


Aggiornamenti: EST e uso dei sistemi informativi nazionali veterinari. Svolgimento delle indagini epidemiologiche
Maria Pacciarini, Reparto Genomica



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

LA NOSTRA
ESPERIENZA,
LA VOSTRA
SICUREZZA.



Indagine epidemiologica e genotipizzazione finalizzata all'eradicazione della tubercolosi

06.10.2016
Teramo

Sommario

- Situazione della TB in Italia
- Indagine epidemiologica tradizionale
- Banca dati nazionale dei genotipi
M.bovis/M.caprae
- Distribuzione geografica e MST dei genotipi maggiormente diffusi in Italia
- Esempio combinazione IE tradizionale/
genotipizzazione per i rintracci
epidemiologici





Regioni/Province OTF - 2016

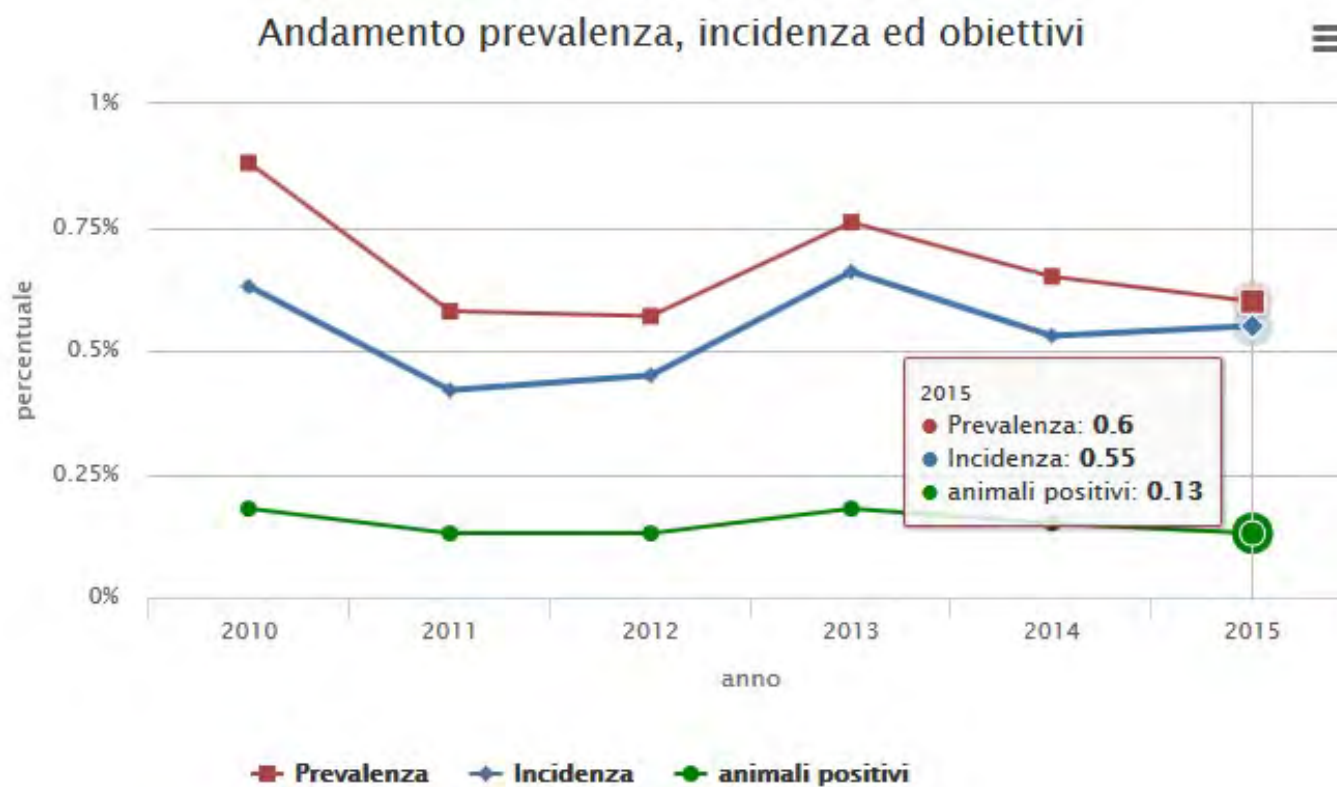


REGIONI ITALIANE	Province Italiane
EMILIA-ROMAGNA	Intera regione (9)
LOMBARDIA	Intera regione (12)
MARCHE	Ascoli Piceno, Fermo, Ancona, Pesaro-Urbino
TOSCANA	Intera regione (10)
TRENTINO ALTO ADIGE	Intera regione (2)
PIEMONTE	Intera regione (9)
LIGURIA	Intera regione (4)
FRIULI VENEZIA GIULIA	Intera regione (4)
VENETO	Intera regione (7)
SARDEGNA	Cagliari, Medio-Campidano, Ogliastra, Olbia-Tempio, Oristano
LAZIO	Rieti, Viterbo
ABRUZZO	Pescara
TOTALE	68

