



ISTITUTO G. CAPORALE  
TERAMO



**CRN Brucellosi**

Centro di Referenza Nazionale

***Il Centro di Referenza Nazionale delle brucellosi.***

Manuela Tittarelli

*“La brucellosi tra diagnostica e ricerca”*

*Teramo 11/12 ottobre 2012*



# La storia

Sir David Bruce  
(1855-1931)

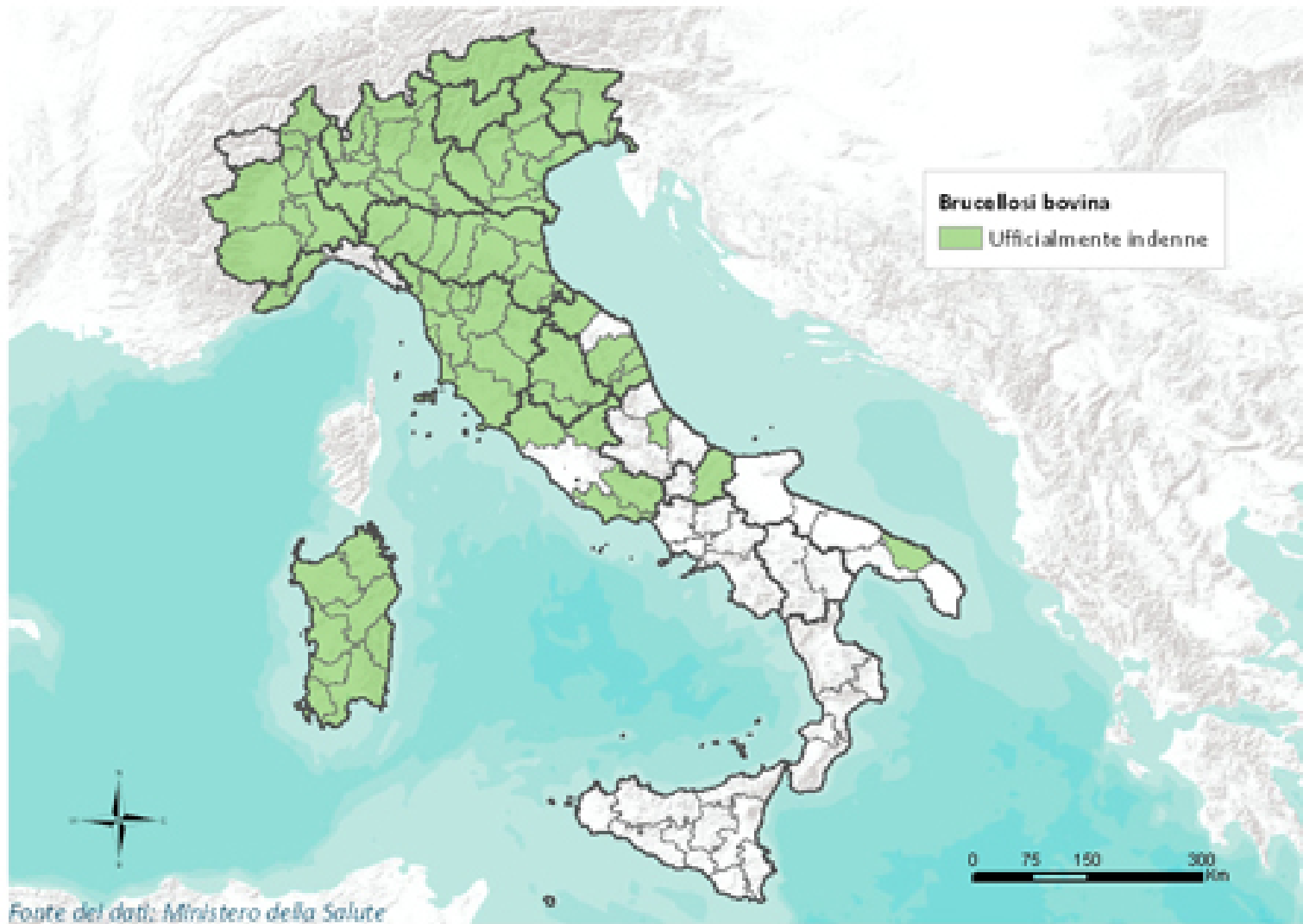
Il *Micrococcus melitensis* fu isolato nel 1886 dal Dr. David Bruce dalla milza di un soldato che era morto di questa malattia. In seguito isolò il germe anche da una capra.





ISTITUTO G. CAPORALE  
TERAMO

 **CRN Brucellosi**  
Centro di Riferimento Nazionale



Fonte dei dati: Ministero della Salute





# CRN Brucellosi

 **CRN Brucellosi**  
Centro di Riferenza Nazionale

Il Ministero della Sanità, con Decreto 4 ottobre 1999, ha attivato il Centro di riferimento nazionale per le brucellosi presso la sede centrale dell'IZS di Teramo



# Cosa fa il Centro di referenza:

- conferma, ove previsto, la diagnosi di brucellosi effettuata da altri laboratori;
- attua la standardizzazione delle metodiche di analisi;
- organizza idonei "ring test" fra istituti;





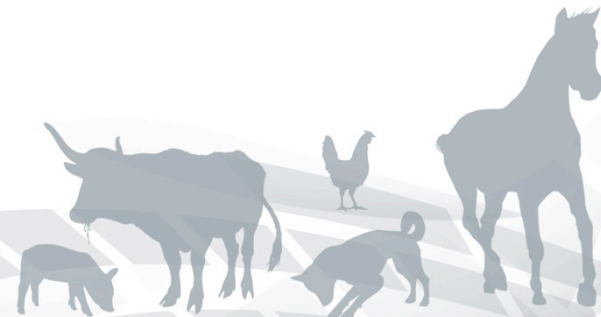
# Cosa fa il Centro di referenza:

- collabora con altri Centri di Referenza comunitari o di Paesi Terzi;
- fornisce al Ministero della Sanità assistenza ed informazioni specialistiche.



