



IZSAM G.CAPORALE
TERAMO



Brucellosi

Centro di Referenza Nazionale

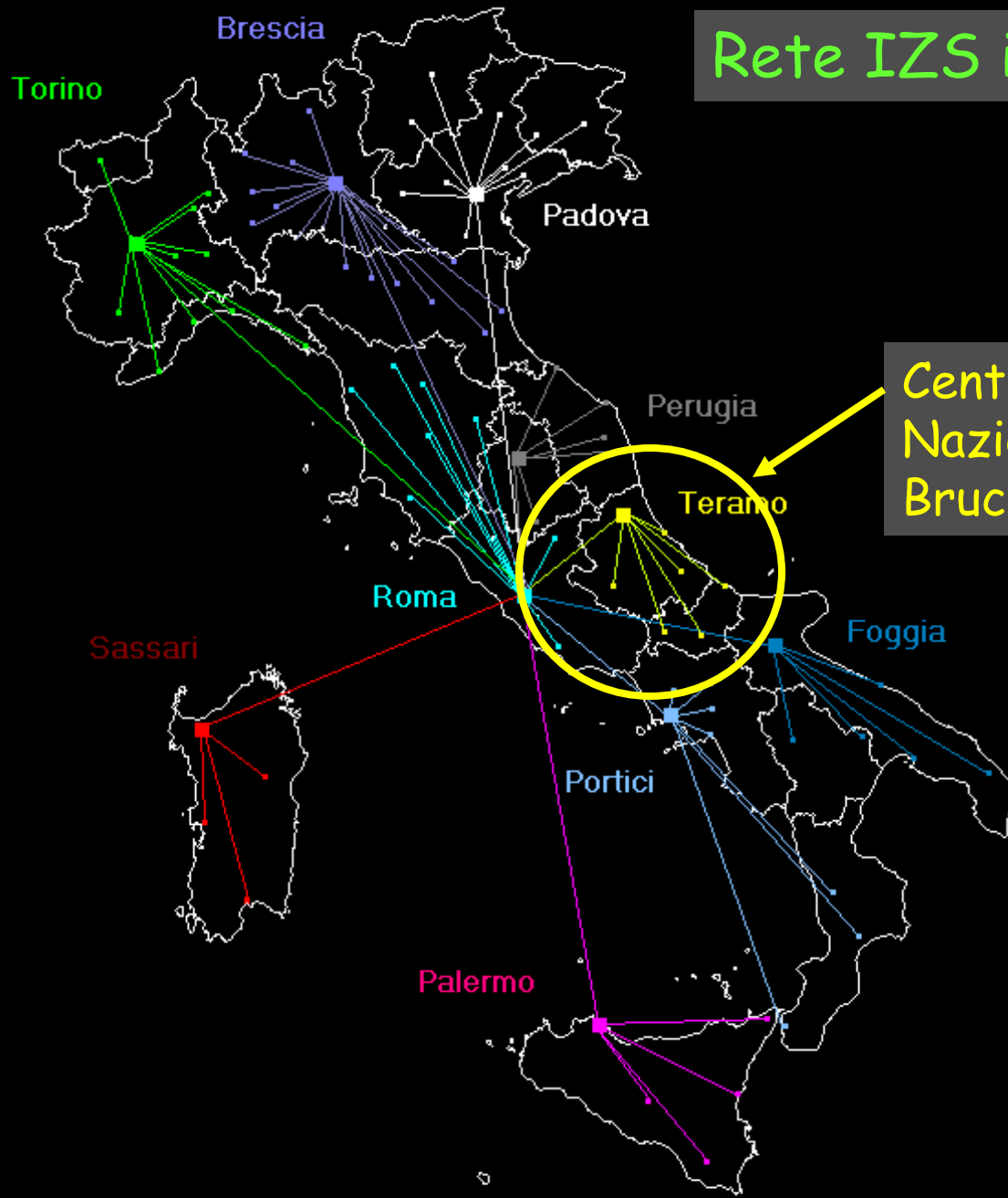
Le principali attività del LRN delle brucellosi nel 2014.

Manuela Tittarelli



Teramo 27/02/2015

Rete IZS in Italia



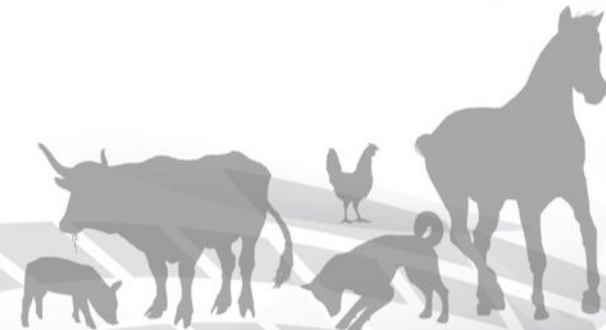
Centro di Riferenza Nazionale per le Brucellosi



CRN Brucellosi

 **Brucellosi**
Centro di Referenza Nazionale

Il Ministero della Sanità, con Decreto 4 ottobre 1999 (G.U.R.I. n°300 del 23 dicembre 1999), ha attivato il Centro di referenza nazionale per le brucellosi presso la sede centrale dell'IZS di Teramo.



