie in Toscana hanno riguardato prevalentemente greggi ovini di diverse razze.

Nelle tabelle 11, 12 e 13, sono riassunti i dati sui 53 focolai di scrapie segnalati sul territorio toscano negli anni 2002 –2004, 2005 – 2006 e dal 2007 ai primi 6 mesi del 2009.

I focolai hanno riguardato solo 6 allevamenti misti ovi-caprini (focolai 3, 4, 23, 39, 50, 52). Tra questi in un caso è stata coinvolta la sola specie caprina (focolaio 23) e una sola volta contemporaneamente le due specie (focolaio 39).

Per quanto riguarda le razze ovine coinvolte nei focolai, quella sarda è stata maggiormente coinvolta, anche in considerazione del fatto che è la più rappresentata nel territorio della nostra regione. Con i dati in nostro possesso non siamo in grado di fare alcuna considerazione su una eventuale maggiore predisposizione alla malattia di determinate razze.

**Tabella 11. Focolai di scrapie in Toscana anni 2002-2003-2004**

Focolaio	Provincia	Comune	Specie	Razza	N° ovini	N° caprini	Specie colpita	Sorveglianza	Tipo scrapie	Motivo Prelievo	Tipo di abbattimento	Obex testati	N° positivi
1	SI	Pian-castagnaio	OV	NI	300	0	OV	P	NI	Abbattuto (SC)	Totale	ND	ND
2	SI	San Giovanni d'Asso	OV	NI	120	0	OV	P	NI	Abbattuto (SC)	Totale	ND	ND
3	SI	Murlo	OC	NI	257	4	OV	A	NI	Morti	Totale	ND	ND
4	G R	Sorano	OC	NI	165	7	OV	A	NI	Reg.macellato	Totale	ND	ND
5	SI	Radicofani	OV	NI	780	0	OV	P	NI	Abbattuti (SC)	Totale	ND	ND
6	SI	Radicofani	OV	NI	720	0	OV	P	NI	Abbattuti (SC)	Totale	ND	ND
7	PI	Cascina	OV	NI	41	0	OV	A	NI	Reg.macellato	Totale	ND	ND
8	SI	Moltepulcia-no	OV	NI	510	0	OV	P	NI	Abbattuto (SC)	Selettivo	103	1
9	FI	Scarperia	OV	Sarda	640	0	OV	A	NI	Morto	Selettivo	142	1
10	P T	Serravalle Pist.	OV	Massese	136	0	OV	A	NI	Reg.macellato	Totale	44	4
11	SI	Castelnuovo Berardenga	OV	Sarda	654	0	OV	P	NI	Abbattuti (SC)	Selettivo	134	10
12	G R	Manciano	OV	Sarda	1700	0	OV	A	NI	Morti	Selettivo	153	3
13	SI	Radicofani	OV	Sarda	565	0	OV	P	NI	Morti	Totale	155	3
14	PI	Pomarance	OV	Massese	234	0	OV	A	NI	Reg.macellato	Totale	109	12
15	SI	Radicofani	OV	Sarda	691	0	OV	P	NI	Abbattuti (SC)	Totale	147	11
16	SI	Moltepulcia-no	OV	Sarda	334	0	OV	P	NI	Morti	Selettivo	76	1
17	SI	Montalcino	OV	Sarda	800	0	OV	P	NI	Morti	Totale	167	1

**Legenda:**

*Specie:* OV: ovina  
 CP: caprina  
 OC: gregge misto ovini e caprini

*Scrapie:* C: classica  
 A: atipica  
 NI: non identificata

*Razza:* NI: non identificata

*Sorveglianza:* A: attiva  
 P: passiva

*Motivo prelievo:*

Abbattuti (SC): abbattuto con segni clinici

Reg.macellato: regolarmente macellato

*Obex testati e n° positivi:* ND: dato non disponibile

**Tabella 12. Focolai di scrapie in Toscana anni 2005-2006**

Focolaio	Provincia	Comune	Specie	Razza	N° ovini	N° caprini	Specie colpita	Sorveglianza	Tipo scrapie	Motivo Prelievo	Tipo di abbattimento	Obex testati	N° positivi
18	GR	Scansano	OV	Sarda	947	0	OV	A	C	Morto	Totale	147	1
19	SI	Radicofani	OV	Sarda	202	0	OV	P	C	Abbattuto (SC)	Totale	95	22
20	PT	S.Marcello P.se	OV	Bergamasca	18	0	OV	A	C	Morto	Totale	10	1
21	SI	Radicofani	OV	Sarda	940	0	OV	P	C	Abbattuto (SC)	Totale	167	2
22	SI	Radicofani	OV	Sarda	870	0	OV	P	C	Abbattuto (SC)	Totale	154	3
23	PI	Pomarance	OC	Meticcias	9	2	CP	A	A	Reg.macellato	Totale	11	1
24	SI	Castigliane d'Orcia	OV	Sarda	915	0	OV	P	C	Abbattuto (SC)	Totale	154	4
25	SI	Piancastagnaio	OV	Sarda	700	0	OV	P	C	Abbattuto (SC)	Totale	151	1
26	SI	S.Giovanni d'Asso	OV	Sarda	500	0	OV	P	C	Abbattuto (SC)	Selettivo	139	55
27	FI	Cerreto Guidi	OV	Messese	52	0	OV	P	C	Morto	Totale	28	2
28	SI	Radicofani	OV	Sarda	923	0	OV	P	C	Morto	Selettivo	144	27
29	SI	Monteriggioni	OV	Sarda	685	0	OV	A	C	Morto	Selettivo	150	18
30	LU	Villa Collemandina	OV	Massese	37	0	OV	A	A	Reg.macellato	Totale	20	2
31	LI	Suvereto	OV	Sarda	172	0	OV	A	A	Reg.macellato	Selettivo	121	1
32	GR	Magliano	OV	Meticcias	197	0	OV	A	A	Reg.macellato	Selettivo	2	1
33	GR	Arcidosso	OV	Appenninica	385	0	OV	A	C	Morto	Selettivo	124	1
34	SI	Moltepulciano	OV	Sarda	1680	0	OV	A	C	Morto	Selettivo	156	30
35	GR	Roccalbegna	OV	Sarda	371	0	OV	A	C	Morto	Selettivo	130	1
36	SI	Asciano	OV	Sarda	800	0	OV	A	C	Morto	Selettivo	150	9

Per la legenda vedi tabella 11.

**Tabella 13. Focolai di scrapie in Toscana anni 2007-2008 e primi sei mesi del 2009**

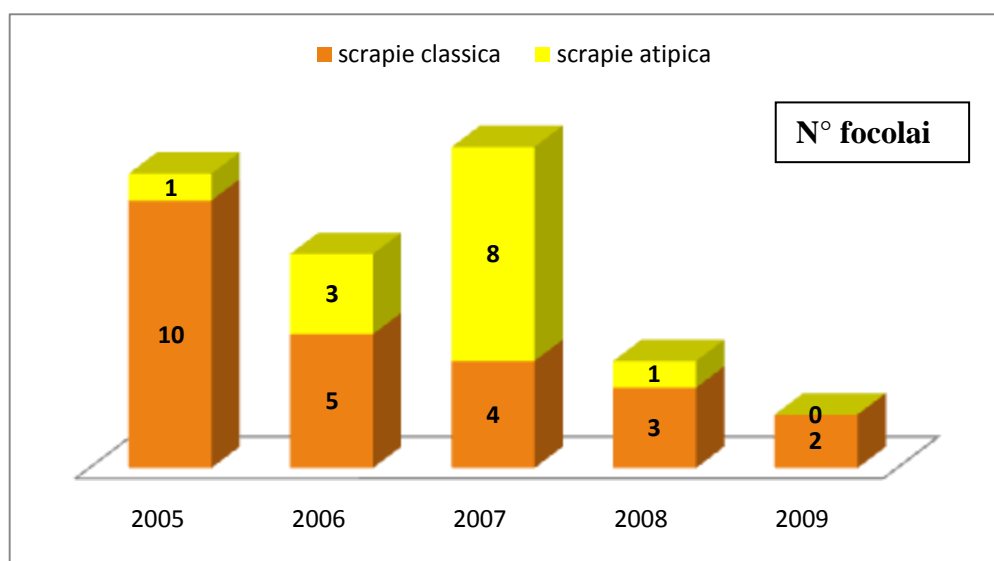
Focolaio	Provincia	Comune	Specie	Razza	N° ovini	N° caprini	Specie colpita	Sorveglianza	Tipo scrapie	Motivo Prelievo	Tipo di abbattimento	Obex testati	N° positivi
37	PI	Pomarance	OV	Sarda	910	0	OV	A	C	Morto	Selettivo	117	3
38	FI	Vicchio del Mugello	OV	Sarda	24	0	OV	A	A	Reg.macella-to	Selettivo	ND	1
39	AR (SI)	Bucine (Asciano)	OC	Sarda e Appenninica	819	24	OC	A	A C	Reg.macella-to	Selettivo	152	11
40	AR	Pratovecchio	OV	Meticcio	4	0	OV	A	A	Reg.macella-to	Totale	4	1
41	SI	Asciano	OV	Sarda	700	0	OV	A	C	Reg.macella-to	Selettivo	159	2
42	SI	Siena	OV	Sarda	220	0	OV	A	A	Reg.macella-to	Selettivo	3	1
43	FI	Borgo S.Lorenzo	OV	Meticcio	238	0	OV	A	A	Reg.macella-to	Selettivo	ND	1
44	SI	Murlo	OV	Sarda	918	0	OV	A	A	Reg.macella-to	Selettivo	1	1
45	AR	Civitella Val di Chiana	OV	Meticcio	33	0	OV	A	A	Reg.macella-to	Selettivo	ND	1
46	GR	Scansano	OV	Sarda	485	0	OV	A	A	Reg.macella-to	Selettivo	ND	1
47	AR	Bucine	OV	Appenninica	42	0	OV	A	C	Reg.macella-to	Selettivo	42	1
48	SI	Radicofani	OV	Sarda	ND	0	OV	A	C	Morto	Selettivo	120	11
49	FI	Dicomano	OV	Appenninica	ND	0	OV	A	C	Morto	Selettivo	59	14
50	GR	Scarlino	OC	Meticcio	6	0	OV	A	A	Morto	Selettivo		1
51	GR	Sorano	OV	Sarda	1627	0	OV	A	C	Morto	Selettivo	151	2
52	PI	Lari	OC	Meticcio	ND	0	OV	A	C	Morto	Selettivo	102	2
53	GR	Civitella Paganico	OV	Sarda	948	0	OV	A	C	Morto	Selettivo	150	2

Per la legenda vedi tabella 11.



Dalle tabelle 11, 12 e 13 si può notare come in Toscana siano state segnalate forme atipiche della malattia. Nel grafico 2 si riporta l'andamento delle due forme di scrapie (classica ed atipica) negli anni 2005 – primo semestre 2009. Risulta evidente che nel 2007 i focolai di scrapie atipica sono stati il doppio dei focolai di scrapie classica..