BOVINE TUBERCULOSIS IN ITALY - FEBRUARY 2016

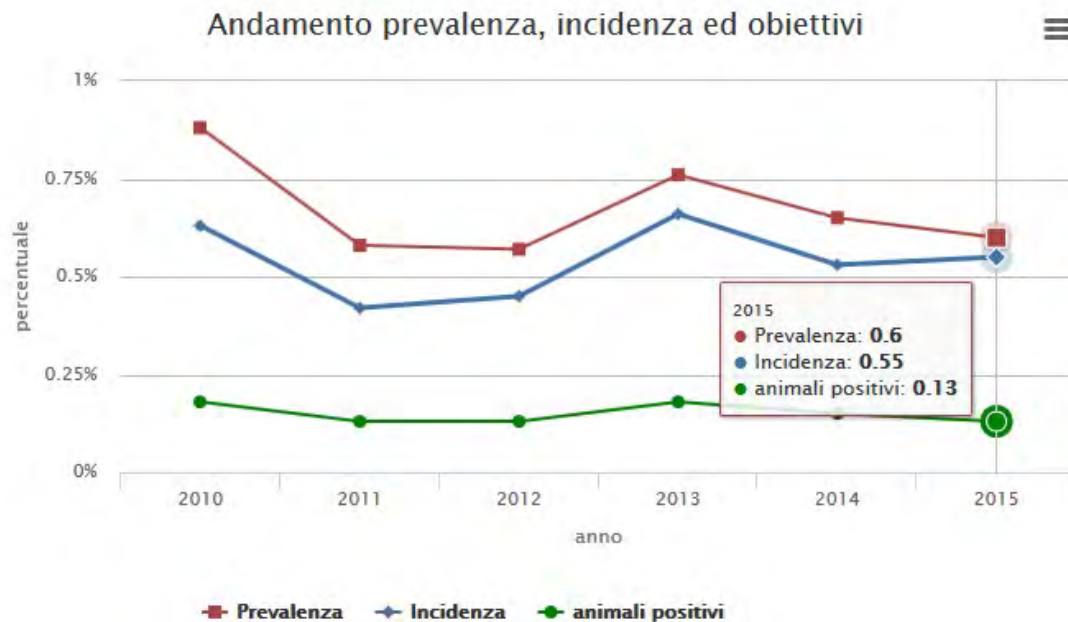


Andamento prevalenza, incidenza e animali positivi 2010-2015



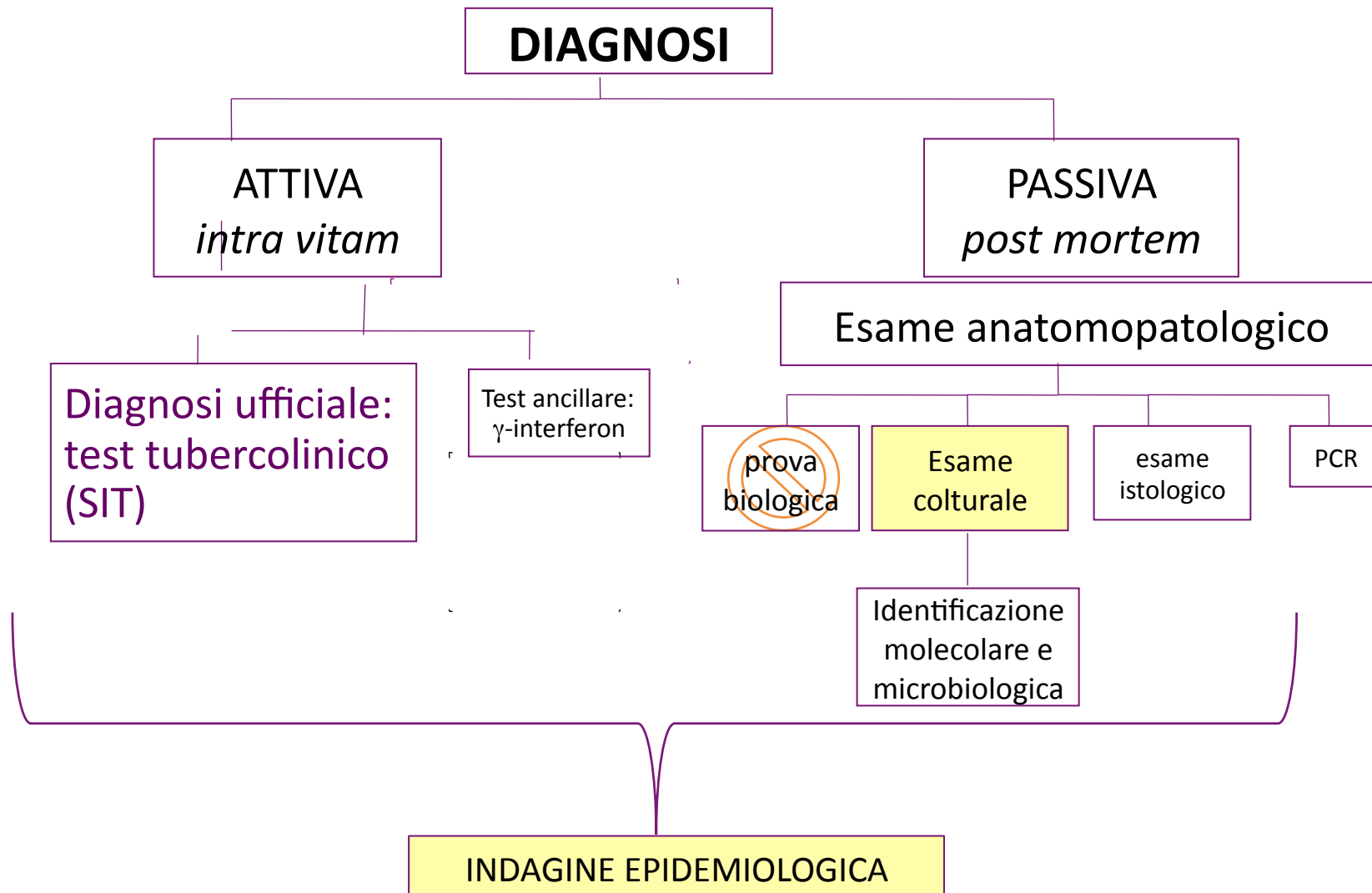


Andamento prevalenza, incidenza e animali positivi 2010-2015



Year	Total n° of herds	Total n° of herds under programme	Number of herds checked	Number of positive herds	N° of TB free herds	Positive herds depopulated	N° of animal tested	N° of positive animals
2010	134984	111078	62466	549	102217	0	2970676	5269
2011	128573	84536	84755	489	108789	9	3540642	4507
2012	123661	72684	72300	415	104454	19	2735130	3587
2013	126863	66050	64909	494	109323	10	2441439	4400
2014	120070	66323	61656	381	104361	14	2425898	3121
2015	120765	73868	72426	436	103799	8	2788407	3405

Sorveglianza e controllo della TB



La sorveglianza e controllo della TB si basa su alcuni punti chiave: diagnosi in vita, diagnosi post mortem: esame anatomopatologico e i successivi approfondimenti di laboratorio il cui test di riferimento è l'esame culturale

