



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Piano Nazionale di Controllo delle salmonellosi negli avicoli 2022/2024 gestione dei campioni, delle analisi e degli esiti presso l'IZSLT

Piano nazionale di controllo delle salmonellosi negli avicoli (PNCS) 2022-2024: focus sull'esecuzione della prova (ISO 6579, POS DIG 001 NOR), refertazione e comunicazione degli esiti

**IZSLT– Sede di Roma, Via Appia Nuova 1411
08 novembre 2022**

Gianpaolo Bruni

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DEL LAZIO E DELLA TOSCANA “M. ALEANDRI”

Laboratorio Diagnostica - Unità Operativa Territoriale Lazio Sud



METODI DI ANALISI IN AMBITO PNCS



Piano nazionale di controllo delle salmonellosi negli avicoli 2022/2024



PNC Salmonellosi 2019/2021

7.4 Metodi di analisi in ambito PNCS

Metodi di analisi per l'isolamento e la sierotipizzazione

In accordo a Reg. (UE) 2019/268, per l'analisi di isolamento e sierotipizzazione possono essere utilizzati, sia nell'ambito dell'autocontrollo aziendale che nell'ambito dei controlli ufficiali, oltre che i metodi ufficiali di riferimento anche metodi alternativi, purché validati in conformità all' EN ISO 16140-2 (per isolamento) e a EN ISO 16140-6 (per sierotipizzazione) e accreditati dall'ente nazionale di accreditamento.

Metodi di analisi per l'isolamento

I metodi di riferimento sono i seguenti:

- Metodica di analisi per la rilevazione di *Salmonella* spp. di cui alla EN/ISO 6579-1:2017/Amd.1:2020 accreditata dall'organismo nazionale di accreditamento
- Metodo alternativo purché validato in accordo alla norma EN/ISO 16140-2 e accreditato dall'organismo nazionale di accreditamento

I metodi di cui sopra si intendono da applicare ai campioni della produzione primaria, ovvero a tutte le matrici previste nell'ambito del presente piano, siano esse prelevate in autocontrollo o in regime di controllo ufficiale. I metodi alternativi utilizzabili nell'ambito del PNCS per la rilevazione di *Salmonella* devono permettere di ottenere, in caso di esito positivo, l'isolamento del ceppo batterico, da sottoporre successivamente a sierotipizzazione.





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



ISO 6579-1: 2017

Questo documento descrive un metodo orizzontale per l'isolamento e l'identificazione di *Salmonella*.

È applicabile a:

- 1) prodotti destinati al consumo umano ed alimenti per gli animali;
- 2) campioni ambientali prelevati nelle aree della produzione e processazione degli alimenti;
- 3) **campioni dalla fase di produzione primaria come feci di animali, polvere e tamponi.**





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



ISO 6579-1: 2017

- Cancella e sostituisce ISO 6579:2002 e 6785:2001
- Introduce i campioni provenienti dalla fase di produzione primaria nello scopo (2007: inserimento Annex D per i campioni di produzione primaria)
- Descrizione della procedura di rilevazione di *S. Typhi* e *S. Paratyphi* (Annex D)
- Modifica range di temperatura di incubazione dei terreni non selettivi da $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ a temperatura tra 34°C e 38°C (ISO 6579-1:2017/AMD. 1:2020: terreni selettivi a temperatura tra 34°C e 38°C)
- Per la conferma, è sufficiente selezionare anche una sola colonia sospetta, e se negativa prelevare altre quattro colonie sospette dalla combinazione di più terreni di isolamento
- selettivo
- E' possibile effettuare la conferma biochimica direttamente sulla colonia sospetta sul terreno selettivo se da coltura pura e ben isolata
- I tests β -galattosidasi, reazione dell'indolo e Voges-Proskauer (VP) diventano opzionali (POS DIG 001 NOR)





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

ISO 6579-1: 2017

**POS DIG 001 NOR *Salmonella*
spp. esame colturale ricerca**



LAB. ANALISI CHIMICHE E MICROBIOLOGICHE I.C.Q. SRL
UNIsiore - 2017 - 371466

INTERNATIONAL
STANDARD

ISO
6579-1

First edition
2017-02

Microbiology of the food chain —
Horizontal method for the detection,
enumeration and serotyping of
Salmonella —

Part 1:
Detection of *Salmonella* spp.

*Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale
pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des
Salmonella —*

Partie 1: Recherche des Salmonella spp.



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

UNITA' OPERATIVA COMPLESSA DIAGNOSTICA GENERALE

POS DIG 001 NOR rev. 3

SALMONELLA SPP. (ESAME CULTURALE-RICERCA-METODO ISO)

pag. 1 di 16

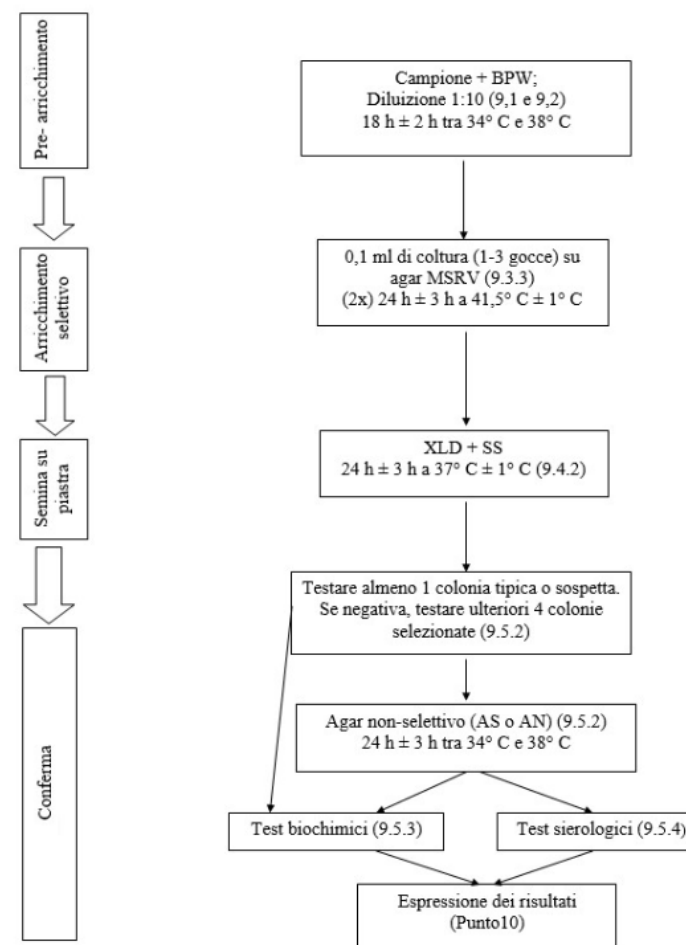
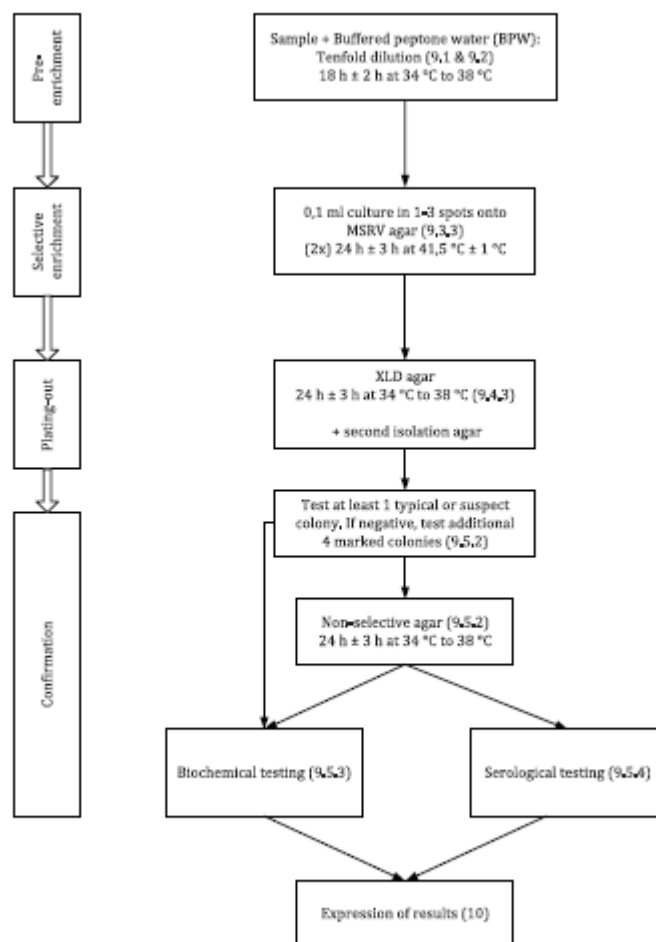
SALMONELLA SPP. (ESAME CULTURALE-RICERCA-METODO ISO)