# Cosa fa il Centro di referenza:

- organizza corsi di formazione per il personale di altri IZS;
- fornisce agli altri IZS e agli altri enti di ricerca le informazioni relative alle novità nel settore specialistico;
- predispone piani di intervento;



# Cosa fa il Centro di referenza:

- utilizza e diffonde i metodi ufficiali di analisi;
- produce, si rifornisce, detiene e distribuisce agli altri IZS o agli altri enti di ricerca i reagenti di referenza, quali antigeni, anticorpi e antisieri;





# *Normativa vigente* **BOC**

- **DECRETO 2 Luglio 1992, n. 453**

*Modificato da*

- **DECRETO 31 MAGGIO 1995, n. 292**

e

- **DECRETO 12 agosto 1997, n. 429**



# Normativa vigente **Bbb**

- **DECRETO 27 AGOSTO 1994, n. 651 (GU n. 277 del 26/11/1994)**



*Modificato da*

- **DECRETO 12 agosto 1997, n. 429**
- e
- **Decreto Legislativo 22 maggio 1999, n. 196**





ISTITUTO G. CAPORALE  
TERAMO

# ORDINANZA 9 agosto 2012

 **CRN Brucellosi**  
Centro di Referenza Nazionale



Misure straordinarie di polizia veterinaria in materia di tubercolosi, brucellosi bovina e bufalina, brucellosi ovi-caprina, leucosi, nelle regioni Calabria, Campania, Puglia e Sicilia.

