



Peste suina africana: aggiornamenti. Focus su Lazio e Toscana
27 gennaio 2022 Webinar 9.00 – 13.00

Gestione in biosicurezza dei campioni prelevati per la diagnosi di PSA

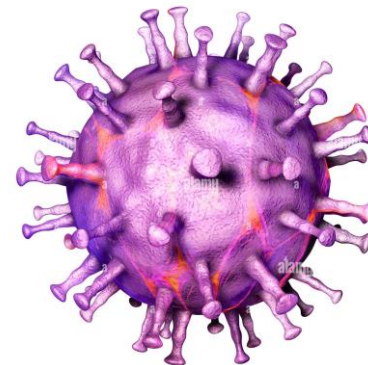


Dott. Ida Ricci -IZS Lazio e Toscana, UOC Virologia



DIAGNOSI

- ✓ Clinica
- ✓ Anatomopatologica
- ✓ Sierologica (ELISA, Immunoperossidasi, Immunoblotting)
- ✓ Virologica (PCR, isolamento)



alamy

Differential diagnosis

Classical Swine Fever (CSF);

Erysipelas;

Porcine Reproductive and
Respiratory Syndrome (PRRS);

Salmonellosis;

Pasteurellosis;

Streptococcal infection;

Leptospirosis;

Circovirus infection;

Coumarin poisoning.



PSA: da lesioni e segni clinici...

TABLE 3

Main clinical signs and postmortem findings observed in the different forms of ASF

	Peracute ASF	Acute ASF	Subacute ASF	Chronic ASF
Fever	High	High	Moderate	Irregular or absent
Thrombocytopenia	Absent	Absent or slight (late)	Transient	Absent
Skin	Erythema	Erythema	Erythema	Necrotic areas
Lymph nodes	-	Gastrohepatic and renal with marbled aspect	The majority of lymph nodes resemble a blood clot	Swollen
Spleen	-	Hyperaemic splenomegaly	Partial hyperaemic splenomegaly or focal infarction	Enlarged with normal colour
Kidney	-	Petechial haemorrhages, mainly in cortex	Petechial haemorrhages in cortex, medulla and pelvis; peri-renal oedema	-
Lung	-	Severe alveolar oedema	-	Pleuritis and pneumonia
Gall bladder	-	Petechial haemorrhages	Wall oedema	-
Heart	-	Haemorrhages in epicardium and endocardium	Haemorrhages in epicardium and endocardium; hydropericardium	Fibrinous pericarditis
Tonsils	-	-	-	Necrotic foci
Reproductive alteration	-	-	Abortion	Abortion

Source: Extracted from Sánchez-Vizcaino et al., 2015



...alla scelta delle matrici per la diagnosi

Campioni idonei per la diagnosi di peste suina

- | | |
|---|----------------------------------|
| • Sangue + EDTA (almeno 10 ml) | • Sangue per siero (almeno 5 ml) |
| • Tonsilla | • Ileo |
| • Linfonodi regione testa - collo | • Polmone |
| • Milza | • Linfonodo gastro-epatico |
| • Rene | • Linfonodi meseraici |
| • Midollo osseo (in caso di carcasse in avanzato stato di decomposizione) | |

MANUALE OPERATIVO

- Peste Suina Classica
- Peste Suina Africana

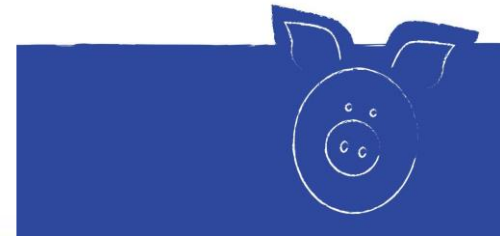


Table 1. Test methods available and their purpose

Method	Purpose					
	Population freedom from infection	Individual animal freedom from infection prior to movement	Contribute to eradication policies	Confirmation of clinical cases	Prevalence of infection – surveillance	Immune status in individual animals or populations post-vaccination
Agent identification						
Virus isolation/ HAD test ¹	n/a	n/a	++	+++	++	–
FAT	n/a	n/a	++	++	+	–
ELISA for antigen detection	+	++	+	+	+	–
Conventional PCR	++	++	++	++	++	–
Real-time PCR	+++	+++	+++	+++	+++	–
Detection of immune response						
ELISA	+++	+++	+++	+	+++	–
IPT*	+++	+++	+++	+	+++	–
IFAT*	+++	+++	+++	+	+++	–
IBT*	++	++	++	+	++	–

Key: +++ = recommended for this purpose; ++ recommended but has limitations; + = suitable in very limited circumstances; – = not appropriate for this purpose.