Punti critici sorveglianza TB

1. Diagnosi in vita (T°/ conservazione tuberculina, dose, esecuzione, lettura, rispetto tempi...)
2. Ispezione al macello, prelievo corretto linfonodi/organi, isolamento/ identificazione/genotipizzazione di *M. bovis*/*M. caprae*
3. Indagine Epidemiologica (IE): raccolta esaustiva informazioni



Informazioni IE tradizionale

A. Stato sanitario dell'allevamento prima della rilievo del focolaio

1 Data ultima IDT

2 Verifica se allevamento è stato sede di focolaio

3 Rilievo negli ultimi 12 mesi VL compatibili con TB al macello (in attesa CONFERMA LABORATORIO-ESITO DELL'ISOLAMENTO)



B. Dati relativi all'allevamento

1 Indirizzo produttivo (numero di animali per categoria)

2 Presenza di altre specie animali sensibili

3 Stabulazione

4 Modalità smaltimento deiezioni

5 Pascolo -indicare località e periodo di utilizzo pascolo-

6 Applicazione corrette norme biosicurezza (Locale infermeria, locale quarantena)



Informazioni IE tradizionale

C. Dati movimentazioni degli animali (dopo ultima prova IDT)

- 1 **Introduzione** da altri allevamenti-stalle di sosta
- 2 **Introduzione** da fiere o mercati
- 3 **Vendita** ad altri allevamenti-stalle di sosta
- 4 **Uscita** verso i macelli, fiere, mercati

D. Contatti con animali selvatici

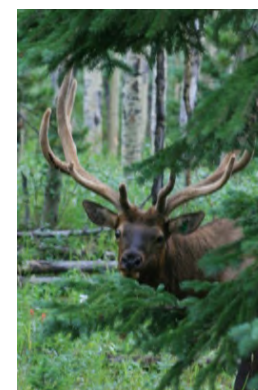
E. Contatti diretti con altri allevamenti

(pascolo, alpeggio...)

F. Contatti indiretti con altri allevamenti

(mezzi di trasporto, deiezioni contaminate)

G. Altri allevamenti dello stesso proprietario





Tipizzazione molecolare di *M. bovis*/*M. caprae*



Dal 2000 genotipizzazione Spoligotyping: Metodo storicamente e universalmente utilizzato per tipizzazione ceppi di *M. bovis*, si basa sul polimorfismo locus DR, identifica delezioni delle sequenze spacers

Dal 2008 genotipizzazione Spoligotyping + Multilocus Variable Number Tandem Repeat Analysis (MLVA): mappatura geografica e rintraccio epidemiologico (maggior comprensione della presenza di cluster geografici e temporali e strumento utile per i rintracci epidemiologici)

- *Marcatori ETRA-E (Frothingham and Meeker-O'Connell, 1998)*
- *Sette marcatori VNTR (Boniotti et al. 2009):*
- *VNTR2163a (QUB11a)*
- *VNTR2163b (QUB11b)*
- *VNTR2996 (MIRU26)*
- *VNTR3155 (QUB15)*
- *VNTR4052 (QUB26)*
- *VNTR1895 (QUB1895)*

642 BONIOTTI ET AL.

J. CLIN. MICROBIOL.

TABLE 3. Allelic diversity at each locus among the 100 SB0120 panel

Locus	No. of isolates with MIRU-VNTR allele:																		Allelic diversity (h)	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18		>18
MIRU 4/ETR-D					100															0.00
MIRU 10					100															0.00
MIRU 39					100															0.00
ETR-C						100														0.00
MIRU 2		99	1																	0.01
MIRU 40	1	98	1																	0.03
MIRU 20	3	97																		0.05
MIRU 23	1		1	95	3															0.09
QUB18/VNTR 1982		3	95	2																0.09
QUB23	1		2			95	1												1	0.09
QUB5/MIRU 27	1	95	4																	0.09
MIRU 24	1	94	3	1	1															0.11
MIRU 16		5	92	3																0.14
MIRU 31/ETR-E			85	15																0.25
QUB1895/VNTR 1895		6	9	84											1					0.28
QUB15	7	5	82	6																0.31
QUB11b		9	10	81																0.32
QUB26		6	3	80	11															0.34
MIRU 26		1	1	14	79	5														0.35
QUB11a					2	4	2	4	8	78	1	1								0.37
ETR-A					39	61														0.47
VNTR 3232				5	3	67	14	10		1										0.51
VNTR 3336		1			1	1	1	8	1	5	16	57	3	1		1		2	2	0.63
ETR-B			21	36	43															0.64