**Grafico 2. Andamento temporale della scrapie classica e di quella atipica negli anni 2005 – primo semestre 2009 in Toscana**



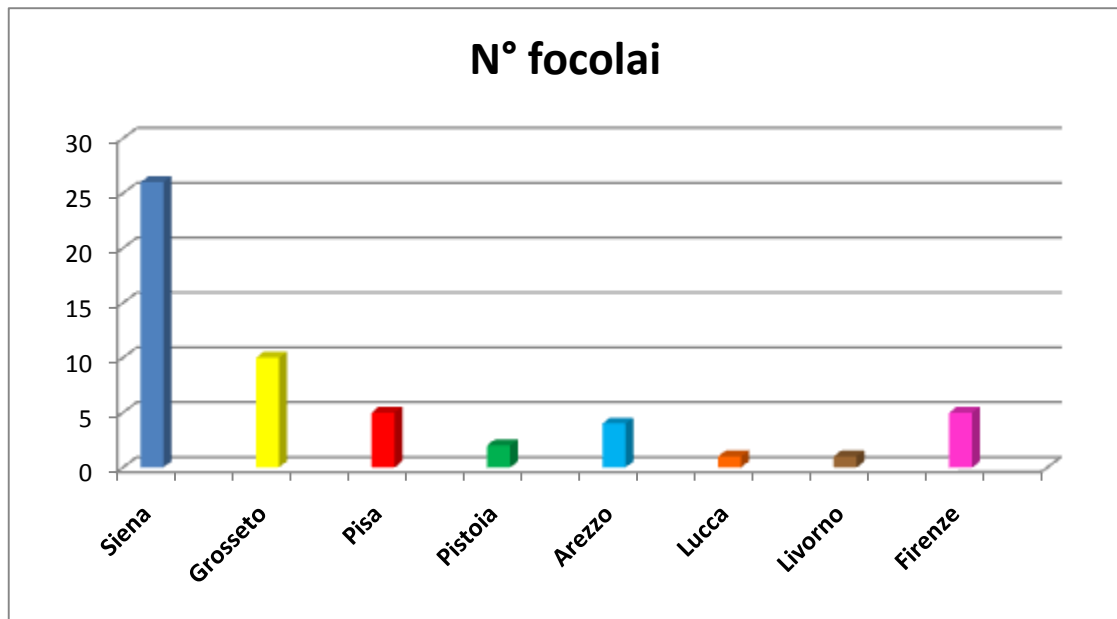
In Toscana, come si può vedere dal grafico 3, la provincia più colpita è stata quella di Siena, seguita da Grosseto e Firenze.

Non avendo dati precisi sulla popolazione ovicaprina per provincia nel periodo preso in considerazione, non è possibile sapere con precisione se il numero dei focolai è proporzionale al numero di greggi presenti. E' comunque verosimile che la densità di allevamenti in determinate aree geografiche possa contribuire, attraverso le maggiori possibilità di contatto fra greggi e i maggiori scambi di animali, a facilitare la diffusione dell'infezione.

Per quanto riguarda i fattori di rischio i dati anamnestici disponibili ci hanno permesso di avanzare l'ipotesi sulla loro origine solo in un numero molto limitato di focolai. Per esempio nel focolaio n° 18 l'origine dell'infezione è stata fatta risalire all'acquisto di un ariete proveniente da un allevamento in provincia di Siena, mentre nel focolaio n° 22 si è ipotizzato che l'infezione fosse dovuta allo scambio di soggetti con l'allevamento n° 21.

Nella maggior parte dei casi non è stato possibile identificare l'origine dell'infezione. Infatti, a differenza di quello che succede per altre malattie infettive, la scrapie presenta una epidemiologia molto particolare (condizionata anche dai polimorfismi genetici degli animali colpiti) e un periodo di incubazione molto lungo..

**Grafico 3. Numero di focolai per provincia negli anni 2002 - primo semestre 2009**

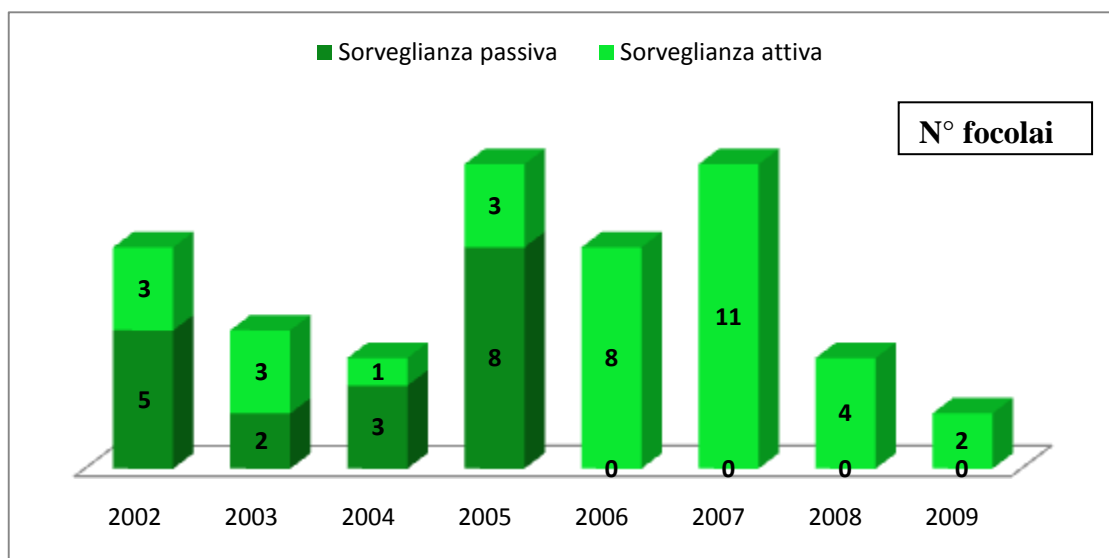


La Comunità Europea, fin dal 1991, ha previsto controllo e sorveglianza della popolazione ovina e caprina, per accertare l'eventuale presenza della scrapie. A seguito dell'introduzione della SA a partire dal 2002, con il Regolamento CE 1041/2006 la Commissione Europea ha imposto una intensificazione della sorveglianza attiva delle TSE.

Per garantire il raggiungimento dell'obiettivo comunitario, il Ministero della Salute, nel corso del 2005 per i caprini e del 2006 per gli ovini, ha disposto l'obbligo di campionamento di tutti gli animali appartenenti alle due categorie, regolarmente macellati e morti.

Anche la Toscana ha messo in atto il piano di SA e come si evidenzia nel grafico 4 a partire dal 2006 tutti i focolai sono stati identificati mediante sorveglianza attiva.

**Grafico 4. Focolai identificati mediante sorveglianze attiva e passiva negli anni 2002 - primo semestre 2009**



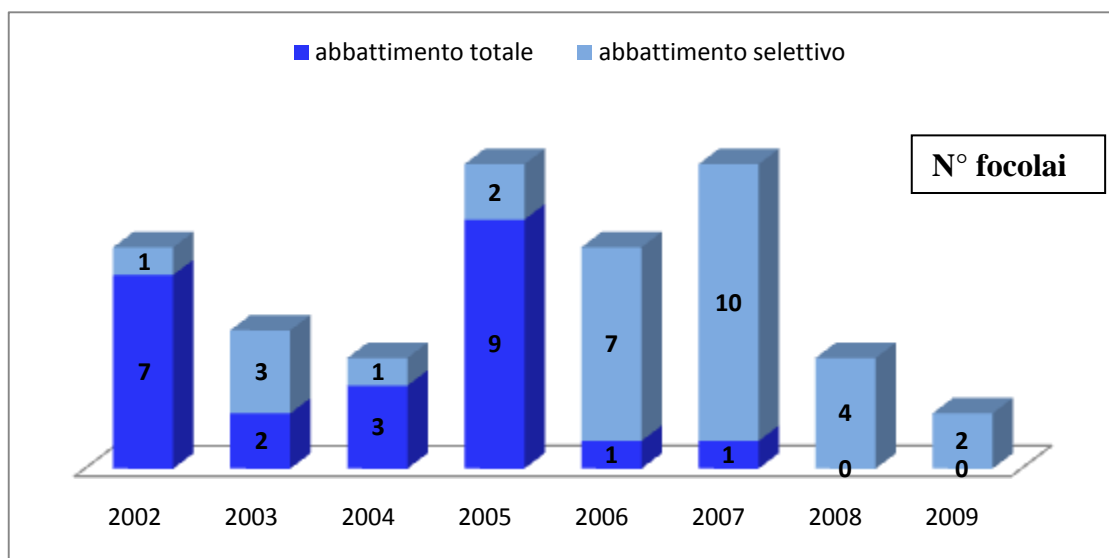
La scrapie ha creato molti problemi agli allevamenti toscani, con notevoli perdite economiche dovute al sequestro cautelativo degli allevamenti, la distruzione dei prodotti, l'abbattimento degli animali nei focolai e le operazioni di disinfezione delle strutture.

Per quanto riguarda gli abbattimenti, la legislazione comunitaria ha previsto la possibilità di praticare l'abbattimento parziale o selettivo degli animali in base alle caratteristiche genetiche di resistenza o suscettibilità dei soggetti presenti nei focolai.

La regione Toscana, anche per salvaguardare il suo consistente patrimonio zootecnico, ha incoraggiato gli allevatori a optare per l'abbattimento selettivo.

Come si può vedere nel grafico 5, gli abbattimenti totali che sono stati numerosi fino al 2005, sono diminuiti negli anni 2006 e 2007 per cessare a partire dal 2008.

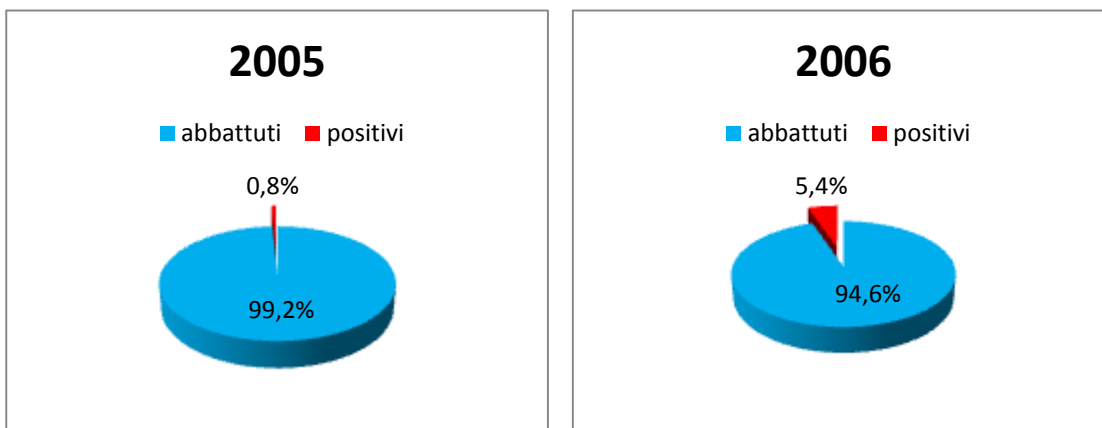
**Grafico 5. Andamento temporale degli abbattimenti totali e selettivi negli anni 2002 - primo semestre 2009**



Come si può vedere dal grafico 6, che prende in considerazione gli anni 2003 - 2006, i soggetti positivi alla scrapie, erano in numero molto basso rispetto ai soggetti abbattuti.