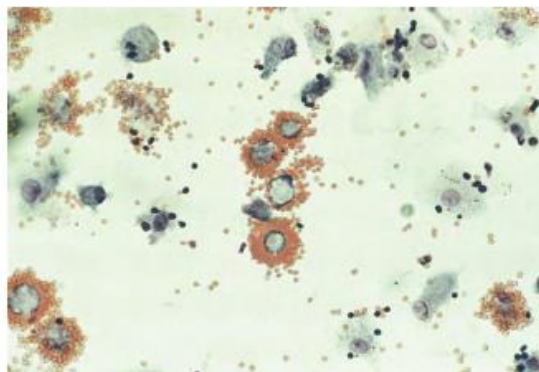
HAD = haemadsorption; FAT= fluorescent antibody test; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay;

PCR = polymerase chain reaction; IPT= indirect immunoperoxidase test;

IFAT = indirect fluorescent antibody test; IBT = immunoblotting test.

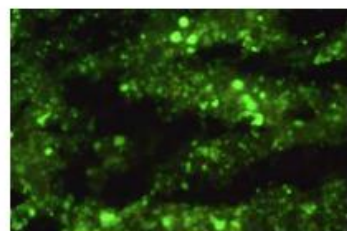
*Recommended method as confirmatory serological test.

PSA diagnosi diretta



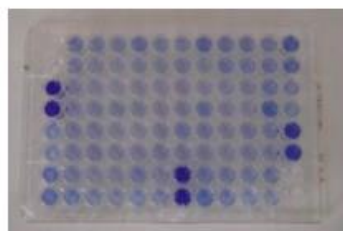
Malmquist, 1960

HAD

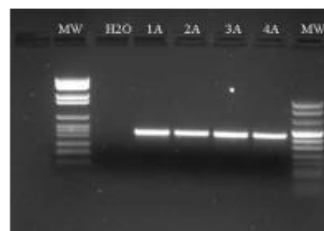


IFD

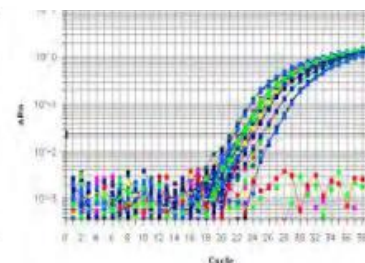
Immunofluorescenza diretta



ELISA-Ag



PCR & Real Time PCR



Fonte: Manuale OIE



PSA diagnosi indiretta

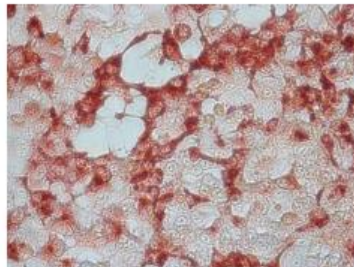
Screening



ELISA-Ab



IB



IPT

Conferma

B. DIAGNOSTIC TECHNIQUES

Table 1. Test methods available and their purpose

Method	Purpose					
	Population freedom from infection	Individual animal freedom from infection prior to movement	Contribute to eradication policies	Confirmation of clinical cases	Prevalence of infection – surveillance	Immune status in individual animals or populations post-vaccination
Agent identification						
Virus isolation/ HAD test ¹	n/a	n/a	++	+++	++	–
FAT	n/a	n/a	++	++	+	–
ELISA for antigen detection	+	++	+	+	+	–
Conventional PCR	++	++	++	++	++	–
Real-time PCR	+++	+++	+++	+++	+++	–
Detection of immune response						
ELISA	+++	+++	+++	+	+++	–
IPT*	+++	+++	+++	+	+++	–
IFAT*	+++	+++	+++	+	+++	–
IBT*	++	++	++	+	++	–

Key: +++ = recommended for this purpose; ++ recommended but has limitations;

+ = suitable in very limited circumstances; – = not appropriate for this purpose.