Rev.	Data di emissione:	Redazione Incaricato Struttura	Verifica Responsabile della prova/Responsabile tenitura/attività	Convalida Qualità	Approvazione Responsabile di Struttura
3	28/08/2020	Andrea Caprioli	Antonio Battisti	Stefania Bugattella	Antonio Battisti
2	09/05/2018	Andrea Caprioli Carmela Buccella Serena Lorenzetti	Antonio Battisti	Stefania Bugattella	Antonio Battisti

ISO 6579-1: 2017

ISO 6579-1 vs POS DIG 001 NOR

POS DIG 001 NOR





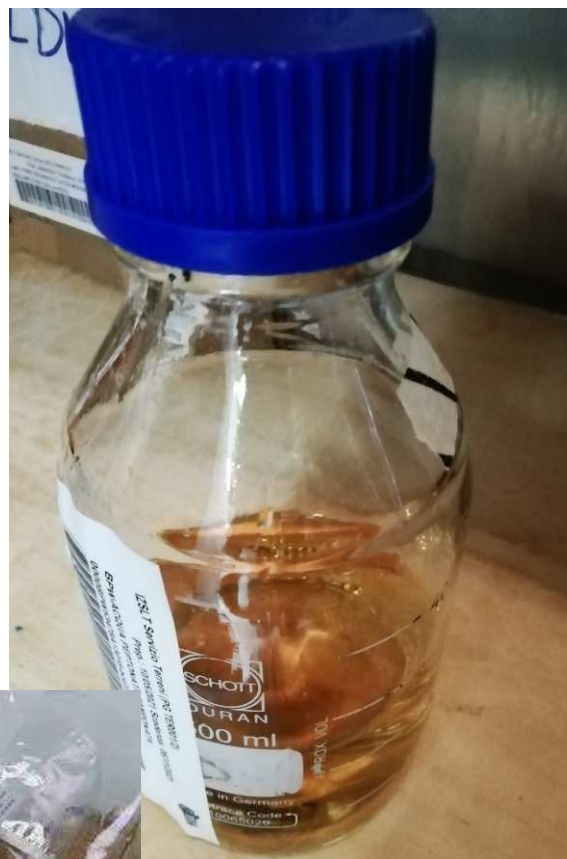
Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Procedura analitica