Spoligotyping: ci ha permesso di evidenziare una prima storia evolutiva ceppi isolati e mappatura geografica

Spoligotyping+ VNTR: maggiore capacità differenziativa con l'analisi (MLVA) applicata a 12 marcatori VNTR caratterizzati da queste piccole seq rip a tandem. Ogni ceppo può avere un numero variabile di unità ripetitive in ciascuno dei 12 loci.

Banca dati ceppi e Spoligotyping

Metodo storicamente e universalmente utilizzato per tipizzazione ceppi di *M. bovis* si basa sul polimorfismo locus DR, identifica delezioni delle sequenze spacers

- ✓ 4563 ceppi *M. bovis*/*M. caprae* isolati in Italia da 3282 focolai di bovino/bufalo dal 2000 al 2015
- ✓ Differenziati 145 spoligotipi diversi

Spoligotipi più frequenti:

SB0120: 49,24% *M. bovis*

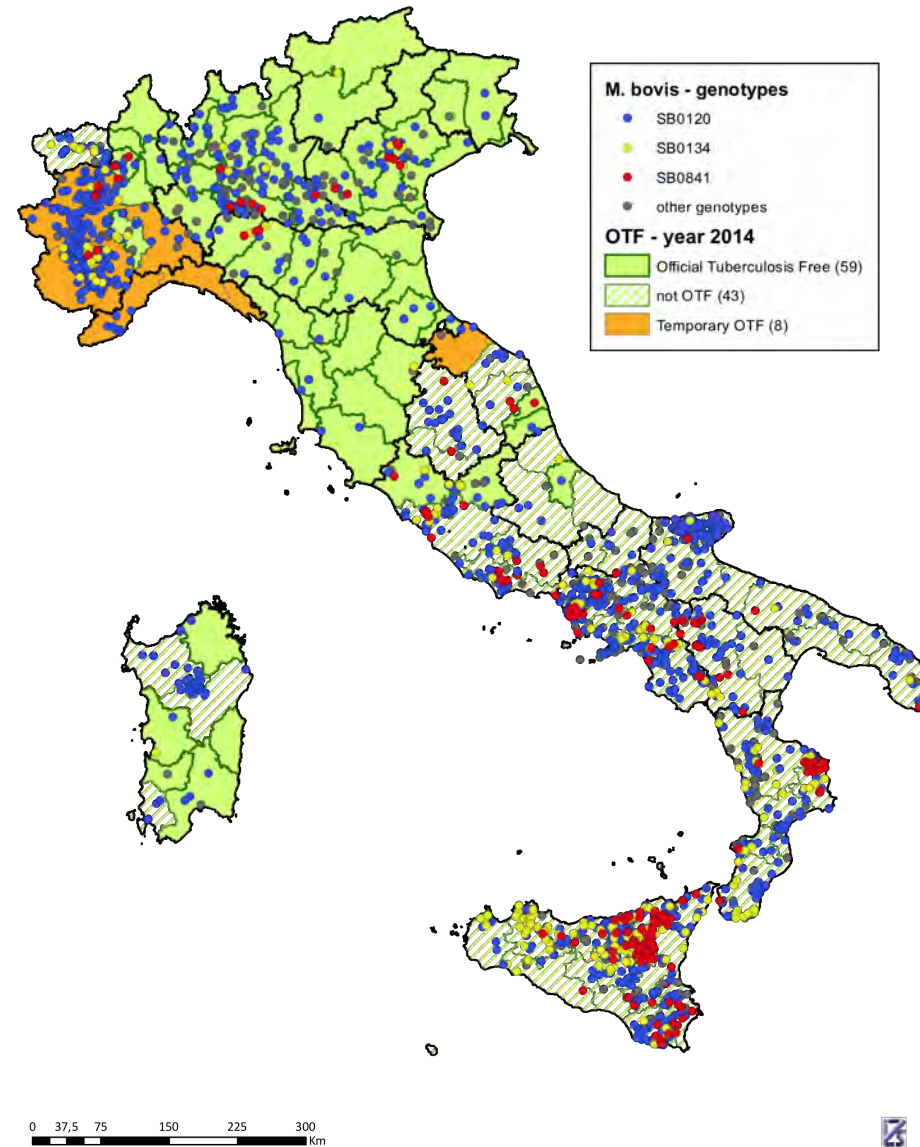
SB0134: 10,14% *M. bovis*

SB0841: 6,26% *M. bovis*

SB0418: 5,16% *M. caprae*

Presenza *M. caprae* in Italia nel 9,2% dei focolai

Distribuzione geografica degli spoligotipi maggiormente diffusi di *M. bovis* 2000-2015