HAD = haemadsorption; FAT= fluorescent antibody test; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay;

PCR = polymerase chain reaction; IPT= indirect immunoperoxidase test;

IFAT = indirect fluorescent antibody test; IBT = immunoblotting test.

*Recommended method as confirmatory serological test.

Fonte: Manuale OIE

Immunoblotting Immunoperoxidasi

NO Anticorpi neutralizzanti!



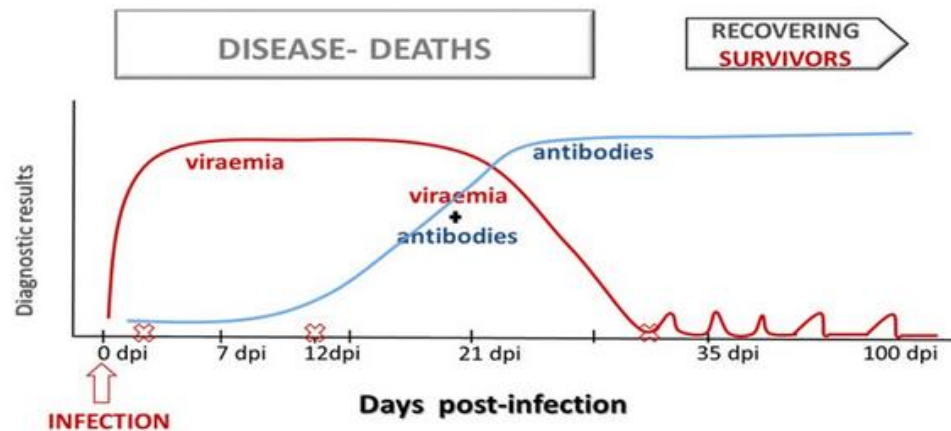
EUROPEAN UNION REFERENCE LABORATORY for AFRICAN SWINE FEVER (ASF)



[HOME](#)
[ANNUALMEETINGS](#)
[THE DISEASE](#)
[EURL FOR ASF](#)
[ASF DIAGNOSIS](#)
[DIAGNOSTIC SERVICES](#)
[SEQUENCE DATA BASE](#)
[LINK](#)

ASF DIAGNOSIS

Figure→ Dynamic of African swine fever virus infection with respect to the different clinical forms.



Clinical forms of African swine fever according to the virulence of the isolate involved



Figure→ Dynamic of African swine fever virus infection with respect to the different clinical forms.

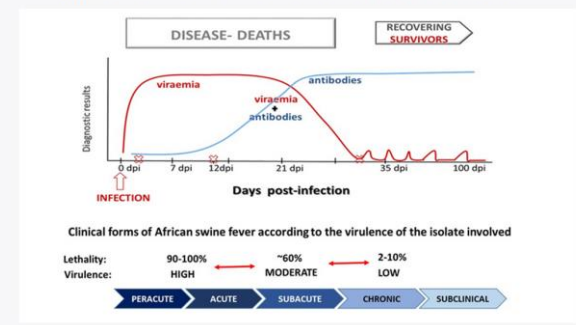


Table. Interpretation of the ASF diagnostic results.

Assay	Result	Most likely scenarios
PCR	Weak ($Ct > 35$)	The animal was recently infected and it has not yet seroconverted (< 7 days). Clinical signs may not be evident.
Ab-ELISA	Negative	
IPT	Negative	
PCR	Positive	The animal was recently infected, develop clinical signs and is initiating the seroconversion (7-10 days).
Ab-ELISA	Negative	
IPT	Positive	
PCR	Positive	a) Infection in course. The animal is still viraemic with clinical signs and has already seroconverted (>10 days). b) Reinfection of an animal with preformed antibodies from a previous infection (recovered, surviving pig). IPT titer will offer information on the time of infection.
Ab-ELISA	Positive	
IPT	Positive	
PCR	Weak ($Ct > 35$) or Negative	a) Past infection. The animal has recovered from acute or subacute infection and may not present clinical signs. b) The animal was infected with an attenuated strain (with or without clinical signs). c) Reinfection of an animal with preformed antibodies from a previous infection (recovered, surviving pig). IPT titer will offer information on the time of infection.
Ab-ELISA	Positive	
IPT	Positive	