*(GU n. 212 del 11-9-2012)*



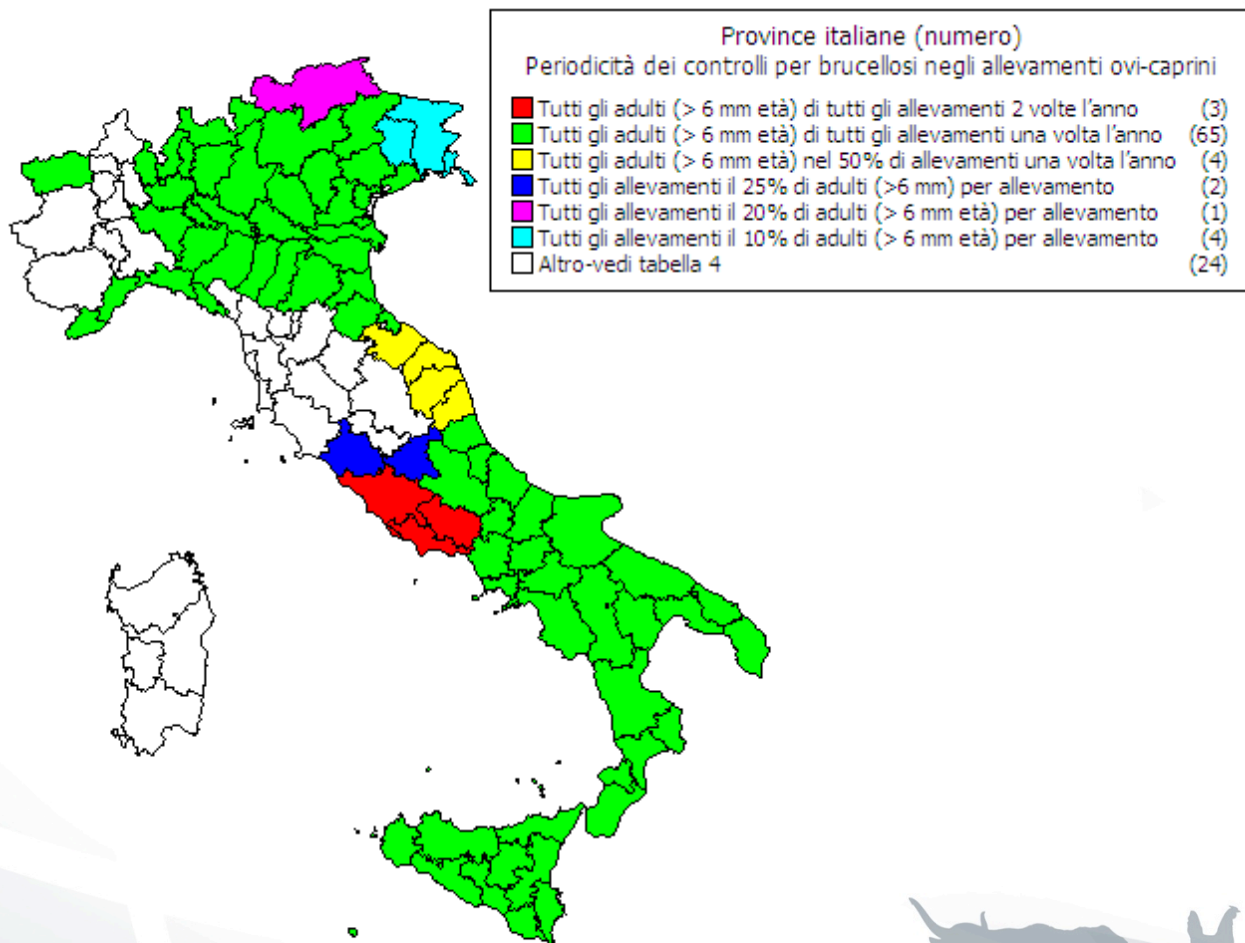


 **CRN Brucellosi**  
Centro di Referenza Nazionale

# La rete degli IIZZSS



# Controlli BOC



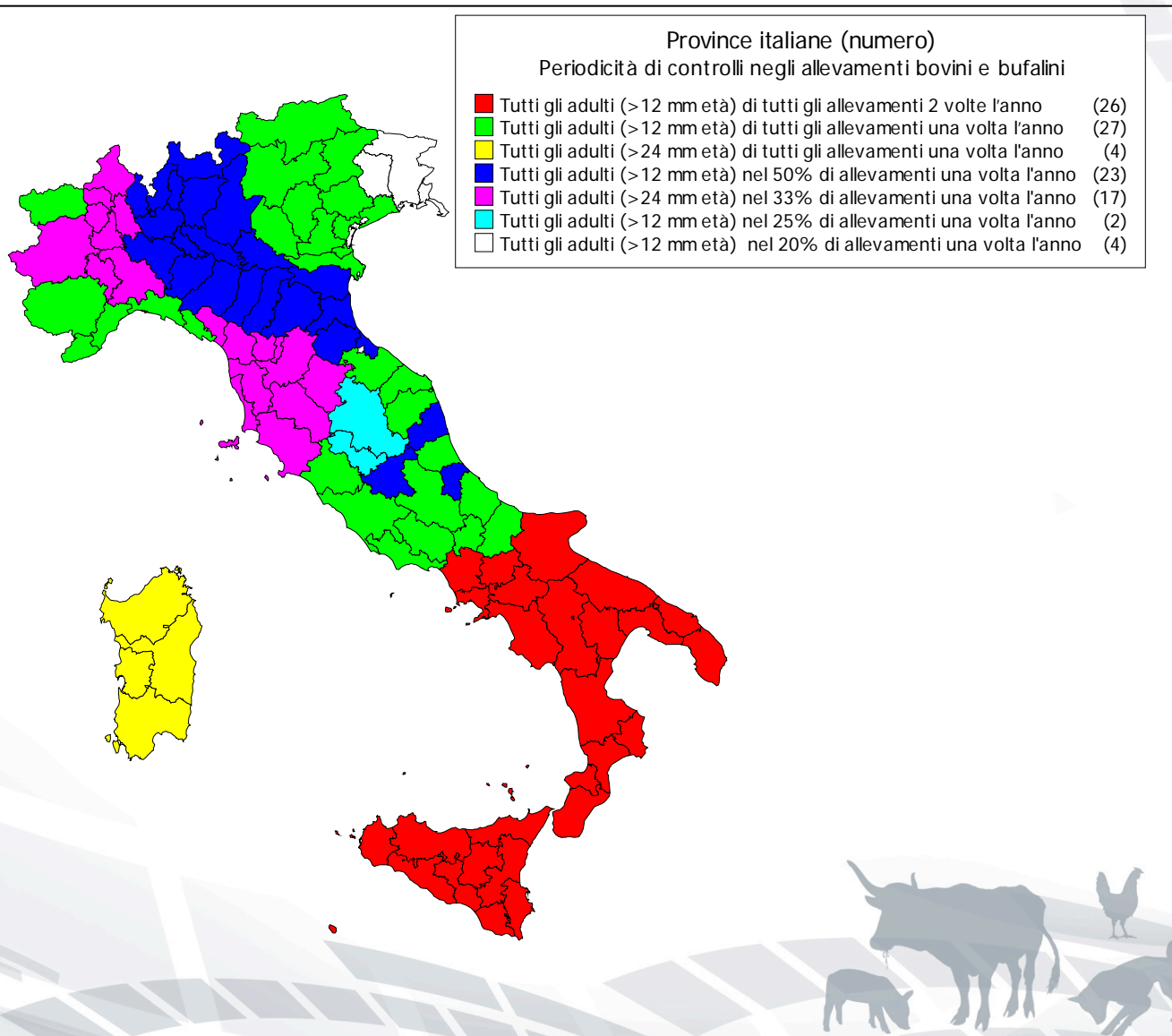




ISTITUTO G. CAPORALE  