Inizio analisi entro 4 giorni dal prelievo

1. Pre-arricchimento: Campione in BPW

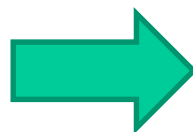


**18 h a temp. tra 34 °C
e 38°C**



1. Semina in piastra: MSRV in XLD, SS agar

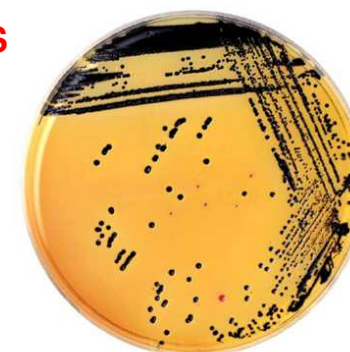
Dopo 24 h a 41.5 °C



XLD

SS

POS



NEG



24 h a temp. tra 34 °C e 38°C



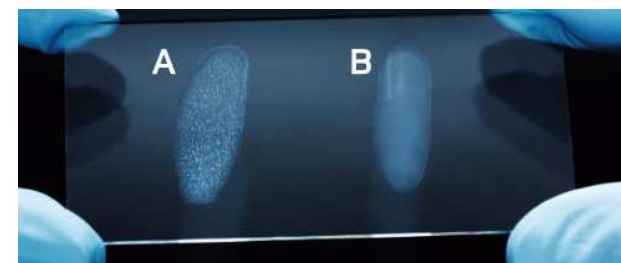
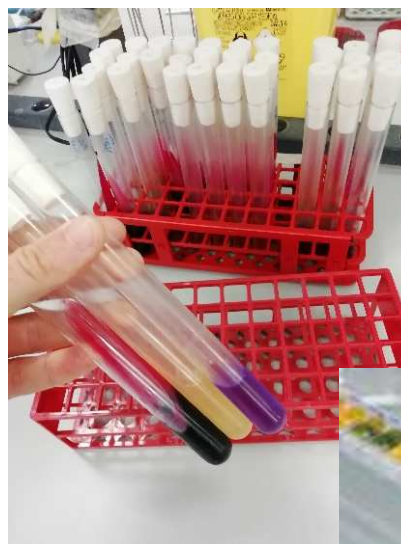
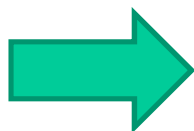


Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Procedura analitica



1. Conferma: Test biochimici/sierologici



***Salmonella* spp.**





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



MOD 014 rev 1 del 30/11/2018

 Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana <i>M. Aleandri</i>	
UNITÀ OPERATIVA COMPLESSA DIAGNOSTICA GENERALE	
IL DIG 018 Rev 1	
Istruzione di lavoro per la gestione della prova <i>Salmonella</i> spp. esame cultura-ricerca-Metodo ISO per campioni del Piano nazionale di controllo delle salmonellosi negli avicoli (ISO 6579-POS DIG 001 NOR) pag. 1 di 8	

ISTRUZIONE DI LAVORO PER LA GESTIONE DELLA PROVA *SALMONELLA* SPP.
ESAME CULTURA-RICERCA-METODO ISO PER CAMPIONI DEL PIANO NAZIONALE
DI CONTROLLO DELLE SALMONELLOSIS NEGLI AVICOLI (ISO 6579-POS DIG 001
NOR)

Rev.	Data di emissione:	Redazione Incaricato Struttura 1	Verifica Dirigente o Collaboratore sanitario professionale esperto	Approvazione Responsabile di Struttura
1	29/03/2022	Gruppo H&S Sanità Animale – Diagnostica: Andrea Caprioli Gianluca Fichi Giorgio Saralli/Gianpaolo Bruni Marcello Sala Giuliana Terracciano Martina Benedetti/Franco Corrias Antonino Barone	Andrea Caprioli	Antonio Battisti
0	03/09/2020	Gruppo H&S Sanità Animale – Diagnostica: Andrea Caprioli Maira Guidoni Giorgio Saralli Marcello Sala Giuliana Terracciano Martina Benedetti Antonino Barone	Andrea Caprioli	Antonio Battisti

Descrizione delle modifiche/motivo della redazione	Revisione in funzione dell'uscita del Piano nazionale di controllo delle salmonellosi negli avicoli 2022/2024
--	--