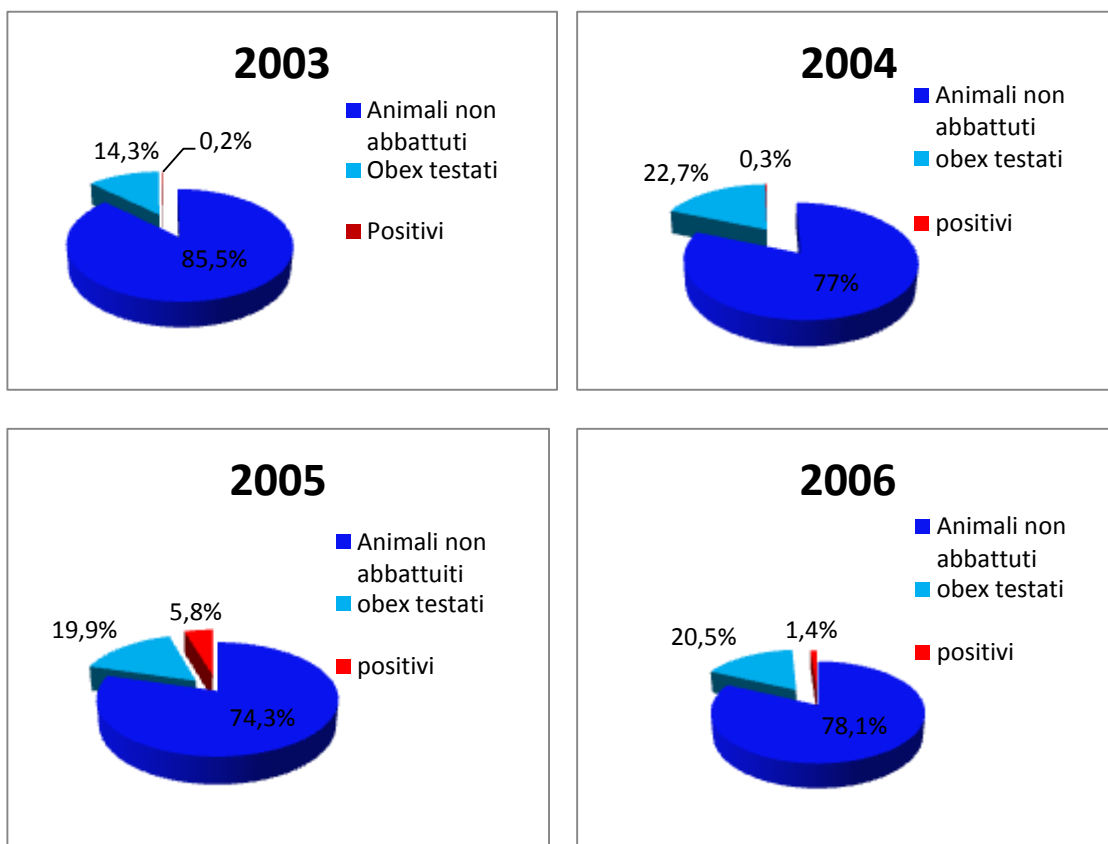
**Grafico 6. Percentuale di ovini risultati positivi rispetto ai soggetti abbattuti con abbattimento totale**

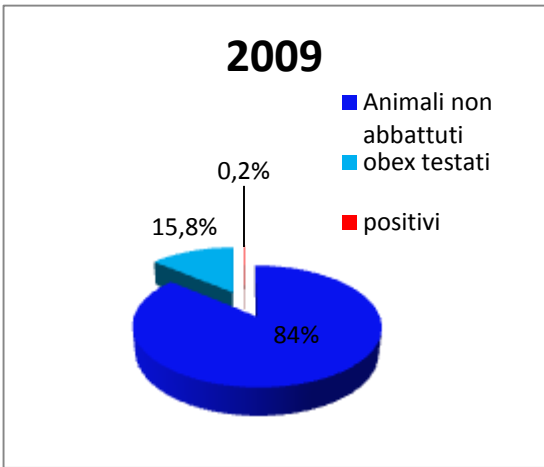
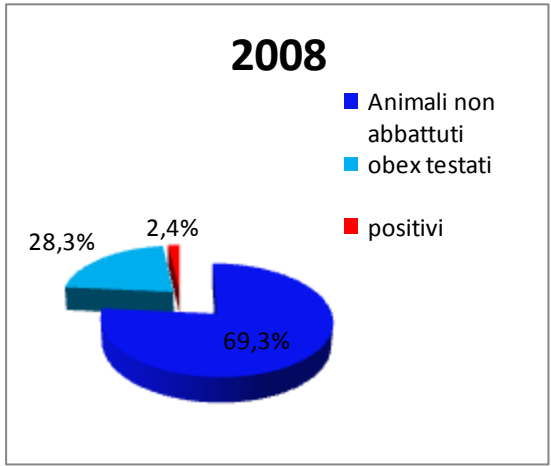
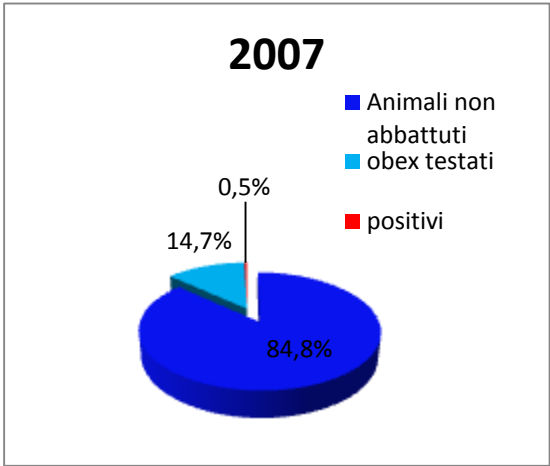




Con l'adozione dell'abbattimento selettivo si è avuta una netta riduzione del numero di capi abbattuti (obex testati), rispetto ai casi effettivamente risultati positivi.

**Grafico 7. Percentuale di ovini risultati positivi rispetto ai soggetti abbattuti con abbattimento selettivo**





## **Cap.5. CONCLUSIONI**

La scrapie è diffusa in tutto il territorio italiano, ed in modo particolare nella regione Toscana.

I dati relativi al 2002 evidenziano come con l'avvio della sorveglianza attiva il numero dei focolai sia aumentato confermando che negli anni passati molti non erano stati identificati. In mancanza di terapie e vaccini efficaci, fino ai primi anni del 2000 l'unica strategia di controllo della scrapie si basava sull'abbattimento e la distruzione degli animali presenti nei focolai. Attualmente, mediante la genotipizzazione associata all'abbattimento selettivo, è possibile garantire la continuità dell'attività produttiva delle aziende infette.

La regione Toscana, in conseguenza della progressiva evoluzione e della complessa articolazione del Sistema di sorveglianza delle TSE ovi-caprine, ha ritenuto necessario applicare Linee guida che potessero sintetizzare gli interventi previsti sul territorio.

L'esperienza condotta in una realtà zootecnica estremamente differenziata come quella delle province toscane, ha rilevato una situazione in cui spesso l'applicazione delle stesse misure sanitarie portava a risultati non omogenei.

Le Linee guida rappresentano uno strumento di facile consultazione per Veterinari ai fini della sorveglianza e della gestione delle TSE ovi-caprine nel proprio territorio.

La loro corretta e omogenea applicazione, rappresenta, ad oggi, il miglior mezzo di prevenzione della malattia.

.

## **Cap.6. NORMATIVA DI RIFERIMENTO.**

### **6.1. Normativa comunitaria.**

- **REGOLAMENTO (CE) N. 999/2001 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO** del 22 maggio 2001 recante disposizioni per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di alcune encefalopatie spongiformi trasmissibili.
- **DIRETTIVA 2001/10/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO** del 22 maggio 2001 che modifica la direttiva 91/68/CEE del Consiglio per quanto concerne la Scrapie.
- **REGOLAMENTO (CE) N. 270/2002 DELLA COMMISSIONE** del 14 febbraio 2002 modifica il regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda i materiali a rischio specifico e la sorveglianza epidemiologica delle encefalopatie spongiformi trasmissibili, nonché il regolamento (CE) n. 1326/2001 riguardo all'alimentazione degli animali e all'immissione sul mercato di ovini e caprini e dei loro prodotti.
- **DECISIONE DELLA COMMISSIONE 2002/1003/CE** del 18 dicembre 2002 che fissa requisiti minimi per uno studio dei genotipi della proteina prionica delle razze ovine.
- **REGOLAMENTO (CE) N. 260/2003 DELLA COMMISSIONE** del 12 febbraio 2003 che modifica il regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto concerne l'eradicazione delle encefalopatie spongiformi trasmissibili negli ovini e nei caprini e le regole per il commercio di ovini e caprini vivi e di embrioni bovini.
- **REGOLAMENTO (CE) N. 1053/2003 DELLA COMMISSIONE** del 19 giugno 2003 che modifica il regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda i test rapidi.



- **REGOLAMENTO (CE) N. 1874/2003 DELLA COMMISSIONE** del 24 ottobre 2003 relativo all'approvazione dei programmi nazionali di taluni Stati membri per la lotta contro lo scrapie e alla definizione di garanzie addizionali, nonché alla concessione di deroghe all'istituzione di programmi d'allevamento di ovini resistenti alle encefalopatie spongiformi trasmissibili conformemente.
- **REGOLAMENTO (CE) N. 2245/2003 DELLA COMMISSIONE** del 19 dicembre 2003 che modifica il regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda la sorveglianza delle encefalopatie spongiformi trasmissibili negli ovini e nei caprini.
- **REGOLAMENTO (CE) N. 1492/2004 DELLA COMMISSIONE** del 23 agosto 2004 che modifica il regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda le misure di eradicazione delle encefalopatie spongiformi trasmissibili negli animali delle specie bovina, ovina e caprina, il commercio e l'importazione di sperma ed embrioni degli ovini e dei caprini e i materiali specifici a rischio.
- **REGOLAMENTO (CE) N. 36/2005 DELLA COMMISSIONE** del 12 gennaio 2005 che modifica gli allegati III e X del regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda la sorveglianza epidemiologica delle encefalopatie spongiformi trasmissibili nei bovini, negli ovini e nei caprini.
- **REGOLAMENTO (CE) N. 214/2005 DELLA COMMISSIONE** del 9 febbraio 2005 che modifica l'allegato III del regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda la sorveglianza epidemiologica delle encefalopatie spongiformi trasmissibili nei caprini.
- **REGOLAMENTO (CE) N. 260/2005 DELLA COMMISSIONE** del 16 febbraio 2005 che modifica il regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda i test diagnostici rapidi.

- **REGOLAMENTO (CE) N. 932/2005 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO** dell'8 giugno 2005 che modifica il regolamento (CE) n. 999/2001 recante disposizioni per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di alcune encefalopatie spongiformi trasmissibili per quanto concerne l'estensione del periodo di applicazione delle misure transitorie.
  
- **REGOLAMENTO (CE) N. 1292/2005 DELLA COMMISSIONE** del 5 agosto 2005 recante modifica dell'allegato IV del regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda l'alimentazione degli animali.
  
- **DECISIONE DELLA COMMISSIONE 2005/723/CE** del 14 ottobre 2005 relativa ai programmi di eradicazione e di sorveglianza delle malattie animali e di alcune TSE e relativa ai programmi intesi a prevenire le zoonosi, che possono fruire di un contributo finanziario della Comunità nel 2006.
  