PIANO DI SORVEGLIANZA NAZIONALE PSA-PSC 2021-2022

OBIETTIVI

- necessità di innalzare il livello di sorveglianza per permettere una pronta risposta (early detection);
- sorveglianza passiva nella popolazione di cinghiali;
- sorveglianza passiva negli allevamenti di suini domestici;
- controllo numerico della popolazione dei cinghiali;
- verifica di applicazione delle misure di biosicurezza,
- formazione ed informazione degli stakeholders



**VALUTAZIONE DELLA BIOSICUREZZA
SUINI
UFFICIALE**

CODICE AZIENDA _____
ID FISCALE _____
INDIRIZZO _____
CITTÀ _____
ASL DI COMPETENZA _____
CODICE AREA _____
Latitudine _____
Longitudine _____
INDIRIZZO PRODUTTIVO _____
(ciclo chiuso, ciclo aperto, svezzamento, ingrasso,
svezzamento + ingrasso)



FLUSSI INFORMATIVI LEGATI AL PIANO DI SORVEGLIANZA NAZIONALE PSA/PSC

Attori e ruoli:

Servizi veterinari ASL

sezione regionale gestione campionamenti

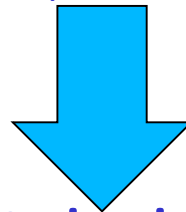
prelievo

Laboratori ufficiali IIZZSS

prelievo

inserimento dati

Inserimento esiti



Servizi veterinari regionali

Centro di riferimento PSA/PSC

Ministero salute



PIANO DI SORVEGLIANZA PER PSA – FORMULAZIONE DEL SOSPETTO

Decreto legislativo n 54/2004 art. 2

e) "suino sospetto di infezione da virus della peste suina africana": ogni suino o carcassa di suino che presenti sintomi clinici o lesioni post mortem o reazioni agli esami di laboratorio effettuati in conformita' del manuale di diagnostica, tali da far sospettare la possibile presenza della peste suina africana;

Piano di sorveglianza passiva per PSA – **SUINI DOMESTICI:**

Il piano è basato sul prelievo di campioni e sul test per la ricerca del genoma del virus della PSA. A partire dal 2021 il piano PSA negli allevamenti di suini è affiancato in parallelo dal piano di sorveglianza PSC: i campioni prelevati verranno quindi sottoposti anche a test per la ricerca del genoma del virus della PSC.

1. Caso **sospetto di PSA** in un'azienda suinicola:

- Chiunque rinvenga un caso sospetto di PSA è tenuto ad avvertire tempestivamente il servizio veterinario competente per territorio.
- Il sospetto su base clinica deve essere formulato ogni qualvolta si rinvenivano sintomi riferibili a PSA ed in particolare:
 - Aumentata mortalità, anche solo neonatale
 - Febbre alta ($>41^{\circ}\text{C}$)
 - Lesioni emorragiche cutanee
 - Disturbi gastro intestinali accompagnati da perdite ematiche
 - Aborti
- Il sospetto su base anatomopatologica deve essere formulato ogni qualvolta si rinvenivano lesioni riferibili a PSA ed in particolare:
 - Lesioni emorragiche cutanee
 - Lesioni emorragiche ad organi interni (milza, rene, linfonodi, tonsille)
- Il sospetto su base epidemiologica deve essere formulato ogni qualvolta che un'azienda suinicola possa essere epidemiologicamente collegata in via diretta o indiretta a un focolaio o ad un caso di PSA.

PSA, Piano di sorveglianza e prevenzione in Italia per il 2021 – linee guida operative 18.03.2021



PIANO DI SORVEGLIANZA PER PSA – FORMULAZIONE DEL SOSPETTO

Caso sospetto di PSA nei cinghiali: ogni cinghiale o carcassa di cinghiale che presenti sintomi clinici o lesioni *post mortem* o reazioni agli esami di laboratorio effettuati in conformità del manuale di diagnostica, tali da far sospettare la possibile presenza della PSA.