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

IL DIG 018 rev. 1



Laboratorio → Fase → Esecuzione della prova

- La prova deve essere accreditata. Rispettare quanto previsto nella POS DIG 001 NOR, preferibilmente utilizzare il foglio di lavoro PG DIG 001/11 rev. corrente.
- Per l'identificazione biochimica di *Salmonella* spp. l'utilizzo dell'API 20 E è consigliabile quando i risultati degli altri test biochimici/sierologici di conferma (TSI, Urea agar, LDM, agglutinazione antigeni O e Vi) non diano una chiara identificazione.
- Inviare al C.R.E.P. **un solo isolato** identificato biochimicamente e sierologicamente come *Salmonella* spp. Se l'aspetto delle colonie sui terreni (TSI, XLD, SS) fosse leggermente diverso, o l'isolato inviato non risultasse appartenere al genere *Salmonella*, inviare fino a 5 isolati sospetti differenti.





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

IL DIG 018 rev. 1



Laboratorio → Fase → Refertazione e comunicazione esito

La POS DIG 001 NOR prevede la dicitura dell'esito come **RILEVATO/NON RILEVATO**.

Attenzione alle matrici pesabili (es. feci, polvere, gusci d'uovo) deve essere aggiunta la dicitura in 25 gr. Le sovrascarpe non sono considerate pesabili.

In caso di riproduttori, il C.R.E.P. dovrebbe escludere nel più breve tempo possibile non solo la presenza di **Salmonella Enteritidis** e **Salmonella Typhimurium** (inclusa la variante monofasica), ma anche di **S. infantis**, **S. Hadar** e **S. Virchow**. (sierovarianti rilevanti).

L'esito di rilevata presenza (rilevato=positività per *Salmonella* spp.), sia per campioni ufficiali che autocontrolli, va sempre notificato, seguendo quanto riportato nella IL DIR 002.

Il C.R.E.P. invia nel più breve tempo possibile il rapporto di prova con la sierotipizzazione, seguendo quanto riportato nella IL DIR 002.



7.7 Risposte analitiche

7.7 Risposte Analitiche

Poiché agli esiti analitici è legata l'applicazione di misure sanitarie, le analisi sui campioni di cui al Piano hanno carattere di priorità. Pertanto, i laboratori garantiscono risposte analitiche nel tempo più breve possibile, compatibilmente con i tempi necessari all'esecuzione delle analisi, che dipendono necessariamente dalle metodiche utilizzate (vedi anche paragrafo "Metodi di analisi").

La risposta analitica (rapporto di prova/esito) deve riportare indicazione dell'assenza o presenza di *Salmonella* spp.

In caso di presenza di *Salmonella* spp. il rapporto di prova deve riportare: indicazione del/i sierotipo/i isolato/i o indicazione di esclusione di sierotipi rilevanti (come previsto in caso di campioni prelevati nell'ambito dell'autocontrollo per le categorie galline ovaiole, polli da carne e tacchini da ingrasso), ed esito dell'identificazione di ceppi vaccinali, se del caso.