- **DECISIONE DELLA COMMISSIONE 2005/873/CE** del 30 novembre 2005 che approva i programmi per l'eradicazione e la sorveglianza delle malattie animali e di talune TSE e per la prevenzione delle zoonosi presentati dagli Stati membri per il 2006.
  
- **REGOLAMENTO (CE) N. 1974/2005 DELLA COMMISSIONE** del 2 dicembre 2005 che modifica gli allegati X e XI del regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda laboratori nazionali di riferimento e materiale a rischio specifico.
  
- **DECISIONE DELLA COMMISSIONE 2005/934/CE** del 21 dicembre 2005 che modifica le decisioni 2004/696/CE e 2004/863/CE per quanto concerne la riassegnazione del contributo finanziario della Comunità ai programmi di eradicazione e di sorveglianza delle TSE presentati dagli Stati membri per il 2005.

- **REGOLAMENTO (CE) N. 253/2006 DELLA COMMISSIONE** del 14 febbraio 2006 che modifica il regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto concerne i test diagnostici rapidi e le misure di eradicazione delle TSE negli ovini e nei caprini.
  
- **REGOLAMENTO (CE) N. 339/2006 DELLA COMMISSIONE** del 24 febbraio 2006 che modifica l'allegato XI del regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto concerne le norme relative all'importazione di bovini vivi e di prodotti di origine bovina, ovina e caprina.
  
- **REGOLAMENTO (CE) N. 546/2006 DELLA COMMISSIONE** del 31 marzo 2006 che attua il regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda programmi nazionali di sorveglianza della Scrapie e garanzie addizionali, deroga da taluni requisiti della decisione 2003/100/CE e abroga il regolamento (CE) n. 1874/2003.
  
- **REGOLAMENTO (CE) N. 1041/2006 DELLA COMMISSIONE** del 7 luglio 2006 che modifica l'allegato III del regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda la sorveglianza delle encefalopatie spongiformi trasmissibili negli ovini.
  
- **REGOLAMENTO (CE) N. 1923/2006, DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO** del 18 dicembre 2006, che modifica il regolamento (CE) n. 999/2001 recante disposizioni per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di alcune encefalopatie spongiformi trasmissibili.
  
- **REGOLAMENTO (CE) N. 727/2007 DELLA COMMISSIONE** del 26 giugno 2007 che modifica gli allegati I, III, VII, X del regolamento CE 999/01 del parlamento Europeo e del Consiglio, recante disposizioni per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di alcune encefalopatie spongiformi trasmissibili.

## 6.2. Normativa nazionale.

- Decreto del Presidente della Repubblica n.320 del 08.02.1954: Regolamento di polizia veterinaria.
- Decreto Ministeriale del 03.08.1991: Riconoscimento del centro per lo studio e le ricerche sulle encefalopatie degli animali e neuropatologie comparate dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta quale centro di referenza nazionale.
- Decreto Ministeriale del 29.01.1997: Misure integrative per la sorveglianza permanente delle encefalopatie spongiformi degli animali.
- Ordinanza del 15.06.1998: modificata dal Decreto del Ministero della Sanità 29.09.2000.
- Decreto Ministeriale del 08.04.1999: Norme per la profilassi della Scrapie negli allevamenti ovini e caprini.
- Decreto Ministeriale del 29.09.2000: Misure sanitarie di protezione contro le encefalopatie spongiformi trasmissibili.
- Ministero della Salute, del 18.07.2002: SCRAPIE - Programma di genotipizzazione su campione della popolazione ovina nazionale.
- Ordinanza Ministeriale del 27.09.2002: Proroga delle misure sanitarie di protezione contro le encefalopatie spongiformi trasmissibili.
- Ministero della Salute, del 15.01.2003 prot. 608/SCR/153: Modifica del Regolamento 999/2001 - misure di eradicazione nei focolai di TSE negli ovi-caprini.

- Ministero della Salute, del 15.07.2004 prot. DGVA VIII/22088/P-I.8.d/48: Invio di campioni prelevati nell'ambito delle misure di sorveglianza ed eradicazione delle EST ovicaprine.
- Ministero della Salute, del 09.11.2004 prot. DGVA VIII/34339/P-I.8.d/48: Aggiornamento delle modalità di campionamento nei focolai di EST degli ovicapri.
- Decreto del Ministero della Salute del 17.12.2004: Piano nazionale di selezione genetica per la resistenza alle encefalopatie spongiformi negli ovini.
- Ministero della Salute, del 18.02.2005 prot. DGVA VIII/6114/P-I.8.d/48: TSE – sorveglianza caprini macellati anno 2005.
- Ministero della Salute, del 14.07.2005 prot. DGVA VIII/26005/P-I.8.d/48: Nuove indicazioni sulle modalità di prelievo di campioni di cervello ovino al macello da effettuarsi nell'ambito dell'attività di sorveglianza TSE.
- Ministero della Salute, del 18.07.2005 prot. DGVA VIII/26439/P-I.8.d/48: Integrazione della Nota relativa alle modalità di prelievo di campioni di cervello ovino nell'ambito dell'attività di sorveglianza attiva.
- Ministero della Salute, del 08.09.2005 prot. DGVA VIII/31928/P-I.8.d/58: Misure di eradicazione - Focolai di scrapie - ceppi atipici.
- Ministero della Salute, del 27.09.2005 prot. DGVA VIII/34177/P-I.8.d/48:: Progetto di selezione genetica TSE ovine - laboratori autorizzati ad operare.
- Ministero della Salute, del 23.05.2006 prot. DGVA VIII/19960/P-I.8.d/48: Modifica della attività di sorveglianza TSE ovicaprine 2006.
- Ministero della Salute, del 07.09.2006 prot. DGVA VIII/31257/P-I.8.d/48: Stato di avanzamento piano di sorveglianza per le TSE ovicaprine - anno 2006.

- Ministero della Salute, del 17.10.2006 prot. DGVA VIII/36914/P-I.8.d/58: Sorveglianza scrapie su ovini di provenienza comunitaria.
- Ministero della Salute, del 31.10.2006 prot. DGVA VIII/38835/P-I.8.d/48: Gestione focolai casi atipici NOR98 nei piccoli ruminanti.
- Ministero della Salute, del 15.11.2006 prot. DGVA VIII/41029/P-I.8.d/48: Inserimento “allevamenti focolai” nel Piano Nazionale di selezione genetica per la resistenza alle encefalopatie spongiformi negli ovini.
- Ministero della Salute, del 01.12.2006 prot. DGVA VIII/43499/P-I.8.d/48: Esclusione degli allevamenti “atipici” dal Piano di Selezione Genetica. Genotipizzazione delle femmine. Trasmissione delle informazioni.
- Ministero della Salute, del 01.12.2006 prot. DGVA VIII/43501/P-I.8.d/48: Autorizzazione all’attuazione delle misure di abbattimento selettivo totale.
- Ministero della Salute, del 07.12.2006 prot. DGVA VIII/44341/P-I.8.d/58: Comunicazione circa il ripopolamento sede di Focolaio Scrapie.
- Ministero della Salute, del 30.04.2007 prot. DGSA VIII/3335/P-I.8.d/58: Misure sanitarie in caso di positività NOR98 in greggi caprini.
- Ministero della Salute, del 17.05.2007 prot. DGSA VIII/4321/P-I.8.d/48: Misure sanitarie in caso di focolai di TSE ovi-caprine – Destino degli agnelli con genotipo ignoto.
- Ministero della Salute, del 08.06.2007 prot. DGSA/5609/P-I.8.d/58: Misure sanitari in caso di focolai di EST ovicaprine – deroga alla genotipizzazione degli agnelli con genotipo ignoto.
- Ministero della Salute, del 13.06.2007 prot. DGSA/5776/P-I.8.d/58: Misure sul latte prodotto in allevamenti colpiti da Scrapie NOR98.

- Ministero della Salute, del 02.07.2007 prot. DGSA/6885/P-I.8.d/58: Misure in casi di movimentazione verso pascoli di alpeggio di greggi ovicaprini.
- Ministero della Salute, del 11.07.2007 prot. DGSA III/7516/P-I.8.d/48: Notifica in ambito UE delle misure di eradicazione e sorveglianza delle EST ovicaprine.
- Ministero della Salute, del 16.07.2007 prot. DGSA /7753/P-I.8.d/58: Modifica dell'attività di sorveglianza delle EST ovicaprine – anno 2007.
- Ministero della Salute, del 25.09.2007 prot. DGSA III/10953/P-I.8.d/48: EST ovicaprine – misure per il latte prodotto in allevamenti colpiti da Scrapie classica.
- Ministero della Salute, del 27.09.2007 prot. DGSA III/11068/P-I.8.d/48: EST ovicaprine – misure per il latte prodotto in allevamenti colpiti da Scrapie classica.
- Decreto Ministeriale 30.10.2007 “Abrogazione dell’articolo 4, comma 1, lettera c), del decreto 8 aprile 1999, recante norme per la profilassi della scrapie negli allevamenti ovi-caprini”.

### **6.3. Normativa Regione Toscana.**

- Delibera n. 22 del 10/01/2005: Progetto regionale di selezione genetica per la resistenza alle Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili negli ovini.
- Decreto n. 540 del 04/02/2005: Approvazione modulistica relativa al progetto regionale di selezione genetica per la resistenza alle encefalopatie spongiformi trasmissibili negli ovini, di cui alla deliberazione della Giunta regionale 10 gennaio 2005, n. 22.
- Decreto n. 2991 del 13/05/2005: Istituzione della Commissione regionale per il coordinamento del progetto di selezione genetica per la resistenza alle encefalopatie spongiformi trasmissibili negli ovini, ai sensi della deliberazione della Giunta regionale 10 gennaio 2005, n. 22.

- Decreto n. 5313 del 30/09/2005: Azienda USL 7 di Siena – Erogazione finanziamento per la realizzazione del progetto “Il settore ovi-caprino e l’applicazione dei regolamenti comunitari in materia di igiene”.
- Delibera n. 1013 del 17/10/2005: Misure per la tracciabilità dei capi ovini e caprini per fini di sorveglianza delle encefalopatie spongiformi trasmissibili

#### **6.4. Comunicazioni CEA.**

- Comunicazione CEA del 06/04/2001 prot. N. 2085: Idoneità dei campioni autolitici per il test rapido.
- Comunicazione CEA del 13/01/2003 prot. N. 175: invio campioni per conferma TSE.
- “Linee guida al prelievo del tronco encefalico destinato al test rapido” Centro di Referenza Nazionale per le Encefalopatie Animali – Torino.



## **ALLEGATI**

### **Elenco allegati**

1. sistema nazionale di sorveglianza epidemiologica della Scrapie: scheda accompagnamento campioni
2. documento commerciale Reg. CE 1774/2002 Categoria 1
3. fac-simile ordinanza sequestro allevamento per test non negativo
4. comunicazione al Sindaco delle proprie competenze in caso di focolaio di Scrapie
5. indagine epidemiologica in focolaio di Scrapie: allegato 2 decreto 8 aprile 1999
6. indagine epidemiologica: modulistica prodotta dal CEA.
7. fac-simile ordinanza revoca focolaio con abbattimento totale
8. classificazione per specie e categoria zootecnica degli animali da abbattere
9. scheda clinica: allegato 2 decreto 8 aprile 1999
10. verbale di vincolo sanitario al macello degli animali testati per TSE
11. registro test Scrapie effettuati al macello
12. istruzioni relative al prelievo di campioni al macello
  
13. comunicazione di test non negativo a Scrapie al responsabile del servizio veterinario dove ha sede l'allevamento di provenienza del capo



**Allegato 1 (pag.2/2)**

**DIAGNOSI DIFFERENZIALE**

Per l'effettuazione delle analisi di laboratorio per la diagnosi differenziale, in data

sono stati prelevati i seguenti campioni:

.....  
.....  
.....