Regolamento CE 535/2002

4. LABORATORI NAZIONALI DI RIFERIMENTO

4.1. Compiti e responsabilità

I laboratori nazionali di riferimento hanno la responsabilità di:

- a) approvare i risultati degli studi di validazione che dimostrano l'affidabilità del metodo di prova utilizzato nello Stato membro interessato;
- b) stabilire il numero massimo di campioni che devono formare i pool in relazione ai kit ELISA utilizzati;
- c) calibrare i sieri standard nazionali secondari di riferimento ("standard di lavoro") con i sieri standard internazionali primari di riferimento di cui al paragrafo 2.1;
- d) controllare la qualità di tutti i lotti di antigeni e di kit ELISA utilizzati nel rispettivo Stato membro;
- e) collaborare nell'ambito della rete dei laboratori nazionali di riferimento per la brucellosi dell'Unione europea.





 **Brucellosi**
Centro di Referenza Nazionale



Cosa fa il LRN

 **Brucellosi**
Centro di Referenza Nazionale



Obiettivi del 2015

1

- Armonizzazione metodi diretti
- Distribuzione delle relative SOP

2

- Partecipazione al RT m-ELISA del EU-RL mediante i kit in uso presso gli IIZZSS (Svanova, IDvet e IDEXX)
- Partecipazione alla validazione del tampone alternativo al VBS con ANSES

3

- Avvio di RT anche per PCR
- Partecipazione a gruppo di lavoro per armonizzazione del metodo MLVA

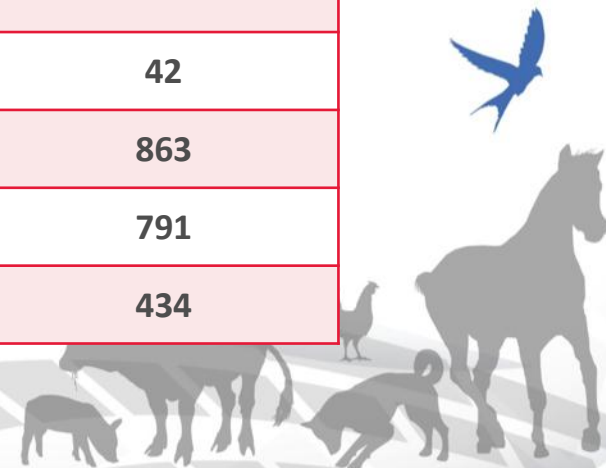




Diagnosi sierologica e batteriologica 2014

 Brucellosi
Centro di Referenza Nazionale

METODO	PIANI REGIONALI (ABRUZZO E MOLISE)	ATTIVITÀ EXTRA REGIONALE	TOTALE
SAR	283.234	194	283.428
SAL - B. canis	18	10	28
FDC	16.156	194	16.350
FDC-RB51	510	3.940	4.450
ELISA B.suis	18	0	18
c-ELISA	21	21	42
Isolamento	825	38	863
PCR	745	46	791
PCR-RFLP	48	386	434



Tipizzazione di ceppi



Tipizzazione di ceppi

SPECIE	REGIONE	SPECIE BRUCELLA	BIOVAR	N° DI CEPPI
Bovino	Abruzzo	<i>abortus</i>	3	22
Cinghiale	Abruzzo	<i>suis</i>	2	1
Bovino	Basilicata	<i>abortus</i>	1	3
Bovino	Basilicata	<i>abortus</i>	3	16
Bovino	Basilicata	<i>melitensis</i>	3	1
Bovino	Calabria	<i>abortus</i>	3	47
Bovino	Calabria	<i>abortus</i>	1	19
Bovino	Calabria	<i>melitensis</i>	3	1
Ovino	Calabria	<i>melitensis</i>	3	21
Capre	Calabria	<i>abortus</i>	3	1
Capre	Calabria	<i>melitensis</i>	3	40