Nei casi in cui è necessario effettuare una sierotipizzazione completa (campioni ufficiali e campioni prelevati nell'ambito dell'autocontrollo per le categorie riproduttori *Gallus gallus* e tacchini) se il laboratorio è in grado di escludere rapidamente la presenza di sierotipi rilevanti, ovvero *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, inclusa la sua variante monofasica e *S. Infantis* nel caso specifico dei riproduttori *Gallus gallus*, può scegliere di emettere un rapporto di prova parziale in cui risulti solo tale esclusione, per poi pubblicare, a sierotipizzazione completata, una integrazione del rapporto stesso (esito completo). Nel caso i tempi per l'emissione di un esito completo, ovvero comprensivo delle informazioni relative al sierotipo e alla presenza di ceppi vaccinali (se del caso) non potessero essere rapidi (ad esempio quando il laboratorio che esegue l'isolamento è diverso da quello che esegue la sierotipizzazione, o quando il test per identificare il ceppo vaccinale non fosse disponibile presso il laboratorio che ha eseguito l'isolamento e/o la sierotipizzazione), il laboratorio che ha eseguito l'isolamento deve emettere rapidamente un rapporto di prova in cui viene evidenziata la presenza di *Salmonella* spp., così da consentire la rapida applicazione delle misure sanitarie. Il test per l'identificazione di ceppo vaccinale, in caso di utilizzo di vaccini vivi-attenuati, deve essere effettuato dal laboratorio (utilizzando i test messi a disposizione dalle aziende produttrici dei singoli vaccini vivi attenuati), quando nella scheda accompagnatoria vi sia evidenza che al gruppo sottoposto a campionamento è stato somministrato il vaccino vivo attenuato o quando il responsabile del campionamento (verbalizzante o suo responsabile) ne faccia esplicita richiesta.

I risultati devono essere comunicati il più rapidamente possibile al richiedente l'analisi.

Il rapporto di prova, sia in caso di presenza che assenza di *Salmonella* spp., deve inoltre dare evidenza che il campione conferito al laboratorio non risultava conforme rispetto a quanto previsto dal piano, quando ciò viene rilevato dal laboratorio.

I risultati delle analisi ottenuti dai laboratori privati autorizzati e dai laboratori degli IZZSS hanno validità ed efficacia in tutto il territorio nazionale.





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

IL DIG 018 rev. 1



Laboratorio → Fase → Refertazione e comunicazione esito

In caso di riportato utilizzo di un vaccino vivo attenuato e riscontro di *Salmonella enteritidis* (vaccino Salmovac 440 o vaccino Avipro *Salmonella* Vac E) o *S. Typhimurium* (vaccino Avipro *Salmonella* Vac T), contattare il prelevatore per informarlo della possibilità di eseguire un test DIVA. Qualora ci possa essere il sospetto di escrezione/contaminazione con il ceppo vaccinale (evento normalmente difficilmente riscontrabile) il prelevatore può richiedere di effettuare il test DIVA. Nel caso, il test DIVA viene eseguito presso la U.O.C. D.O.DIG o presso il Centro di Referenza Nazionale Salmonellosi





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



All'interno del Cloud IZSLT al seguente percorso:

IZS Cloud/H&S SANITÀ ANIMALE



Qualità e Sicurezza



Armonizzazione delle prove



**Comunicazione esiti controlli
Ufficiali**



**Elenco di malattie/agenti patogeni
rilevanti e/o più frequentemente
identificati presso l'IZSLT**

Elenco malattie e agenti patogeni rilevanti e/o più frequentemente identificati presso IZSLT		
Per un elenco esaustivo delle malattie notificabili/denunciabili fare riferimento alla normativa vigente nazionale ed internazionale.		
Tipo patogeno/malattia	Specie	Tecnica/tipo di esito
Aethina tumida	Api	Diagnostica diretta
Agalassia contagiosa	Ruminanti	Diagnostica diretta
Arterite virale equina	Equidi	Diagnostica diretta/indiretta
Blue Tongue e malettie emorragica epizootica	Ruminanti	Diagnostica diretta/indiretta
Bronchite infettiva	Uccelli	Diagnostica diretta
Bruccellosi	Tutte	Diagnostica diretta/indiretta
Campylobacteriosi ("Vibriosi") genitale bovina	Bovini	Diagnostica diretta
Carbonchio ematico	Tutte	Diagnostica diretta
Chlamydiosi	Tutte	Diagnostica diretta
Criptococcosi/Histoplasmosi	Tutte	Diagnostica diretta
Difterovirus aviario	Uccelli	Diagnostica diretta
Echinococcosi	Tutte	Diagnostica diretta
Encefalite virus West Nile	Tutte	Diagnostica diretta/indiretta
Febbre Catarrale Maligna	Ruminanti	Diagnostica diretta
Febbre Q	Tutte	Diagnostica diretta
Herpesvirus della carpa Koi	Pesci	Diagnostica diretta
Infezioni da orthopox virus	Tutte	Diagnostica diretta
Infezioni da orthomyxovirus	Tutte	Diagnostica diretta/indiretta
Laringotracheite infettiva	Uccelli	Diagnostica diretta
Leishmaniosi	Canì e gatti	Diagnostica diretta
Leptospirosi	Tutte	Diagnostica diretta/indiretta
Leucosi	Bovini	Diagnostica indiretta
Listeriosi	Tutte	Diagnostica diretta
Mai rossino del suino	Suidi	Diagnostica diretta
Malettie di Newcastle/pseudopeste aviaria	Uccelli	Diagnostica diretta
Malettie emorragica del coniglio/EBHS	Legomorf	Diagnostica diretta
Malettie Vesicolare	Suidi	Diagnostica diretta/indiretta
Metrite contagiosa	Equidi	Diagnostica diretta
Mixomatosi	Legomorf	Diagnostica diretta
Morbo cotale maligno da Tripanosoma equiperdum (Durina)	Equidi	Diagnostica diretta/indiretta
Morva	Equidi	Diagnostica diretta
Necrosi ematopoietica infettiva (NEI)	Pesci	Diagnostica diretta
Nozemiosi	Api	Diagnostica diretta
Peste europea, Peste americana	Api	Diagnostica diretta
Peste suina classica e africana	Suidi	Diagnostica diretta/indiretta
Rabbia e lyssavirus	Tutte	Diagnostica diretta
Rinopolmonite equina EHV1/EHV4	Equidi	Diagnostica diretta
Rinotracheite infettiva del bovino (IBR)	Bovini	Diagnostica diretta
Salmonellosi	Tutte	Diagnostica diretta
Schmallenberg virus	Ruminanti	Diagnostica diretta/indiretta
Setticemia emorragica virale (SEV)	Pesci	Diagnostica diretta
Trichinellosi	Tutte	Diagnostica diretta
Tricomoniassi	Bovini	Diagnostica diretta
TSE	Tutte	Diagnostica diretta
Tubercolosi bovina e bufalina, tubercolosi in altre specie	Tutte	Diagnostica diretta
Tularemia	Tutte	Diagnostica diretta
Viremia primaverile della carpa	Pesci	Diagnostica diretta
Virus dell'anemia infettiva equina	Equidi	Diagnostica diretta/indiretta





Comunicazione esito positivo campione prelevato da autorità competente

- 1) **PEC della ASL di competenza del richiedente/prelevatore:**
 - **Lazio:** Dipartimento di Prevenzione
 - **Toscana:** Direzione aziendale
- 2) **PEC della regione di competenza**
 - **Lazio:** prevenzionepromozionesalute@regione.lazio.legalmail.it
 - **Toscana:** regionetoscana@postacert.toscana.it
- 3) **Email del Ministero della Salute:** rdp.emergenze@sanita.it
- 4) **PEC/email della sede di prima accettazione in caso di origine dei campioni da sede diversa da quella di effettuazione delle analisi**





Comunicazione esito positivo campione prelevato da veterinario libero professionista

1) PEC della ASL di competenza del detentore:

➤ **Lazio:** Dipartimento di Prevenzione

➤ **Toscana:** Direzione aziendale

2) PEC della regione di competenza

➤ **Lazio:** prevenzionepromozionesalute@regione.lazio.legalmail.it

➤ **Toscana:** regionetoscana@postacert.toscana.it

3) Email del Ministero della Salute: rdp.emergenze@sanita.it

4) PEC/email della sede di prima accettazione in caso di origine dei campioni da sede diversa da quella di effettuazione delle analisi

5) Veterinario prelevatore/richiedente

6) Detentore



The End