**DIAGNOSI DI SCRAPIE**

Per l'effettuazione delle analisi di laboratorio per la diagnosi di Scrapie, in data

sono stati prelevati i seguenti campioni:

Tronco encefalico       Encefalo       Intera testa

Modalità di conservazione dei campioni durante il trasporto all'Istituto  
Zooprofilattico Sperimentale competente:

Data di compilazione

Firma \_\_\_\_\_

**Allegato 2** (pag.1/1)

Documento commerciale per sottoprodotti di origine animale o prodotti trasformati  
da essi derivati di CATEGORIA 1 conforme al Regolamento CE/1774/2002

Regione..... USL N.

DDT n°		del		Ora di partenza			
Targa automezzo o n° identificativo contenitore							
TRASPORTATORE				trasporto a carico del mittente <input type="checkbox"/>		trasporto a carico del destinatario <input type="checkbox"/>	
Nome		Via		Comune		Prov.	
Origine del materiale (Speditore)							
Ditta		Via		Comune		Prov. N° riconoscimento(a)	
a) solo nel caso l'origine del materiale sia un impianto o un deposito riconosciuto ai sensi del Regolamento CE /1774/2002							
<b>Natura del trattamento (b):</b>							
Metodo di trasformazione(b): Metodo 1 Metodo 2 Metodo 3 Metodo 4 Metodo 5							
b) solo nel caso l'origine del materiale sia un impianto di trasformazione							
CAUSALE DEL TRASPORTO							
9. invio ad impianto di trasformazione							
10. invio ad impianto di transito							
11. invio ad inceneritore a norma ambiente come sottoprodotto 18 02 02*							
12. invio ad inceneritore riconosciuto ai sensi del Regolamento CE/1774/2002							
13. invio ad inceneritore o a coinceneritore a norma ambiente come prodotto trasformato 02 02 03							
14. altro -----							
IDENTIFICAZIONE E DESCRIZIONE DEI MATERIALI							
MATERIALI DI CATEGORIA 1 "DESTINATI SOLO ALL'ELIMINAZIONE" PRODOTTI TRASFORMATI DERIVATI DA MATERIALE DI CATEGORIA 1 "DESTINATI SOLO ALL'ELIMINAZIONE"							
TIPO DI MATERIALE				KG.			
Animale/i morto/i della specie:							
_____							
_____							
Eventuale/i marchio/i auricolare/i: _____							
Il Veterinario Ufficiale				Peso complessivo Kg			
_____							
<b>Firma dello speditore o del responsabile dell'impianto di origine</b>						Firma	
del trasportatore						_____	
LUOGO DESTINAZIONE							
Ditta						Prov.	
DESTINATARIO							
Ditta				Prov.		N° riconoscimento	
Lavaggio e disinfezione dell'automezzo avvenuti il ___/___/___ alle ore _____							
<b>Firma responsabile dell'impianto di destinazione</b>							
_____							

Fac-simile Ordinanza SEQUESTRO

COMUNE DI \_\_\_\_\_

Ordinanza N° ..... del .....

**IL SINDACO**

VISTA la nota prot. n° .....del ..... inviata dal Veterinario Ufficiale dell'Azienda USL ..... che comunica la non negatività del test rapido per Scrapie effettuato presso il laboratorio dell'Istituto Zooprofilattico delle Regioni Lazio e Toscana sul tronco encefalico di un ovino proveniente dall'allevamento del Sig. ...., situato in loc..... di questo Comune, identificato con il codice |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|

VISTA la Legge 23 dicembre 1978, n° 833;  
VISTO il T.U. delle Leggi sanitarie, approvato con Regio Decreto 27/07/34, n° 1265;  
VISTO il Regolamento di Polizia Veterinaria, approvato con DPR 08/02/54, n° 320;  
VISTO il Decreto Ministeriale 8 aprile 1999 “Norme per la profilassi della Scrapie negli allevamenti ovini e caprini”;  
VISTA il D.Lvo 18 agosto 2000, n° 267 “Testo unico ordinamento Enti Locali”;  
VISTO il Reg. CEE 999/2001 recante disposizioni per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di alcune encefalopatie spongiformi trasmissibili e successive modifiche

SENTITO il parere del Responsabile del Servizio Attività Veterinarie dell' Azienda U.S.L. ....

**ORDINA**

- Il sequestro dell'allevamento ovino e/o caprino di proprietà di..... identificato dal codice |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_| situato in località ..... di questo Comune ed il relativo divieto di movimentazione di ovini e caprini in entrata ed in uscita dall'allevamento stesso;
- L'identificazione individuale di tutti gli ovini e caprini presenti e relativo censimento;
- L'isolamento di eventuali animali con sintomatologia clinica sospetta, e loro abbattimento a fini diagnostici;
- L' esclusione del latte prodotto dagli animali sospetti al consumo umano
- La distruzione delle placente per incenerimento e la disinfezione delle aree in cui avvengono i parti con ipoclorito di sodio al 2% o con idrossido di sodio 1M.

**DEMANDA**

Il personale di vigilanza e ispezione del Servizio Veterinario dell’Azienda Sanitaria Locale .....e il Comando di Polizia Municipale sono incaricati, ciascuno per la propria competenza, di far osservare la presente ordinanza che entra subito in vigore in attesa della conferma diagnostica degli accertamenti di laboratorio effettuati dal Centro di Referenza Nazionale per lo studio e le ricerche sulle Encefalopatie degli animali, IZS del Piemonte sede di Torino.

**IL SINDACO**

.....



INDAGINE EPIDEMIOLOGICA IN FOCOLAIO DI SCRAPIE

Proprietario/ragione sociale \_\_\_\_\_

Indirizzo \_\_\_\_\_ comune \_\_\_\_\_

Provincia \_\_\_\_ AZ. U.S.L. \_\_\_\_\_ Codice allevamento \_\_\_\_\_

DESCRIZIONE DELL'ALLEVAMENTO

Specie presenti:    ovini     caprini     bovini     suini     polli

1) Numero di capi OVINI presenti:

	<1 anno di età	1-2 anni	2-4 anni	>4 anni
Femmine				
Maschi				

Razze ovine presenti: \_\_\_\_\_

2) Numero di capi CAPRINI presenti:

	<1 anno di età	1-2 anni	2-4 anni	>4 anni
Femmine				
Maschi				

Razze caprine presenti: \_\_\_\_\_

Tipo di pascolo     Stanziale

Pascolo vagante località \_\_\_\_\_

Alpeggio/Transumanza località \_\_\_\_\_



**Allegato 5** (pag.2/3)

**CASI DI SCRAPIE IN ALLEVAMENTO**

In che mese ed anno si sono verificati i primi casi di Scrapie?

1) nelle pecore: Mese: \_\_\_\_\_ Anno: \_\_\_\_\_

2) nelle capre: Mese: \_\_\_\_\_ Anno: \_\_\_\_\_

A che età (in anni) si sono ammalati i primi casi di Scrapie?

pecore:         fino a 2 anni         da 2 fino a 4 anni         da 4 anni in su

capre:         fino a 2 anni         da 2 fino a 4 anni         da 4 anni in su

Quanti casi di Scrapie si sono verificati nei 2 anni precedenti la data odierna?

1) numero di casi verificatisi nelle pecore:

	<b>fino a 2 anni di età</b>	<b>da 2 fino a 4 anni</b>	<b>da 4 anni in su</b>
ultimi 12 mesi			
12 mesi precedenti			

2) numero di casi verificatisi nelle capre

	<b>fino a 2 anni di età</b>	<b>da 2 fino a 4 anni</b>	<b>da 4 anni in su</b>
ultimi 12 mesi			
12 mesi precedenti			

**Allegato 5** (pag.3/3)

**MOVIMENTAZIONE DEGLI ANIMALI**

Il numero di capi è rimasto approssimativamente

lo stesso negli ultimi 2 anni?

[sì]

[no]

se [no] spiegare \_\_\_\_\_

Considerando il lungo tempo di incubazione della malattia:

- 1) Elencare le introduzioni di capi avvenute nei cinque anni precedenti il periodo di comparsa dei primi casi clinici in allevamento.

Specie	N° capi	Anno	Proprietario	Località (e provincia)
OV <input type="checkbox"/> CP <input type="checkbox"/>				
OV <input type="checkbox"/> CP <input type="checkbox"/>				
OV <input type="checkbox"/> CP <input type="checkbox"/>				
OV <input type="checkbox"/> CP <input type="checkbox"/>				
OV <input type="checkbox"/> CP <input type="checkbox"/>				

- 2) Elencare le vendite/cessioni di capi da vita avvenute a partire da cinque anni prima della comparsa dei primi casi clinici in allevamento fino alla data odierna.

Specie	N° capi	Anno	Proprietario	Località (e provincia)
OV <input type="checkbox"/> CP <input type="checkbox"/>				
OV <input type="checkbox"/> CP <input type="checkbox"/>				
OV <input type="checkbox"/> CP <input type="checkbox"/>				
OV <input type="checkbox"/> CP <input type="checkbox"/>				
OV <input type="checkbox"/> CP <input type="checkbox"/>				

Annotazioni \_\_\_\_\_

Data \_\_ / \_\_ / \_\_

Il Veterinario compilatore

-----

*Grazie per aver completato in tutte le sue parti il presente questionario. Una volta compilato, copia del questionario deve essere inviata (per fax, se possibile, e quindi anche per posta ordinaria) al Centro di Referenza Nazionale per le Encefalopatie animali, Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Via Bologna 148, 10154 Torino. Numero FAX: 011-248 77 70.*

**Allegato 6** (pag.1/10)

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta  
*C.E.A. Centro di referenza nazionale per lo studio e le ricerche  
sulle encefalopatie degli animali e neuropatologie comparate.*  
**SCRAPIE IN OVICAPRINI**

**QUESTIONARIO PER LA RACCOLTA DI INFORMAZIONI NEI FOCOLAI**

Questo questionario è stato predisposto per raccogliere informazioni di carattere generale in ogni nuovo focolaio di Scrapie che abbia colpito soggetti di specie ovina e/o soggetti di specie caprina. Per qualsiasi dubbio o necessità di chiarimento contattare il Dr. Giuseppe Ru presso il Centro di Referenza di questo Istituto al seguente numero telefonico: 011 26 86 265 (fax 011 26 86 360).