TERAMO

# Controlli Bbb

 **CRN Brucellosi**  
Centro di Riferenza Nazionale

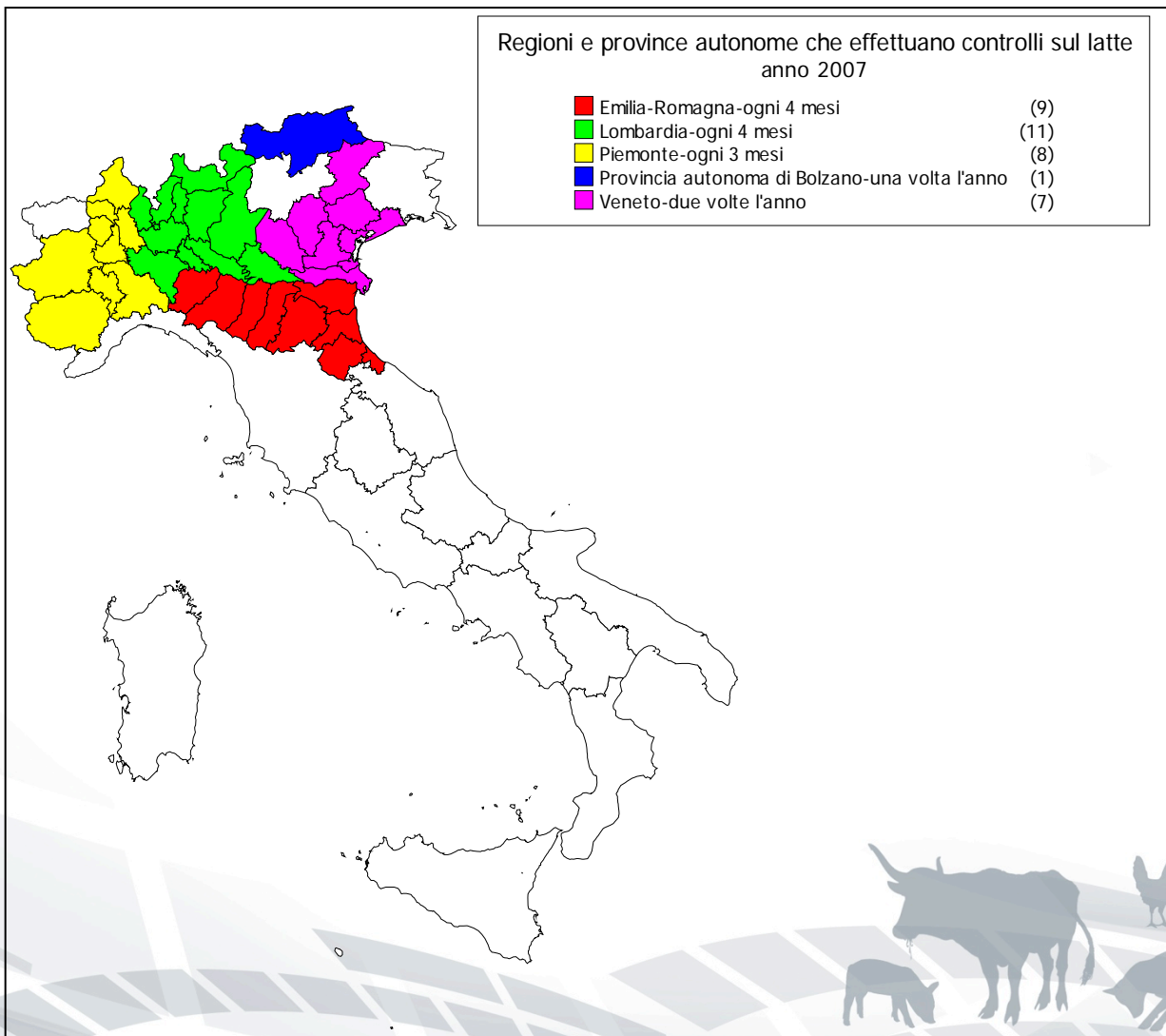




ISTITUTO G. CAPORALE  
TERAMO

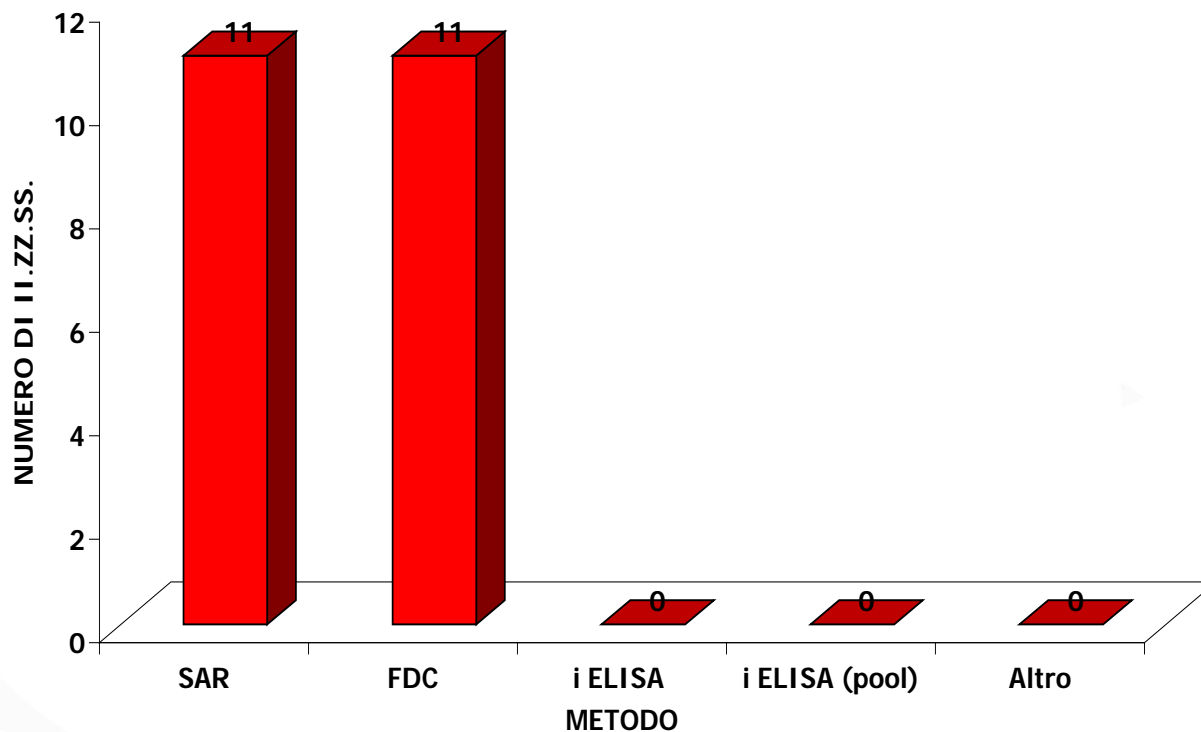
 **CRN Brucellosi**  
Centro di Riferenza Nazionale