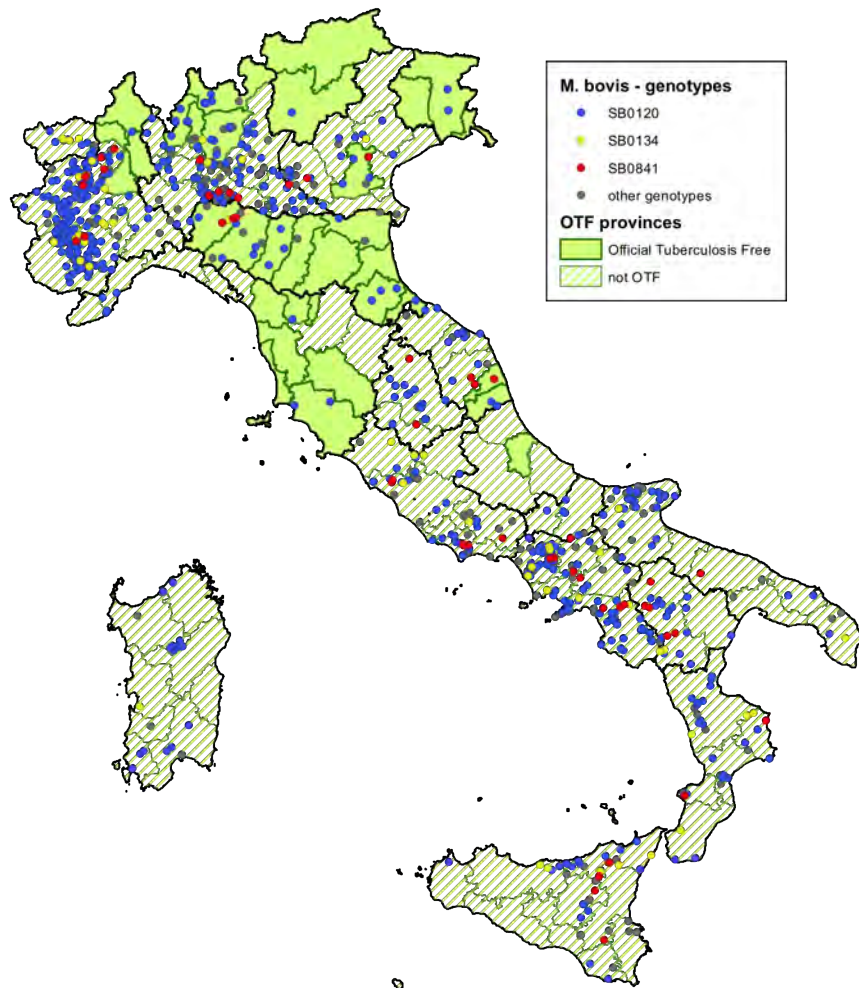


Distribuzione geografica dei genotipi di *M. bovis*

2000-2007

BOVINE TUBERCULOSIS IN ITALY - YEAR 2000/2007

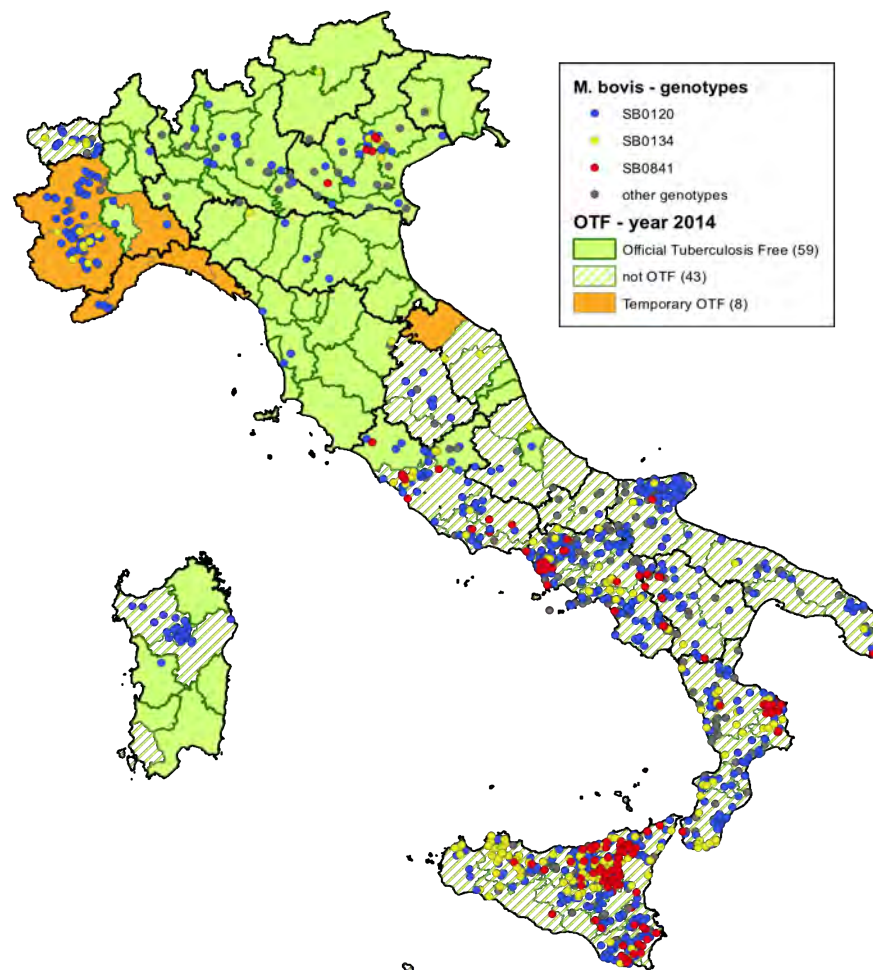
update 31/12/2014



2008-2015

BOVINE TUBERCULOSIS IN ITALY - YEAR 2008/2014

update 31/12/2014



0 37,5 75 150 225 300 Km