Data \_\_\_\_\_ Ora di inizio intervista \_\_\_\_\_

Compilatore Dr. \_\_\_\_\_ Specificare: ASR  
IZS

N. telefonico \_\_\_\_\_

Persona intervistata in azienda \_\_\_\_\_

N. telefonico \_\_\_\_\_

Indirizzo \_\_\_\_\_

Località \_\_\_\_\_ Comune \_\_\_\_\_ Provincia ( \_\_\_\_ )

**1. DATI GENERALI RELATIVI ALL'ALLEVAMENTO**

1a. Codice di Identificazione Aziendale

1b. Indicare la località dove gli animali vengono effettivamente tenuti (se diversa da quella già indicata):

Indirizzo \_\_\_\_\_

Località \_\_\_\_\_ Comune \_\_\_\_\_ Provincia ( \_\_\_\_ )

Coordinate geografiche dell'allevamento sistema di rilevamento

1c. Composizione del gregge: solo pecore solo capre misto



**Allegato 6** (pag.3/10)

ANIMALI DA VITA ACQUISTATI PER CIASCUN ANNO										
	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
<b>Capre</b>	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:
<b>Becchi</b>	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:
<b>Capretti</b>	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:	[sì] [no] N° ____ razza:

1g. Relativamente al punto precedente, indicare l'origine degli animali introdotti durante gli ultimi dieci anni.

Specie	sexso	anno	proprietario	Località (provincia)
OV <input type="checkbox"/> CP <input type="checkbox"/>	OM OF			
OV <input type="checkbox"/> CP <input type="checkbox"/>	OM OF			
OV <input type="checkbox"/> CP <input type="checkbox"/>	OM OF			
OV <input type="checkbox"/> CP <input type="checkbox"/>	OM OF			
OV <input type="checkbox"/> CP <input type="checkbox"/>	OM OF			
OV <input type="checkbox"/> CP <input type="checkbox"/>	OM OF			
OV <input type="checkbox"/> CP <input type="checkbox"/>	OM OF			
OV <input type="checkbox"/> CP <input type="checkbox"/>	OM OF			

**Allegato 6** (pag.4/10)

1h. Durante gli ultimi dieci anni, sono stati presi maschi in prestito per la monta?

[sì]                    [no]

se [sì], specificare in che anni è successo, il proprietario e la località di provenienza dei maschi

Specie OV opp. CP	Anno	Proprietario	Località (e provincia)

1i. Nel corso degli ultimi 10 anni è capitato che alcuni agnellini o capretti siano stati ricevuti da allevamenti vicini (ad es. in caso di morte di piccoli in allevamento)?

[sì]    [no]                    se [sì] specificare approssimativamente  
quante volte è capitato negli ultimi 10 anni \_\_\_\_\_

1l. Si ricorda di *anni particolari* in cui sono stati introdotti molti agnelli o capretti contemporaneamente?

---

1m. Nel corso degli ultimi 10 anni sono stati venduti capi appartenenti all'allevamento ad altre aziende?

[sì]    [no]    se [sì] indicare nella tabella le aziende che hanno acquistato i capi

Specie e numero di capi ceduti	Anno	Proprietario	Località (e provincia)

**Allegato 6** (pag.5/10)

- 1n. Il gregge pascola  su un solo terreno aziendale  
 su più terreni aziendali che si trovano anche lontano tra loro  
 su terreni comunali o affittati

1o. Specificare sede e caratteristiche dei pascoli:

LOCALITA' e COMUNE	PROV.	SUPERF. IN ETTARI	STAGIONE DI UTILIZZO	PROMISCUO CON ALTRE GREGGI O MANDRIE
1.				<input type="radio"/> di pecore <input type="radio"/> di capre <input type="radio"/> di bovini
2.				<input type="radio"/> di pecore <input type="radio"/> di capre <input type="radio"/> di bovini
3.				<input type="radio"/> di pecore <input type="radio"/> di capre <input type="radio"/> di bovini
4.				<input type="radio"/> di pecore <input type="radio"/> di capre <input type="radio"/> di bovini

1p. Negli ultimi 10 anni ha cambiato alcuni dei pascoli usati di solito?

[sì]                      [no]

se [sì] specificare

LOCALITA' e COMUNE	PROV.	SUPERF. IN ETTARI	STAGIONE DI UTILIZZO	PROMISCUO CON ALTRE GREGGI O MANDRIE
1.				<input type="radio"/> di pecore <input type="radio"/> di capre <input type="radio"/> di bovini
2.				<input type="radio"/> di pecore <input type="radio"/> di capre <input type="radio"/> di bovini

2. ALIMENTAZIONE

2a. Oltre al pascolo, negli ultimi 10 anni sono stati acquistati al di fuori dell'azienda e forniti agli animali i seguenti alimenti:

TIPO DI ANIMALE	MANGIMI ACQUISTATI E DATI AGLI ANIMALI NEGLI ULTIMI 10 ANNI	ANNI IN CUI E' STATO UTILIZZATO
Pecore adulte	<input type="checkbox"/> foraggio	
	<input type="checkbox"/> mangime composto/integrato	
	<input type="checkbox"/> orzo	
	<input type="checkbox"/> avena	
	<input type="checkbox"/> grano	
	<input type="checkbox"/> granturco	
	<input type="checkbox"/> altro (specificare... )	
Agnelli	<input type="checkbox"/> mangime per svezzamento	
Capre adulte	<input type="checkbox"/> foraggio	
	<input type="checkbox"/> mangime composto/integrato	
	<input type="checkbox"/> orzo	
	<input type="checkbox"/> avena	
	<input type="checkbox"/> grano	
	<input type="checkbox"/> granturco	
	<input type="checkbox"/> altro (specificare... )	
Capretti	<input type="checkbox"/> mangime per svezzamento	

2b. Nello stesso periodo è capitato di dare mangimi destinati ad altre specie animali?

sì  no

se  sì specificare il tipo di mangime e in che anni è stato utilizzato

2c. Gli animali hanno accesso in qualche modo al mangime destinato ad animali di altra specie presenti in azienda?

sì  no

se  sì specificare il tipo di mangime e in che anni ciò potrebbe essersi verificato



### 3. CASI DI SCRAPIE IN ALLEVAMENTO

3a. In che mese ed anno si sono verificati i primi casi di Scrapie?

nelle pecore: Mese: \_\_\_\_\_ Anno: \_\_\_\_\_

nelle capre: Mese: \_\_\_\_\_ Anno: \_\_\_\_\_

3b. Quanti casi si sono verificati in quell'anno?

nelle pecore \_\_\_\_\_ femmine

\_\_\_\_\_ maschi

\_\_\_\_\_ totale

nelle capre \_\_\_\_\_ femmine

\_\_\_\_\_ maschi

\_\_\_\_\_ totale

3c. I primi animali che si sono ammalati erano nati già in allevamento o erano stati acquistati?

pecore:  nati in allevamento

acquistati

Capre:  nati in allevamento

acquistati

3d. A che età (in anni) si sono ammalati i primi casi di Scrapie?

pecore:  fino a 2 anni  da 2 fino a 4 anni  da 4 anni in su

capre:  fino a 2 anni  da 2 fino a 4 anni  da 4 anni in su

3e. Quanti casi di Scrapie si sono verificati nei 2 anni precedenti la data odierna?

1) numero di casi verificatisi nelle pecore:

	<b>fino a 2 anni di età</b>	<b>da 2 fino a 4 anni</b>	<b>da 4 anni in su</b>
Ultimi 12 mesi			
12 mesi precedenti			

2) numero di casi verificatisi nelle capre:

	<b>fino a 2 anni di età</b>	<b>da 2 fino a 4 anni</b>	<b>da 4 anni in su</b>
Ultimi 12 mesi			
12 mesi precedenti			

**Allegato 6** (pag.8/10)

3f. In generale, di che razza erano gli animali ammalati? pecore: \_\_\_\_\_

capre: \_\_\_\_\_

3g. Gli animali ammalati erano tra loro consanguinei  
(figli, fratelli ecc.)

- non sa
- mai
- qualche volta
- spesso
- quasi sempre

3m. Quali sono i sintomi (in ordine di comparsa) che di solito hanno gli animali?

Pecore: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Capre: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

#### 4. STATO SANITARIO DELL'ALLEVAMENTO

4a. Negli ultimi 10 anni quali altre malattie si sono verificate in allevamento e come sono state trattate?

Nelle pecore: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Nelle capre: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

4b. Come si chiama il veterinario che di solito viene chiamato?

\_\_\_\_\_ Num. Telefonico \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ Num. Telefonico \_\_\_\_\_

4c. Gli animali presenti in azienda sono stati vaccinati negli ultimi 10 anni?

[sì]                      [no]

se sono stati vaccinati, specificare:

SPECIE	VACCINO PER (indicare anche la ditta produttrice)	SESSO ED ETA' DEGLI ANIMALI VACCINATI	ANNI IN CUI E' STATO USATO E MESE DI SOMMINISTRAZIONE
Pecore	1.	solo F O <1 anno O solo M O >1 anno O M e F O di tutte le età O	
Pecore	2.	solo F O <1 anno O solo M O >1 anno O M e F O di tutte le età O	
Pecore	3.	solo F O <1 anno O solo M O >1 anno O M e F O di tutte le età O	
SPECIE	VACCINO PER (indicare anche la ditta produttrice)	SESSO ED ETA' DEGLI ANIMALI VACCINATI	ANNI IN CUI E' STATO USATO E MESE DI SOMMINISTRAZIONE
Capre	1.	solo F O <1 anno O solo M O >1 anno O M e F O di tutte le età O	
Capre	2.	solo F O <1 anno O solo M O >1 anno O M e F O di tutte le età O	
Capre	3.	solo F O <1 anno O solo M O >1 anno O M e F O di tutte le età O	

4d. Da chi sono stati consigliati e prescritti i vaccini? \_\_\_\_\_



Fac-simile ordinanza

**REVOCA MISURE FOCOLAIO CON ABBATTIMENTO TOTALE**

COMUNE DI.....

Ordinanza N° .....del.....

**IL SINDACO**

VISTA l'Ordinanza sindacale n..... del ..... con la quale si imponeva l'abbattimento e la distruzioni delle parti mobili dell'allevamento e la successiva disinfezione di tutti i locali e attrezzature fisse;

VISTA la comunicazione del Direttore della U.O Sanità animale del .....

Prot. n°, ..... della AUSL .....dalla qual, risulta che:

- sono stati abbattuti e distrutti gli ovini e/o caprini presenti nell'allevamento di proprietà del Sig. .... nato a ..... con codice |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_| posto in via ..... nel comune di.....
- sono state effettuate le operazioni di distruzioni delle attrezzature mobili;
- sono state eseguite le operazioni di disinfezione dell'ovile secondo l' modalità indicate nell' ordinanza sopra richiamata;

VISTO il D.M. 08.04.1999 ~ Norme per Il profilassi della scrapie negli allevamenti ovini e caprini, che propone di procedere alla revoca dell'ordinanza, dopo aver effettuato tutte le operazioni di abbattimento, distruzione e disinfezione, degli animali, degli oggetti e dei luoghi ove aveva sede l' allevamento;

VISTO il D.Lgs. 18 agosto 2000. n° 267 "Testo Unico ordinamento Enti Locali

CONSIDERATO che al momento dell'emissione dell' Ordinanza ricorrevano I presupposti dei provvedimenti contingibili e urgenti di cui all'art,' 54 del D.Lgs. 18 agosto 2000, n° 267, al fine di prevenire ed eliminare gravi pericoli che minacciano l'incolumità dei cittadini, e che oggi avendo già effettuato tutte le operazioni indicate nell'ordinanza n° .....del .....decadono i rischi per l' incolumità dei cittadini;

**ORDINA**

la revoca dell'ORDINANZA n° .....del....., in quanto non sono più presenti i rischi per l'incolumità dei cittadini

**INFORMA E AVVERTE**

Il Sig.....nato a ..... e residente a.....