# Controlli latte



# Metodi sierologici bovini

Metodi sierologici utilizzati routinariamente sui bovini



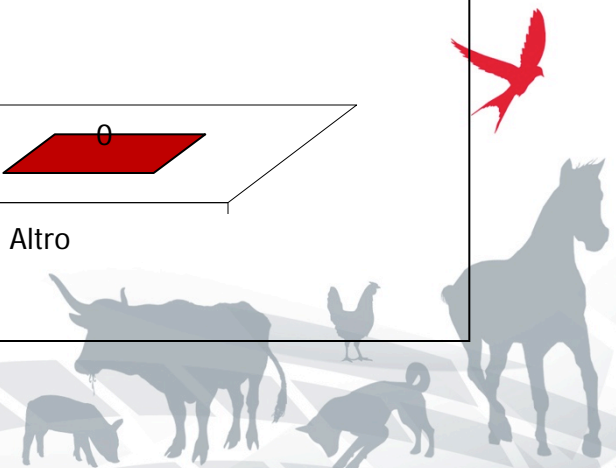
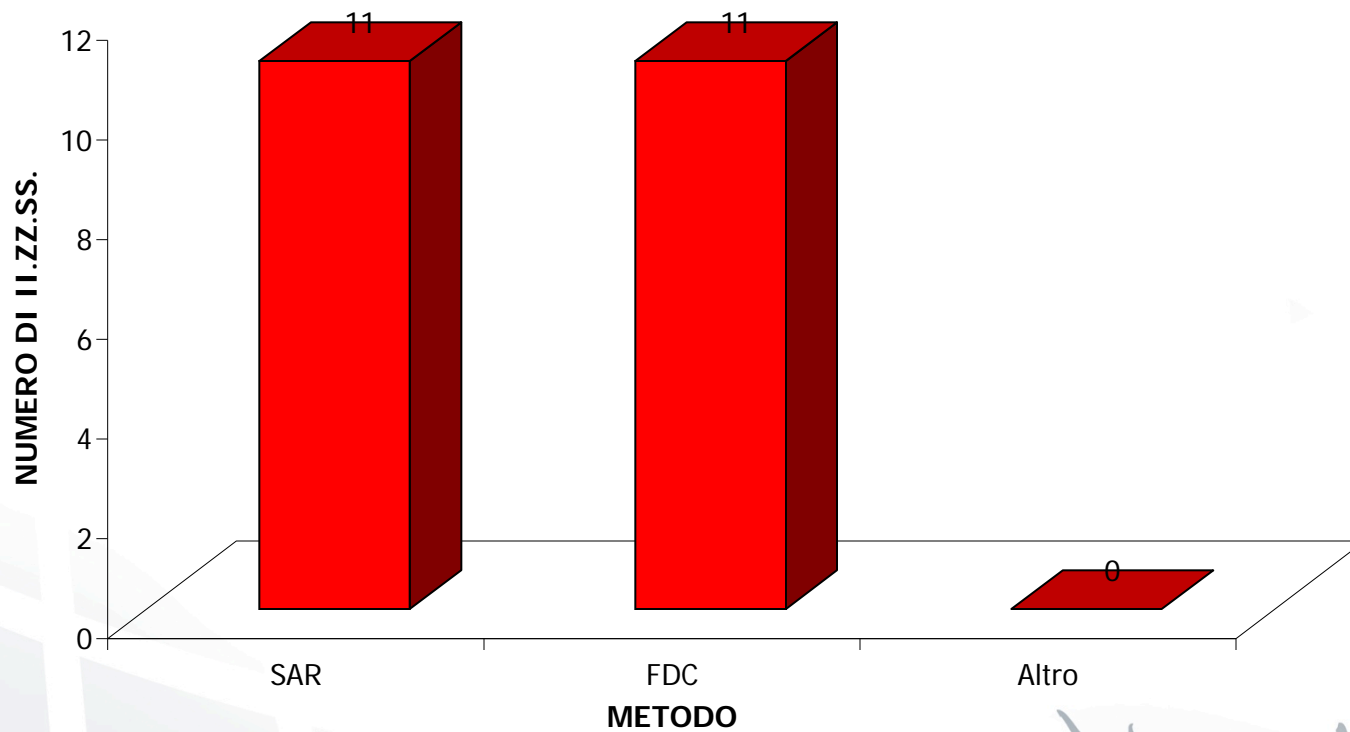