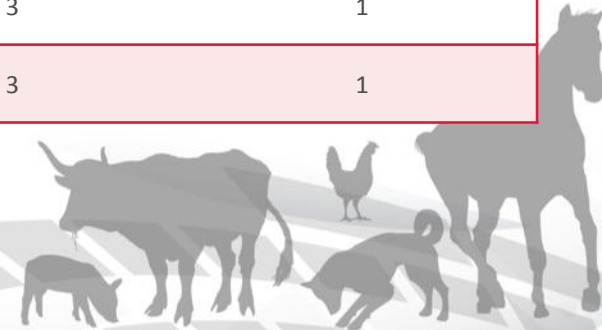
Tipizzazione di ceppi

SPECIE	REGIONE	SPECIE BRUCELLA	BIOVAR	N° DI CEPPI
Bovino	Campania	<i>abortus</i>	3	32
Bovino	Campania	<i>melitensis</i>	3	1
Bufalo	Campania	<i>abortus</i>	1	1
Bufalo	Campania	<i>abortus</i>	3	1
Bufalo	Campania	<i>melitensis</i>	3	1
Capre	Campania	<i>melitensis</i>	3	1
Ovino	Campania	<i>melitensis</i>	3	4
Cinghiale	Emilia Romagna	<i>suis</i>	2	3
Capre	Lazio	<i>melitensis</i>	3	8
Capre	Lombardia	<i>melitensis</i>	3	2



Tipizzazione di ceppi

SPECIE	REGIONE	SPECIE BRUCELLA	BIOVAR	N° DI CEPPI
Bovino	Molise	<i>abortus</i>	3	22
Capre	Molise	<i>melitensis</i>	3	2
Ovino	Molise	<i>melitensis</i>	3	1
Cinghiale	Piemonte	<i>suis</i>	2	3
Suino	Piemonte	<i>suis</i>	2	3
Ariete	Piemonte	<i>ovis</i>		1
Bovino	Puglia	<i>abortus</i>	3	28
Bufalo	Puglia	<i>melitensis</i>	3	1
Ovino	Puglia	<i>abortus</i>	3	1



Tipizzazione di ceppi

SPECIE	REGIONE	SPECIE BRUCELLA	BIOVAR	N° DI CEPPI
Bovino	Sicilia	<i>abortus</i>	3	18
Bovino	Sicilia	<i>melitensis</i>	3	8
Ovino	Sicilia	<i>abortus</i>	3	4
Ovino	Sicilia	<i>melitensis</i>	3	93
Capre	Sicilia	<i>abortus</i>	3	1
Capre	Sicilia	<i>melitensis</i>	3	24



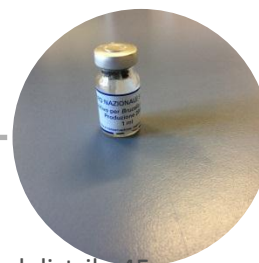
Produzione di reagenti



Antigene
Rosa bengala

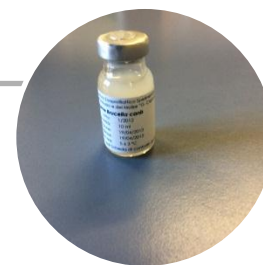
Prodotti 210.000 ml
Distribuiti 177.480

SNS distribuiti 243 fl
Circa 16.000 sieri liofilizzati



Siero nazionale standard e sieri di riferimento

Ag B. ovis prodotti 300 ml distrib. 45
Ag B. canis SAL 60ml distrib.
Ag B. ab.RB51 prodotti 11637 ml distrib. 10.095 ml



Antigeni
Brucella per prove sierologiche


LPS, latte bovino positivo e negativo



Kit diagnostici



Organizzazione di prove interlaboratorio




E' stato organizzato il 15° circuito di prove per la valutazione delle prestazioni dei laboratori per la diagnosi sierologica di brucellosi (72 laboratori).

- E' stato organizzato il I° circuito interlaboratorio per la metodica FdC-RB51 per i laboratori autorizzati.
- E' stato organizzato l' 8° circuito di prove interlaboratorio per la valutazione delle prestazioni dei laboratori nella diagnosi microbiologica di brucellosi da matrici animali (16 laboratori).
- E' stato organizzato il 2° circuito di prove interlaboratorio per la valutazione delle prestazioni dei laboratori nell'isolamento di *Brucella spp* da matrici alimentari (13 laboratori).
- Il LRN nel 2014 ha partecipato al circuito interlaboratorio organizzato dall'EU-RL con i laboratori degli Stati membri, per valutare le prestazioni dei test SAR, FDC e i-ELISA su pannelli di sieri bovini e per la standardizzazione Ag SAR.



Collaborazioni e consulenze 2014




Collaborazione con il Ministero della Salute - DGSAFV - e alla Procura della Repubblica presso il Tribunale di Santa Maria Capua Vetere sull'utilizzo illecito di vaccino RB51 nei bufali della Provincia di Caserta, producendo una relazione tecnica riportante l'analisi dei risultati dei controlli svolti dal Corpo Forestale dello Stato.