Già proprietario dell'allevamento con codice |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_| posto in Via .....

.....  
Comune.....,

- che sono cessati I pericoli per la pubblica incolumità
- che il ripopolamento dell'allevamento è consentito, avendo completato le operazioni indicate nell'Ordinanza n.....del ..... ed effettuandole nel rispetto dell'art. 5 del Decreto Ministeriale 8 aprile 1999, del Regolamento (CE) n° 999/2001del 22 maggio 2001 così come modificato dal Regolamento CE n° 1492/04 e preventivamente concordate con Il Servizio Attività Veterinaria.

**INVIA**

il presente provvedimento:

- al Sig....., nato a .....  
e ..... residente ..... a .....
- al Comando di Polizia Municipale del Comune di.....
- alla Azienda USL .....

**IL SINDACO**

.....

**Allegato 8** (pag.1/1)

Prot.....

Data.....

**CLASSIFICAZIONE PER SPECIE E CATEGORIA  
DI ANIMALI DA ABBATTERE**

Il giorno.....nel comune di .....  
via.....presso l'allevamento della specie ovina appartenente  
al sig....., codice aziendale |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_| e  
residente a ....., in ..... il  
Dott....., veterinario ufficiale, unitamente al Sig. ....  
....., rappresentante dell'Associazione Allevatori della Provincia  
di .....debitamente convocato ai sensi dell'articolo 3 lettera a) del DM 20.07.1989,  
n. 298, procedono all'individuazione per specie e categoria degli animali da abbattere in  
quanto risultati appartenenti ad un gregge infetto da Scrapie.

Gli animali destinati all'abbattimento sono i seguenti:

n° .....Specie ovina e/o caprina iscritta/non iscritta L.G. categoria\_ agnelli da riprod. 3/7  
mesi

n° .....Specie ovina/cap... \_iscritta/ non iscritta L.G. categoria agnelli da riprod. fine  
gestazione

n° .....Specie ovina/cap... \_iscritta/non iscritta L.G. categoria pecora 2° parto fine  
gestazione

n° .....Specie ovina/cap... \_iscritta/non iscritta L.G. categoria pecora pluripara

n° .....Specie ovina/cap... \_iscritta/non iscritta L.G. categoria \_ agnelli da riproduzione  
6/12 mesi

n° .....Specie ovina/cap... \_iscritta/non iscritta L.G. categoria arieti 12/24 mesi

n° .....Specie ovina iscritta/non iscritta L.G. categoria arieti oltre 24 mesi

Dr.....

**SCHEDA CLINICA**

DATA .../.../...

**• PROPRIETARIO:**

SIG .....

VIA ..... CITTÀ.....

PROV. ....

TEL .....

COD. ALLEVAMENTO ..... ASR/USL n° .....

**• Segnalamento:**

Specie ..... Razza ..... Età ..... Sesso .....

Marca auricolare .....Attitudine produttiva .....

Provenienza  Nazionale Località.....

Estera Nazione .....

**• Anamnesi:**

Inizio sintomatologia (Data) .....

Evoluzione  Stazionario

Peggioramento

Miglioramento

Terapia attuata .....

Risposta ottenuta .....

**• Esame obiettivo generale: (Principali alterazioni evidenziate)**

.....  
.....  
.....



**Allegato 9** (pag.2/2)

- Esame clinico neurologico:

*Modificazione del comportamento*

- No
- Si →  Timore
- Nervosismo
- Aggressività
- Apatia
- Altro .....

Breve descrizione delle modificazioni comportamentali:

.....  
.....  
.....

*Sensorio*

- Normale
- Abbattimento
- Eccitazione

*Postura*

- Normale
- Alterata: →  Testa ruotata
- Cifosi
- Opistotono
- Base di appoggio aumentata
- Paresi Arto/i .....
- Paralisi Arto/i .....
- Decubito obbligato
- Altro.....

*Andatura*

- Normale
- Alterata: →  Incoordinazione
- Ipermetria
- Movimenti in circolo o di lateralità
- Rigidità
- Andatura incerta, tendenza a cadere
- Andatura oscillante
- Altro

- Note

.....  
.....

VETERINARIO .....

ASR/USL .....

FIRMA.....

*VERBALE DI VINCOLO SANITARIO*  
*Reg. CE 270/2002)*

L'anno addì.....del mese di..... alle ore.....  
il sottoscritto medico.veterinario Dr. ....  
quadro delle disposizioni previste dal Regolamento CE 270/2002, ha proceduto a  
porre in vincolo sanitario, per il tempo necessario all'espletamento del controllo mediante  
test rapido per il rilevamento della presenza di TSE, la carcassa e tutte le altre  
parti del corpo degli ovini/caprini adulti di età superiore a 18 mesi, compreso il sangue,  
regolarmente macellati / macellati di urgenza, presso lo stabilimento  
di macellazione..... CEE e identificati come da verbale di prelievo  
campioni allegato n° ... .. e dal n° di codice di tracciabilità interna allo stabilimento  
di macellazione:

<b>Campione N°</b>	<b>Codice tracciabilità</b>	<b>Campione N°</b>	<b>Codice tracciabilità</b>
1		9	
2		10	
3		11	
4		12	
5		13	
6		14	
7		15	
8		16	

Le carcasse sono depositate in una apposita cella contrassegnata con il n°.....  
Insieme alle parti del corpo risultanti dalle operazioni di macellazione, poste in n°.....  
contenitori sigillati e vidimati con timbro della Azienda USL n° ..... di.....  
Quanto sopra è avvenuto alla costante presenza del Sig. :.....  
nella sua qualità di .....

Le carcasse e i contenitori sopra individuati vengono lasciati in custodia fiduciaria  
e sotto la propria responsabilità al Sig. ....  
sopra generalizzato in attesa delle determinazioni da adottarsi da parte della U.F. di  
Sanità Pubblica Veterinaria in seguito all'ottenimento del risultato del test rapido.

Letto e confermato, viene sottoscritto

Il detentore..... Veterinario Ufficiale.....



## Allegato 12

### Istruzioni relative al prelievo di campioni al macello

#### Animali ai quali prelevare il campione

Il campione è prelevato da ovini e caprini di età superiore a 18 mesi (ai quali sono spuntati due incisivi permanenti). Prima di prelevare il campione dalla testa separata dal tronco, occorre controllare lo stato dei denti per verificare se l'animale ha raggiunto l'età richiesta (superiore a 18 mesi) per prelevare il campione.

Non prelevare

**Animale giovane**

Non prelevare



Prelevare

**Animale adulto**

Prelevare



#### *Persona incaricata del prelievo*

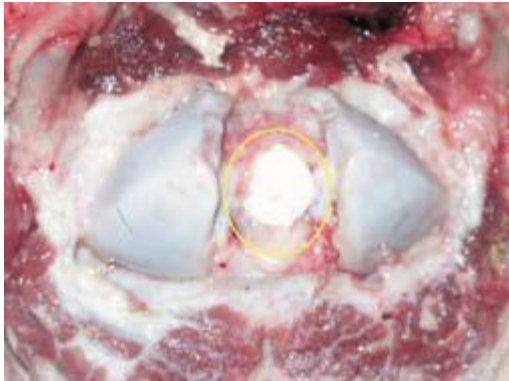
Il prelievo del campione deve essere effettuato dalla persona incaricata del controllo delle carni oppure dal Veterinario Ufficiale. La persona che effettua il prelevamento deve indossare appositi D.P.I. durante il prelievo.



### Preparazione prima del prelievo

Disarticolare la testa a livello dell'articolazione occipito-atlandoidea e staccarla.

Prima di procedere al prelievo, porre la testa sulla superficie di lavoro, la fronte verso il basso.



Evidenziare il tronco nel foramen magnum.



Localizzare il midollo spinale e tagliare con Pinze e forbici le connessioni anatomiche con la dura madre ed i nervi cranici in modo da favorire lo scivolamento del campione prelevato in senso caudale.



Per semplificare il prelievo del campione è raccomandato di aprire la meninge e tagliare i nervi cranici aiutandosi con delle forbici a lama fine e pinze non chirurgiche (da usare soltanto a questo scopo).

### **Prelievo del campione di cervello.**

Il campione è composto dal tronco cerebrale e da parti del cervelletto.

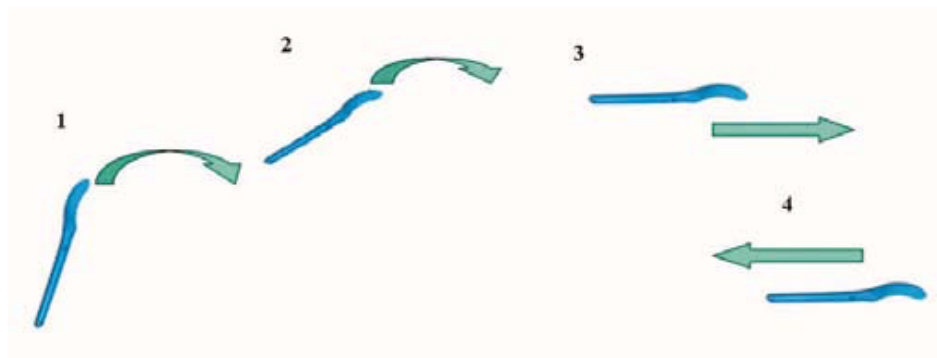
Per prelevarlo, introdurre il cucchiaio dal foro occipitale (*Foramen magnum*) tra le meningi e il cervello a una profondità di 5 cm.

Il tronco cerebrale e una parte del cervelletto vengono staccati dalle meningi effettuando movimenti circolari (vedere l'illustrazione).

Il tronco e il cervelletto vengono in seguito separati dal cervello con un movimento di «strappo» effettuato dall'alto verso il basso e ritirati dal foro occipitale.

Per effettuare l'analisi è indispensabile disporre dell'intera parte dell'obex. Non lesionatelo all'atto del prelievo.

Per includere nel prelievo anche parte del cervelletto spingere il cucchiaio più cranialmente e con un movimento dal basso all'alto della punta del cucchiaio raccogliere il campione trascinandolo caudalmente.

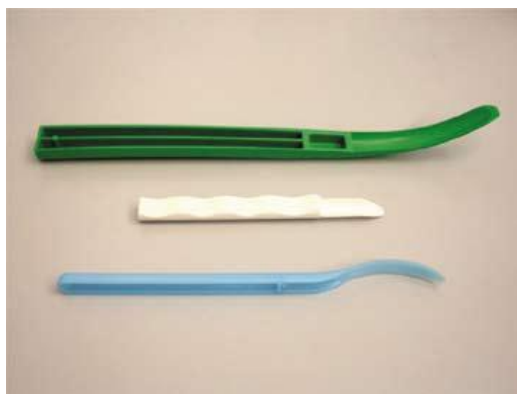


### **Prevenire le contaminazioni incrociate**

Per evitare contaminazioni con tessuto cerebrale ovino, occorre prendere le seguenti misure di sicurezza.