ISTITUTO G. CAPORALE  
TERAMO

 **CRN Brucellosi**  
Centro di Referenza Nazionale

# Metodi sierologici OC

Metodi Sierologici Utilizzati Routinariamente sugli Ovicapriini



# Diagnosi diretta

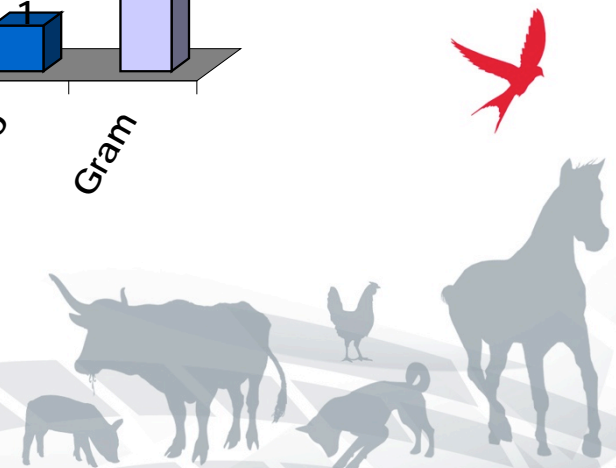
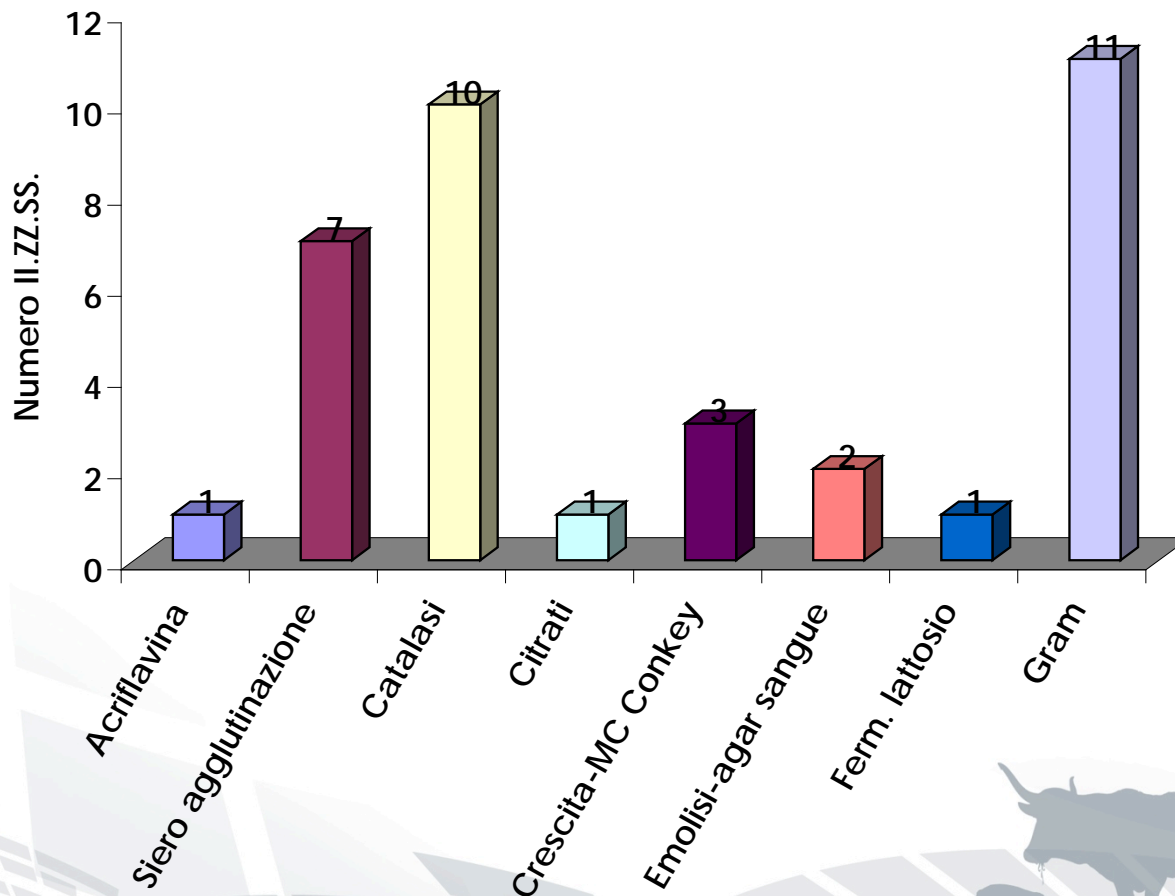
- L'isolamento di brucella viene realizzato nel 100% (12/12) degli Istituti sia su campioni di origine animale che su campioni di latte e derivati.
- L'identificazione di presunta brucella viene effettuata da tutti gli Istituti con le metodiche tradizionali.