- Sulla base delle risultanze della relazione tecnica, ha fornito supporto al Ministero della Salute - DGSAFV - per la predisposizione di ulteriori modifiche al piano di monitoraggio sull'utilizzo illecito di vaccino RB51 nei bufali della Provincia di Caserta.
- Ha fornito supporto alla Procura della Repubblica presso il Tribunale di Salerno nell'ambito di un procedimento penale come consulente per questioni inerenti alla diagnosi della brucellosi bovina.



Consulenze e pareri



Collaborazione con Tribunale di S. Maria Capua a Vetere per indagine giudiziaria su allevamenti bufalini della provincia di Caserta.

- Collaborazione con Tribunale di Salerno per indagine giudiziaria su un allevamento bovino della provincia di Salerno.
- Partecipazione alla Task force sul sistema di raccolta dei dati delle zoonosi (Task Force on Zoonoses Data Collection) per conto dell'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA).
- ANSES (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'environnement et du travail), Parigi (Francia). Consulenza nell'ambito del gruppo di lavoro dell'ANSES "Brucellose des bouquetins".
- (UE) Task force on monitoring animal disease eradication programmes - Brucellosis subgroup



Collaborazioni e consulenze 2014



Collaborazione con il Ministero della Salute per la stesura di un nuovo Decreto Ministeriale per l'attuazione del Piano di eradicazione della brucellosi bovina ed ovi-caprina e di un Ordinanza Ministeriale per l'eradicazione della brucellosi in territori non ufficialmente indenni.

- valutazione dei dati epidemiologici dei focolai di brucellosi ovicaprina insorti a fine 2013 e inizio 2014 nella provincia di Campobasso (provincia ufficialmente indenne da brucellosi ovicaprina)
- Collaborazione con il Ministero della Salute - DGSAFV - e al Servizio Veterinario della Regione Molise nella relazione sui focolai di cui sopra richiesta dalla Commissione Europea - Unità G2 Animali Health - e presentata durante il meeting dello SCoFCAH del 5 maggio 2014.

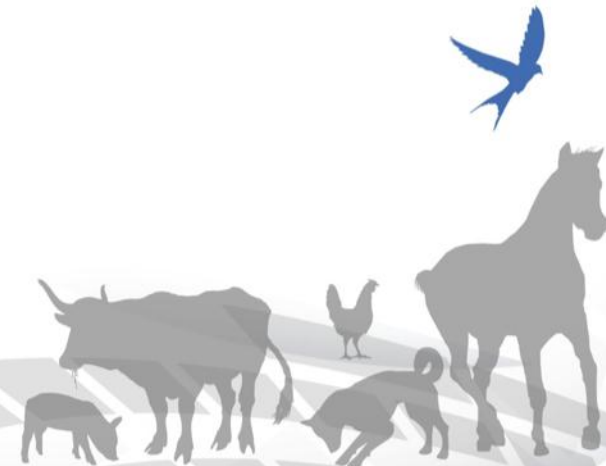


Progetti di ricerca




Progetto EMIDA "*Brucella melitensis*: byotyping and differential diagnostic", finanziato dal MIPAAF e svolto in collaborazione con il laboratorio veterinario NAGREF (Grecia), KIMRON (Israele) e l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia.

- **Progetto ANIHWA** dal titolo: "Brucellosis in wildlife and domestic animals: development of a direct diagnostic method and assessment of genetic diversity of *Brucella melitensis* and *Brucella suis* biovar 2 strains in the EU", in collaborazione con Francia e Spagna.




Progetti di ricerca



Progetto di ricerca corrente 2013 -
MSRCTE0913 - Brucellosi del bufalo (*Bubalus Bubalis*): aspetti di sanità pubblica veterinaria legati all'uso fraudolento di vaccino RB51 e caratterizzazione genomica dei ceppi di *Brucella* spp. circolanti nella popolazione bufalina. Il progetto è iniziato a novembre 2014.



Attività di ricerca non finanziata



Sequenziamento dell'intero genoma *Brucella* mediante tecnologia NGS (Next-generation sequencing) di ceppi di particolare interesse epidemiologico.

- Miglioramento della metodica di isolamento di *Brucella* spp. mediante impiego di anticorpi monoclonali specifici per *Brucella* coniugati a beads magnetiche.
- Messa a punto del metodo MLVA per la tipizzazione attraverso l'utilizzo della tecnica del sequenziamento Sanger su ceppi di *Brucella* per studi epidemiologici.





Collaborazioni internazionali



OIE Twinning for Animal Brucellosis tra l' Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise G. Caporale e il National Veterinary Reference Centre (Republic of Kazakhstan)

- OIE Twinning for Animal Brucellosis tra l' Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise G. Caporale e il Zimbabwean Central Veterinary Laboratory





Grazie a tutti per l'attenzione