Il sospetto di peste suina può inoltre essere formulato in seguito al riscontro di un aumento della normale mortalità di cinghiali in un definito territorio.

Manuale PSA in selvatici 2021



ADEMPIMENTI-FLUSSI IN CASO DI SOSPETTO

- ogni caso sospetto di Pesti Suine deve essere immediatamente segnalato al Servizio Veterinario (SV);
- verifica fondatezza del sospetto;
- prelievo di campioni per la conferma, adozione misure di prevenzione e restrizione;
- notifica SIMAN informando Servizio Veterinario Regionale, Sindaco, Ministero della Salute, IZS competente e CEREP;
- adozione misure previste dal Dlgs. vo n.54 e n.55 del 2004



ADEMPIMENTI-FLUSSI CONFERMA SOSPETTO

- l'IZS competente per territorio trasmette al CEREP i campioni per la conferma diagnostica;
- in caso di CONFERMA il CEREP informa le autorità competenti e invia il rdp all'IZS competente che lo trasmette al SV;
- trasmissione rdp anche a Ministero per la notifica entro 24h dalla notifica di conferma in SIMAN, per il tramite del CVO alla CE e all'OIE;
- viene convocata l'UCL/UCR/UCC e il GRUPPO ESPERTI nel caso di focolaio nel selvatico



Sorveglianza passiva/sospetto: organi da prelevare per domestici e selvatici

Gli organi target da prelevare sono di seguito elencati in ordine di priorità di scelta:

- ☐ Milza
- ☐ Rene
- ☐ Linfonodi
- ☐ Sangue
- ☐ Tonsille
- ☐ Osso lungo
- ☐ Carcasse intera

È necessario prelevare da ogni carcassa almeno un organo da sottoporre a test diagnostici.

Peste Suina Africana - Piano di sorveglianza e prevenzione in Italia per il 2021

0007072-18/03/2021-DGSAP-MDS-P



Ministero della Salute

DIREZIONE GENERALE DELLA SANITA' ANIMALE E
DEI FARMACI VETERINARI

Ufficio 3
Sanità animale e gestione operativa del Centro nazionale di lotta ed
emergenza contro le malattie animali e unità centrale di crisi

Registro - Classif. P-I.1.a.e/2021/15
Allegati: 1

- Regioni e Province Autonome
Assessorati Sanità Servizi Veterinari

- CEREP c/o IZS Umbria e Marche

c. p.c.
II.ZZ.SS.

Oggetto: PSA, Piano di sorveglianza e prevenzione in Italia per il 2021 – linee guida operative.

SORV. PASSIVA: esami
effettuati presso II.ZZ.SS
territoriali

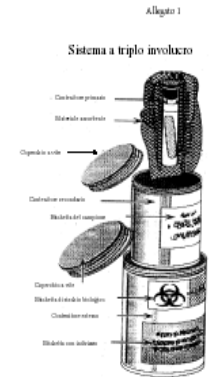
**SOSPETTO: I CAMPIONI
DEVONO ESSERE INVIATI
DIRETTAMENTE AL CEREP**



Confezionamento e trasporto dei campioni

I campioni prelevati devono essere:

- trasportati e conservati in recipienti ermetici (buste o barattoli)
- mantenuti a temperatura di refrigerazione (es. impiego di "siberini")
- consegnati al laboratorio al più presto possibile
- contenuti in buste di plastica multiple sigillate all'interno di recipienti solidi con materiale assorbente che, a seguito di danni eventuali, impedisca la dispersione dei liquidi.



- **PRELIEVO DI CARCASSA INTERA:** avvolgerla in teli di plastica o trasportarla in un contenitore per evitare la contaminazione di ambiente, strumenti o mezzi impiegati per prelievo e trasporto.



- Da ogni animale sottoposto a campionamento deve essere prelevato almeno un campione per i test di laboratorio. Se più soggetti vengono campionati contemporaneamente i campioni devono essere tenuti separati.



Qualche volta il campionamento non è semplice...