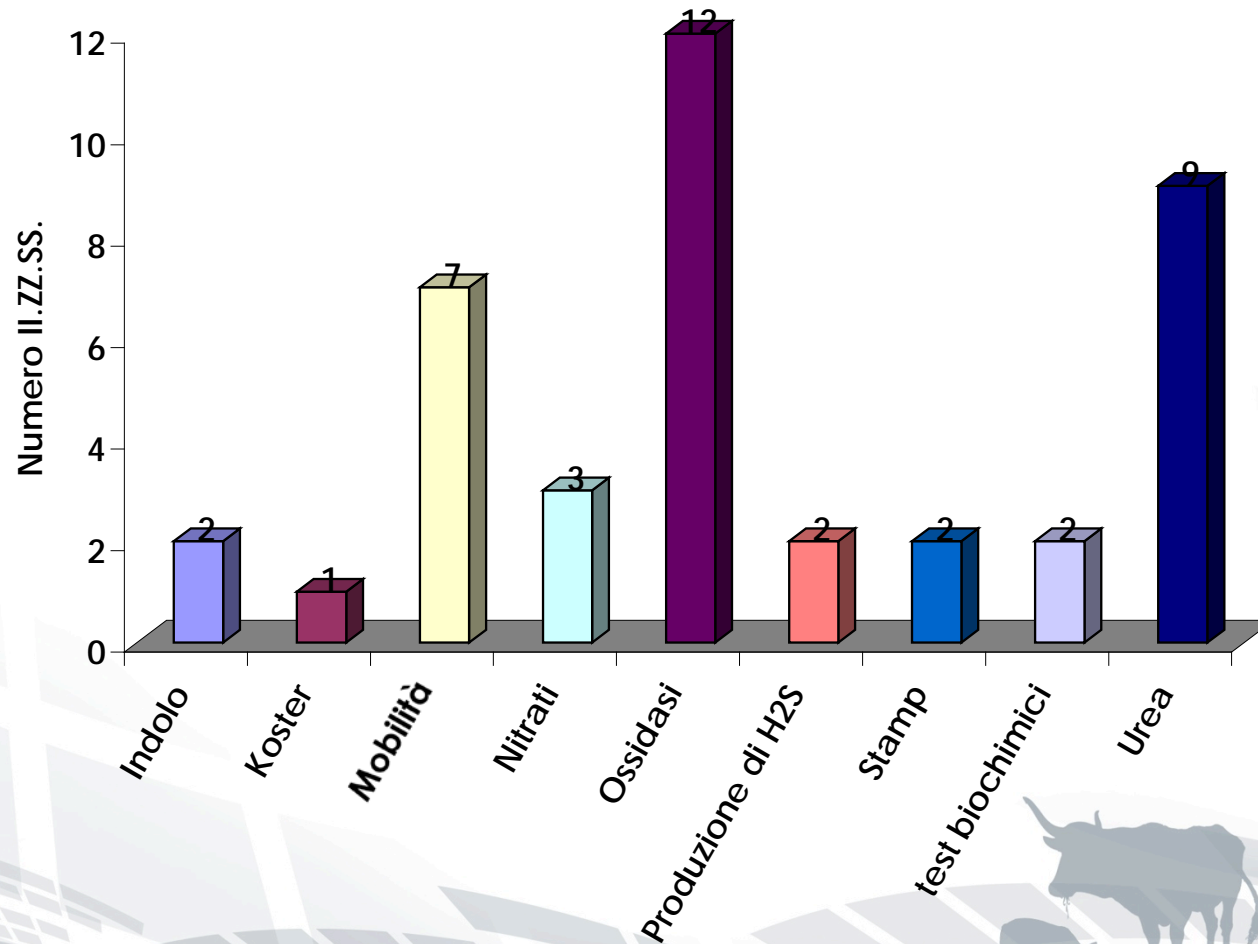
# Metodi identificazione

Identificazione di presunta brucella test convenzionali utilizzati-1



# Metodi identificazione

Identificazione di presunta Brucella test convenzionali utilizzati-2



# Attività svolte dal CNR

- Diagnosi sierologica e batteriologica
- Produzione di reagenti e controlli di qualità
- Prove interlaboratorio
- Consulenza e collaborazione
- Ricerca



# Esami Diagnostici

- Ricerca di anticorpi contro *Brucella abortus* e *melitensis* mediante SAR e FDC
- Elisa indiretta per la ricerca di anticorpi brucellari nel latte
- Elisa indiretta per la ricerca di anticorpi brucellari nel siero
- Diagnosi sierologica di *B. canis* mediante sieroaagglutinazione lenta
- Diagnosi sierologica di *B. ovis* mediante FdC



# Esami Diagnostici

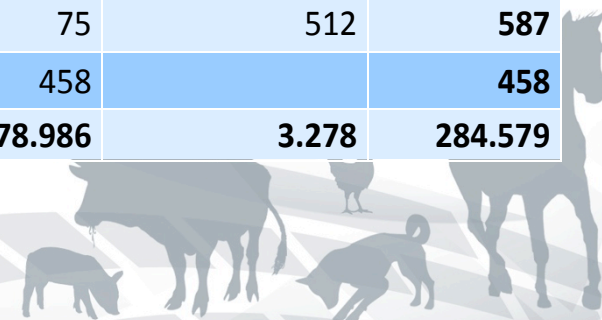
- Ricerca della *Brucella* spp. da materiale organico
- Ricerca di *Brucella* spp. nel latte, mozzarella e formaggio non stagionato mediante PCR
- Tipizzazioni
- PCR
- PCR RT





# Esami sierologici/batteriologicali 2011 CRN

METODO	PER	IMPORT EXPORT	RICERCA	PIANI REGIONALI (ABRUZZO E MOLISE)	ATTIVITÀ EXTRA REGIONALE	TOTALE
SAR	Ab	12	1.265	257.492	736	<b>259.505</b>
SAL - <i>B. canis</i>	Ab			35	38	<b>73</b>
FDC	Ab	12	1.051	19.117	743	<b>20.923</b>
FDC-RB51	Ab				596	<b>596</b>
FDC- <i>B. ovis</i>	Ab				31	<b>31</b>
i-ELISA	Ab		25		12	<b>37</b>
ELISA <i>B.suis</i>	Ab					<b>0</b>
c-ELISA	Ab			6	14	<b>20</b>
Isolamento	Ag			926	283	<b>1209</b>
PCR	Ag			827	313	<b>1140</b>
Avidina Streptavidina Biotina Complex	Ag					<b>0</b>
PCR-RFLP	Ag			75	512	<b>587</b>
Milk Ring test	Ab			458		<b>458</b>
<b>Totale</b>		<b>24</b>	<b>2341</b>	<b>278.986</b>	<b>3.278</b>	<b>284.579</b>



# Produzione di reagenti e controlli

## Per assicurare la qualità delle prove

- I reagenti usati sono prodotti da un produttore unico per l'intero territorio italiano
- Controlli degli antigeni e kit diagnostici
- Produzione e distribuzione di Siero nazionale standard, calibrato sull'OIESS, e controllo di sieri secondari.



# Controlli qualità (2011)

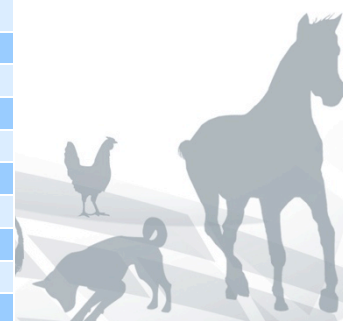
REAGENTI	NO. LOTTI CONTROLLATI	PRODUTTORE	NUMERO DI LOTTO
Antigene Rosa Bengala	2	IZS A&M - Teramo	9219 - 9220
Antigene brucellare per FDC	1	IZS LER - Brescia	
Antigene per Milk Ring Test	1	IZS A&M - Teramo	9408
cELISA kit (siero) B.mel. /abor.	1	IZS A&M - Teramo	KB0025
cELISA kit (siero) B.suis	1	IZS A&M - Teramo	KBS0010
iELISA kit (siero) bovino/ovino	0	IZS A&M - Teramo	
m-ELISA kit (latte bovino)	1	IZS A&M - Teramo	KBM0009
iELISA kit (latte bufalino)	1	IZS A&M - Teramo	KBBM0006
Sieri di controllo positivo	3	Sieri Bovino ed ovino di riferimento positivo inviati da IZS LER (Brescia), NSS (NRL), 2° SNS	SPB BS, SPO BS, 2° SNS
Brucellina B115	0	IZS A&M - Teramo	
Vaccino Rev.1	0	IZS Lazio e Toscana	
Brucellina RB51	0	IZS A&M - Teramo	