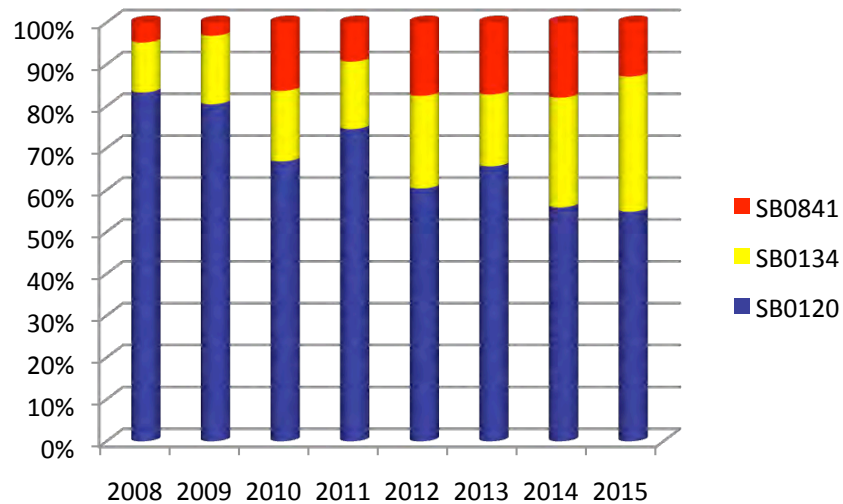


0 37,5 75 150 225 300 Km



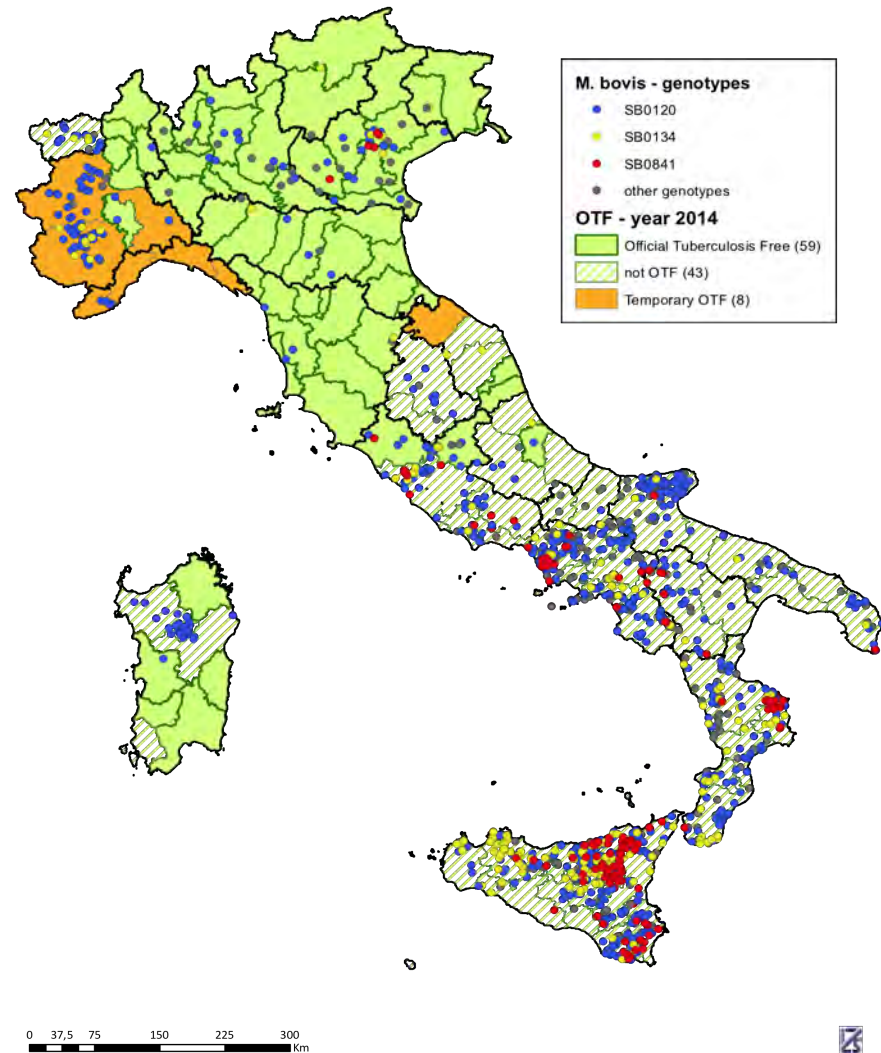
Distribuzione geografica dei genotipi di *M. bovis*

Frequenza spoligotipi



BOVINE TUBERCULOSIS IN ITALY - YEAR 2008/2014

update 31/12/2014





Distribuzione geografica degli spoligotipi maggiormente diffusi in Italia dal 2008-2015.

Analisi spoligotyping combinata con MLVA (12 marcatori VNTR) applicata dal 2008:

Aumenta capacità differenziativa

2518 ceppi *M. bovis*/*M. caprae* isolati da 1809 focolai bovino/bufalo sono stati differenziati in 748 genotipi.

BOVINE TUBERCULOSIS IN ITALY - YEAR 2008/2014
update 31/12/2014