Se la carcassa di cinghiale è parzialmente decomposta o già attaccata da carnivori o altri animali necrofili si devono campionare le parti più conservate degli organi interni e comunque prediligere il prelievo di midollo osseo da ossa lunghe



Da utilizzare per i test virologici

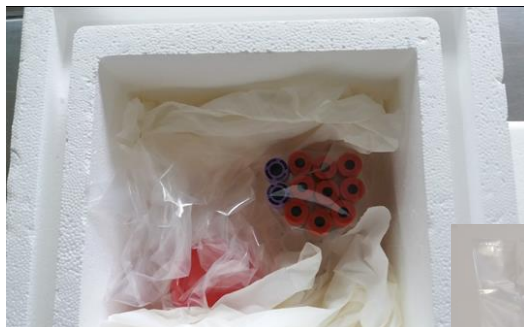
Dopo la raccolta dei campioni, ma prima del trasferimento



Identificazione dei campioni

Gli organi prelevati da ogni singolo animale, dopo essere stati confezionati, devono essere adeguatamente identificati attraverso un'etichetta, e associati alla scheda di prelievo/accompagnamento campioni generata dal sistema informativo (SINVSA).

UNA SCHEDA
PER OGNI
ANIMALE!!!



Ministero della Salute – DGSAFV
Centro di Referenza Nazionale per le Pesti Suine
Centro Servizi nazionale per le Anagrafi Animali

SCHEDA ACCOMPAGNAMENTO CAMPIONI PER LA SORVEGLIANZA DELLA PESTE SUINA AFRICANA NEI SUINI DOMESTICI

Da inviare alla sede dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale competente per territorio

201900003C

NUMERO ACCETTAZIONE IZS: _____

CODICE AZIENDA: _____ ID FISCALE ALLEVAMENTO: _____

DENOMINAZIONE ALLEVAMENTO: _____

TIPO STRUTTURA: _____ ORIENTAMENTO PRODUTTIVO: _____

COMUNE: _____

LOCALITÀ: _____

COORDINATE GEOGRAFICHE
espresso in formato WGS84 in gradi e decimali (lat. e long. di grado)

LAT. ____ ° ____ ' ____ " LONG. ____ ° ____ ' ____ "

DATA MORTE: ____ / ____ / ____

DATA PRELIEVO: ____ / ____ / ____

Motivo dell'invio: Piano di sorveglianza passiva ☐ Caso sospetto di PSA ☐

Età	Sesso	Milza	Rene	Sangue	Linfonodi	Tonsilla	Oso lungo	Carcassa
Lattonzolo	M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Magroncello	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Magrone	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Grasso	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Scrofette	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Scrofe	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Scheda utilizzabile per il prelievo su un singolo animale della specie suina

Note: _____

ENTE, NOME E QUALIFICA DI CHI EFFETTUA L'INVIO DEI CAMPIONI

Firma _____

Ministero della Salute – DGSAFV
Centro di Referenza Nazionale per le Pesti Suine
Centro Servizi nazionale per le Anagrafi Animali

SCHEDA ACCOMPAGNAMENTO CAMPIONI PER LA SORVEGLIANZA DELLA PESTE SUINA AFRICANA NEI SUINI SELVATICI

Da inviare alla sede dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale competente per territorio

201900003C

NUMERO ACCETTAZIONE IZS: _____

COMUNE: _____ PROV: _____

LOCALITÀ: _____

COORDINATE GEOGRAFICHE
espresso in formato WGS84 in gradi e decimali (lat. e long. di grado)

LAT. ____ ° ____ ' ____ " LONG. ____ ° ____ ' ____ "

DATA PRELIEVO: ____ / ____ / ____

Motivo dell'invio: Piano di sorveglianza passiva ☐ Caso sospetto di PSA ☐

Scheda utilizzabile per il prelievo su un singolo animale

Età (mesi) ¹	Sesso	Milza	Rene	Sangue	Linfonodi	Tonsilla	Oso lungo	Carcassa
0-6 <input type="checkbox"/> 6-18 <input type="checkbox"/>	M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

¹ Per la determinazione dell'età rilevare sulla mandibola il numero di molari; tali denti, che in senso antero-posteriore occupano le posizioni dal 1° al 4° posto, si distinguono per avere due file di cuspidi (punte).