- a) Per il prelievo di campioni da ovini e caprini deve essere utilizzato esclusivamente il cucchiaio fornito a questo scopo. I prelievi da ovini e caprini devono essere effettuati con guanti.
- b) Per effettuare il prelievo di campioni da ovini e caprini deve essere usata una superficie di lavoro diversa da quella utilizzata per il prelievo di campioni da bovini.

Se ciò non è realizzabile, è vietato procedere contemporaneamente a prelievi da ovi-caprini e da bovini. La superficie di lavoro deve essere esente da tessuto cerebrale di altre specie animali.



- c) Pulitura degli strumenti: per prevenire la contaminazione dei campioni da tessuto cerebrale di altri ovi-caprini, le forbici e le pinze utilizzati per il prelievo devono essere puliti con acqua calda dopo ogni utilizzo, i cucchiari impiegati dovranno essere cambiati a ciascun prelievo. Alla fine dell'utilizzo gli strumenti dovranno essere disinfettati immergendoli in ipoclorito di sodio al 2% per almeno un'ora.



#### **Prelievo corretto**

L'obex è stato asportato interamente, in un pezzo solo, senza lesioni.

Una gran parte del cervelletto è disponibile, senza lesioni.



#### **Introdurre il campione nel contenitore**

Per la raccolta dei campioni, utilizzare assolutamente i contenitori messi a disposizione a questo scopo.

I contenitori devono essere identificati in modo inequivocabile con il numero della marca auricolare o del numero d'ordine attribuito dal macello all'animale.

Questo numero deve corrispondere ai dati relativi all'animale indicati sul verbale di campionamento.

#### **Prelievo sbagliato**

*Errori nel prelievo:*

- regione dell'obex incompleta, troppo corta.
- poca quantità di tessuto del cervelletto
- l'obex è stato tagliato.
- il tronco cerebrale e il cervelletto non sono riconoscibili.
- il cervelletto manca.

Se il prelievo è stato fatto in modo sbagliato, occorre comunque inviare i campioni.

**Allegato 13** (pag.1/1)

Località \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

Alla cortese attenzione  
del Responsabile del Servizio Veterinario

Oggetto: comunicazione esito non-negativo a test Scrapie su ovino/ caprino  
proveniente da territorio di Sua competenza

Con la presente si comunica che il capo marca auricolare \_\_\_\_\_  
codice aziendale |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_| testato il \_\_\_\_\_ mediante  
sorveglianza attiva presso i nostri impianti di macellazione è risultato non-negativo per  
Scrapie al test ELISA-Qualitativo effettuato presso IZS di riferimento con rapporto  
di prova n° \_\_\_\_\_ del \_\_\_\_\_.

A disposizione per qualunque chiarimento, distinti saluti.

Dr. \_\_\_\_\_



## BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

1. Marcato P.S., Di Guardo G., Encefalopatie spongiformi trasmissibili (TSE). Amiloidosi cerebrali trasmissibili. *Patologia sistematica veterinaria*: 1302.
2. Laselva A., Le encefalopatie spongiformi trasmissibili. TSE. Universimondo, Copyright 2000-2002, sito internet:  
<http://www.geocities.com/universimondo/TSE.htm>.
3. Aguzzi A., Prion diseases of humans and farm animals: epidemiology, genetics, and pathogenesis. *Journal of Neurochemistry* (2006), 97 : 1726.
4. Di Guardo G., Ferrari G., Autorino G., Aggiornamenti e considerazioni sulle Encefalopatie Spongiformi trasmissibili con particolare riferimento alla Scrapie. *Il progresso veterinario* (2000),7: 327.
5. Poli G., Encefalopatie spongiformi trasmissibili (TSE):la BSE richiede nuova attenzione da parte dei servizi veterinari. *Il progresso veterinario* (2000), 13 : 645.
6. Manuelidis L., A 25 nm virion is the likely cause of transmissible spongiform Encephalopathies. *Journal of Cellular Biochemistry* (2007), 100 : 897.
7. Santagada G., Laurenza C., Natale M., Corvonato M., Colussi S., S Peletto., Zuccon F., Riina M.V., Maniaci M.G., Caramelli M., Acutis P.L., Frequenze alleliche e genotipiche del gene PrP nelle popolazioni Ovine lucane di razza Comisana, Merinizzata e Sarda. *Il progresso veterinario* (2006), 7: 312.

8. Castagnaro M., Patogenesi delle TSE. *Il progresso veterinario* (2001), 3 : 118.
9. EFSA - Parere del gruppo di esperti scientifici sui pericoli biologici (BIOHAZ) sul rischio di esposizione umana e animale correlata alle Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili (TSE) dal latte e dai prodotti lattiero-caseari provenienti dai piccoli ruminanti. 6 novembre 2008, sito internet: <http://www.EFSA.com>.
10. EFSA - Parere del gruppo di esperti scientifici sui pericoli biologici (BIOHAZ) sulla valutazione del rischio da TSE derivante da carcasse di ovini e caprini al di sotto di 6 mesi d'età provenienti da gruppi infetti da TSE destinati al consumo umano. 15 luglio 2008, sito internet: <http://www.EFSA.com>.
11. Vascellari M., Mutinelli F., Bigolaro M., Melchiotti E., Nonno R., Di Bari M. A., Marcon S., d'Agostino C., Vaccari G., Conte M., Agrimi U., De Grossi L., Rosone F., Giordani F., Prioni nelle ghiandole salivari di ovini malati di scrapie. *Il progresso veterinario* (2007), 8 : 348.
12. Sala M. , Verifica della presenza di PrP<sup>Sc</sup> patologica nei distretti periferici degli animali abbattuti in sede di gestione dei focolai di scrapie NOR98 nelle regioni Lazio e Toscana. Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle regioni Lazio e Toscana. Osservatorio epidemiologico. Dossier nota Prot. DGVA.VIII/1640/P-1.8.d/58 del 15 gennaio 2007. N. prot.3646.  
Sito internet: [http://www.sardegna salute.it/documenti/9\\_97\\_20061219190053.pdf](http://www.sardegna salute.it/documenti/9_97_20061219190053.pdf).
13. Crescio M. I., Bozzetta E., Casalone C., Gazzuola P., Corona C., Mazza M., Caramelli M., Il test rapido per TSE: il prelievo del campione quale punto critico dell' sorveglianza. *Il progresso veterinario* (2004), 1 : 6.

- 14.** Agrimi U., Vaccari G., Maroni A., Encefalopatie spongiformi trasmissibili (EST) dei piccoli ruminanti: le nuove strategie di profilassi e controllo in Europa. *Il progresso veterinario* (2004), 1 : 9.
- 15.** Aufiero G. M., Pozzato N., Marangon S., Agrimi U., Vaccari G., Vincenzi G., Mutinelli F. Applicazione di un programma di selezione genetica per l'eradicazione della scrapie da un allevamento infetto. *Il progresso veterinario* (2003), 9 : 407.
- 16.** Perfetti Dr.ssa M. G., Focolai di scrapie nella Regione Toscana. Istituto zooprofilattico sperimentale Siena.
- 17.** Caramelli M., Ferrari A., Bona C., Barizzone F., Ingravalle F., Ru G., La sorveglianza delle encefalopatie spongiformi degli ovicaprini in Italia. Sito internet: [http://www.spvet.it/arretrati/numero\\_22/caramelli\\_sipaoc\\_2003.doc](http://www.spvet.it/arretrati/numero_22/caramelli_sipaoc_2003.doc).
- 18.** Linee guida per l'applicazione del Piano di Sorveglianza Scrapie nella Regione Toscana. Sito internet:  
[http://www.regione.toscana.it/regione/multimedia/RT/documents/1207210664761\\_linee-guida-SCRAPIE.pdf](http://www.regione.toscana.it/regione/multimedia/RT/documents/1207210664761_linee-guida-SCRAPIE.pdf).
- 19.** Sorveglianza scrapie. 2004, sito internet:  
<http://www.regione.piemonte.it/sanita/sanpub/vigilanza/dwd/relaz08/11.pdf>.
- 20.** Bona C., Caramelli M., Ru G., Scrapie: verso la sorveglianza attiva. *Il progresso veterinario* (2002), 2 : 61.

21. Acutis P.L., Riina M. V., Caramelli M., Sorveglianza attiva per la Scrapie: l'Analisi Genetica per gli ovini. *Il progresso veterinario* (2002), 5 : 248.
22. Bozzetta E., Martucci F., Nappi R., Caramelli M., Sorveglianza attiva per la scrapie: tecniche di laboratorio e prelievo del campione. *Il progresso veterinario* (2002), 6 : 309.
23. Cadeddu F., La sorveglianza della scrapie al macello. *Il progresso veterinario* (2002), 9 : 454.
24. Takemura K., Kahdre M., Joseph D., Yousef A., Sreevatsan S., An overview of transmissible spongiform Encephalopathies. *Animal Health Research Reviews* (2004), 5 : 103.
25. Tyler J.W., Middleton J.R., Transmissible spongiform Encephalopathies in ruminants. *The Veterinary clinics North America. Food Animal Practice* (2004), vol. 20, n°2 [25 page(s) (article)], [Note(s): vii, 303-326 [25 p.]].
26. *National Scrapie Surveillance Plan*, United States Department of Agriculture Animal and Plant Health Inspection Service Veterinary Services Centers for Epidemiology and Animal Health National Surveillance Unit Fort Collins, CO. (2008).

## 27. Indirizzi utili:

- Regione Toscana  
[www.regione.toscana.it](http://www.regione.toscana.it)  
[http://www.salute.toscana.it/prevenzione/veterinaria/sanita\\_animale.shtml](http://www.salute.toscana.it/prevenzione/veterinaria/sanita_animale.shtml)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale regioni Lazio e Toscana  
[www.izslt.it](http://www.izslt.it)
- Servizio sanitario della Toscana  
[www.sanita.toscana.it](http://www.sanita.toscana.it)
- Ministero della Salute  
[www.ministerosalute.it](http://www.ministerosalute.it)
- Istituto Superiore della Sanità  
[www.iss.it](http://www.iss.it)
- CEA  
Centro per lo studio e le ricerche sulle Encefalopatie animali e  
Neuropatologie comparate  
[http://www.izsto.it/centri\\_di%20\\_riferenza2\\_CEA.htm](http://www.izsto.it/centri_di%20_riferenza2_CEA.htm)

## **Ringraziamenti**

Ringrazio in modo particolare i miei genitori Giuseppe e Maria che con molti sacrifici hanno pagato i miei “lunghi” studi e le mie sorelle (Maria, Chiara e Francesca), che mi hanno sostenuto durante tutto questo periodo.

Ringrazio mia nonna che ogni volta che mi vedeva diceva sempre che pregava : “Santu Cosomo e Santu Damianu, sos Protettores de sor dottores e de sor farmacista” (San Cosimo e San Damiano, i protettori dei dottori e dei farmacisti).

Ringrazio Romano per aver condiviso con me quest’avventura e i suoi genitori per avermi accolto nella loro casa.

Ringrazio tutte le persone che ho conosciuto qui a Pisa e che mi sono state vicine in questi anni come se fossi figlia loro: Luciano, Grazia e Gabriella.

Ringrazio il mio relatore, il correlatore, ma soprattutto il Professor Francesco Tolari che mi ha aiutato molto nella stesura della mia tesi.

Ringrazio infine gli IZP di Firenze e Siena che mi hanno gentilmente fornito parte del materiale per svolgere la mia tesi.