0 molari: 0-6 mesi (solo premolari)

1 molare: 6-18 mesi

2 molari: 18-30 mesi

3 molari: oltre 30 mesi

Scheda utilizzabile per il prelievo su un singolo animale selvatico (cinghiale) della specie suina

Note: _____

ENTE, NOME E QUALIFICA DI CHI EFFETTUA L'INVIO DEI CAMPIONI

Firma _____

Biosicurezza: concetti base

Obiettivi:

1. Neutralizzare o rimuovere il materiale infettante o contaminato
2. Delimitare il rischio ad aree specifiche
3. Ridurre il tempo di esposizione
4. Prevenire la diffusione del virus

Cosa ci preoccupa?

1. Carcasse
2. Liquidi organici
3. Interiora
4. Rifiuti
5. Terreni e superfici contaminate
6. Attrezzature e equipaggiamenti contaminati



Biosicurezza: concetti base

Pulizia

Prima di cominciare le attività di disinfezione:

L'ambiente, le superfici e le attrezzature devono essere ripulite

Se necessario/possibile usare acqua e detergenti per rimuovere i residui organici



Un principio fondamentale:

Rimuovere tutto il materiale potenzialmente contaminato che è possibile asportare e smaltirlo adeguatamente



Tutto quello che si dovrebbe/potrebbe evitare....



FONDAMENTALE: la disinfezione degli autoveicoli



Evitare veicoli multifunzione....



- Usare veicoli adeguatamente attrezzati per il trasporto delle carcasse
- Le auto (specialmente quelle private) vanno parcheggiate fuori dalle zone sospette di essere contaminate.



MINISTERO DELLA SALUTE

Direzione della Sanità Animale e dei Farmaci Veterinari

Centro Nazionale di lotta ed emergenza contro le malattie animali



PSA: disinfettanti efficaci

PIANO NAZIONALE PER LE EMERGENZE DI TIPO EPIDEMICO

MANUALE OPERATIVO PESTI SUINE

ELENCO DEI DISINFETTANTI EFFICACI NEI CONFRONTI DEL VIRUS DELLA PESTE SUINA AFRICANA

- **Complesso potassio perossimonosolfato+acido malico+acido sulfamico +dodecilbensensulfonato+sodio esametafosfato (Virkon S)** **1%**
Irrorazione strutture interne e nebulizzazione ambienti
- **Idrossido di Sodio** (Soda Caustica) **2%**
Aspersione animali abbattuti,
stalle e trattamento delle deiezioni (15 lt/m³, pH 10,4 -12)
- **Carbonato di sodio** (pH 11,6 – 95 °C) **40%**
Irrorazione strutture interne ed esterne, oggetti ed utensili
- **Ortofenilfenolo (Environ D)** **1%**
Irrorazione strutture interne e nebulizzazione ambienti
- **Lysol** **5%**
Camion, divise da lavoro, oggetti vari



**Biosicurezza è necessaria
anche in laboratorio:**



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

QUALITA' E SICUREZZA

MANUALE PER LA BIOSICUREZZA rev 5

pag. 1 di 19

MANUALE PER LA BIOSICUREZZA

QUALITA' E SICUREZZA

MANUALE PER LA BIOSICUREZZA rev 5

pag. 18 di 19

Il documento ISS fa riferimento a laboratori BSL3, non presenti in IZS. I campioni diagnostici sono lavorati (es. saguo, milza) secondo POS specifica e la PG DIG 006 di Struttura circa le precauzioni di biosicurezza e sanificazione/disinfezione.

10.4 Virus della Peste Suina Classica e della Peste Suina Africana

Nel caso in cui in Istituto si dovessero gestire casi di Virus della Peste Suina Classica e della Peste Suina Africana si deve far riferimento al documento IORTBL02.000 Integrazione del documento ISS PGRTBL01. "Prescrizioni per la valutazione del sistema di gestione della biosicurezza" riportante requisiti specifici da applicare per i laboratori che detengono o manipolano virus della Peste Suina Classica e/o della Peste Suina Africana.

Grazie