# Prodotti

TIPO di PRODOTTO	QUANTITA' PRODOTTA (ml)	QUANTITA' DISTRIBUITA (ml)
Antigene Rosa Bengala	188400	186040
Antigene Milk Ring Test	4240	280
Antigene <i>B. abortus</i> per FDC	0	200
Antigene <i>B. canis</i> per SAL	0	30
Antigene <i>B. ovis</i> estratto salino	0	18
Antigene LPS da <i>B. abortus</i> 99W	0	1
Antigene LPS da <i>B. suis</i> biotipo1	0	1
Antigene LPS da <i>B. suis</i> biotipo3	0	0
Antigene brucellare OPS da <i>B. abortus</i>	0	0
Brucellina B115	0	37.5
Brucellina RB51	0	37.5
Siero positivo <i>B. canis</i> da coniglio	0	1
Siero negativo <i>B. ovis</i>	340	0
Siero positivo per <i>B. ovis</i>	345	2
Siero Nazionale Standard positivo	0	246
Siero bovino positivo brucellosi	9010	1600
Siero bovino negativo brucellosi	4500	800
Siero suino positivo per <i>B. suis</i>	-	17
Siero suino negativo per <i>B. suis</i>	-	17
Latte bufalino negativo brucellosi	-	4
Latte bufalino debolmente positivo brucellosi	-	4
Latte bufalino fortemente positivo brucellosi	-	4
Ceppi di brucella liofilizzati	100 ml B abortus 3; 100 ml B abortus 6; 100 ml B melitensis 1	
Vaccino Rev 1		0
Vaccino Buck 19		0
<i>B. abortus</i> antibody test kit ELISA	13 kit 5 piastre	3
ELISA <i>Brucella abortus</i> bufalo milk	4 kit 5 piastre	2
ELISA <i>Brucella</i> milk	6 kit 5 piastre	2
ELISA <i>Brucella suis</i>	17 kit 5 piastre	0
Latte bovino negativo brucellosi	2250	300
Latte bovino debolmente positivo brucellosi	3750	150
Latte bovino fortemente positivo brucellosi	3750	150
2° Siero Nazionale Standard	5690	2



# Prove interlaboratorio



## Circuito prove sierologiche

- 74 laboratori della rete degli IZS italiani
- Direccion de Laboratorios (DILAB - SENASA), di Buenos Aires (Argentina)
- Central Veterinary Laboratory - Windhoek ( Namibia)
- National Veterinary Laboratory Gaborone (Botswana)
- NAHDIC - MOARD - SEBETA (Etiopia)

## Circuito prove batteriologiche

- Al circuito hanno partecipato 33 laboratori della rete degli IZS italiani.

I risultati sono elaborati in collaborazione con il COVEPI ed il rapporto finale è disponibile sul sito web dedicato ([www.izs.it /circuiti interlaboratorio](http://www.izs.it/circuiti_interlaboratorio)).







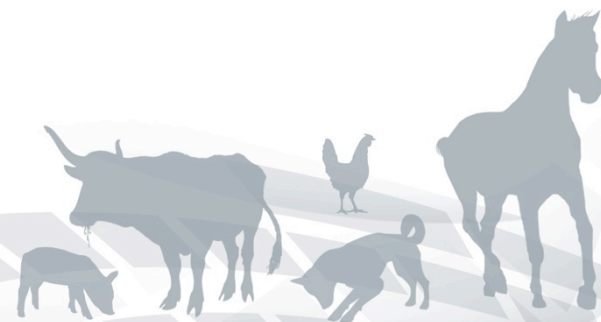
ISTITUTO G. CAPORALE  
TERAMO



CRN Brucellosi  
Centro di Riferenza Nazionale

# Partecipazione a RT (2011)

- al ring trial per valutare le performance dei test i-ELISA latte utilizzati dai laboratori europei organizzato dal Laboratorio di referenza europeo, ANSES (Maisons-Alfort, Francia)
- al circuito interlaboratorio organizzato dal laboratorio di riferimento OIE argentino per valutare le performance dei test FPA disponibili in commercio.





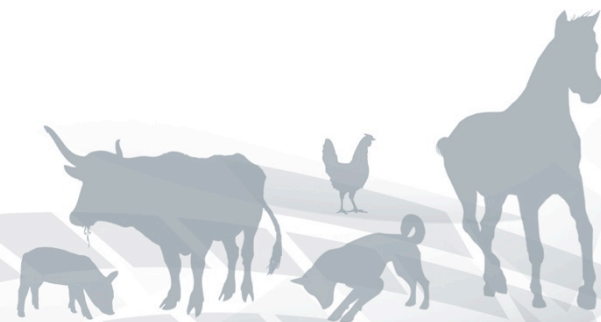


ISTITUTO  
TERAMO

# Esempi di collaborazioni e consulenze 2011

 **CRN Brucellosi**  
Centro di Riferenza Nazionale

- Attività per il controllo della brucellosi ovi-caprina nell'azienda sanitaria provinciale di Enna ;
- Verifica ispettiva presso i laboratori dell' IZS Lazio e Toscana Roma.
- Tavolo tecnico organizzato dal Ministero della salute DGSA Ufficio II per la revisione del testo della Ordinanza del Ministero della Salute del 14 novembre 2006.



# Epidemiologia



Gestione ed aggiornamento del Sistema Informativo del Centro Nazionale di referenza per le Brucellosi animali (in collaborazione con COVEPI):

- o pubblicazione dei riepiloghi trimestrali sull'andamento dei piani nazionali di eradicazione della brucellosi bovina, bufalina ed ovi-caprina nelle Regioni Sicilia, Calabria, Puglia, Campania di cui all'O.M. Tali riepiloghi trimestrali integrano i dati di laboratorio generati dagli Istituti Zooprofilattici Sperimentali con quelli di competenza dei Servizi Veterinari delle ASL ([https://brucellosi.izs.it/brucellosi/reportistica/report\\_periodico\\_view\\_end.do](https://brucellosi.izs.it/brucellosi/reportistica/report_periodico_view_end.do));
- o reportistica periodica per l'individuazione degli allevamenti e delle aree problema nell'ambito dei piani di eradicazione delle brucellosi animali in Sicilia.





## Centro di referenza nazionale per le Brucellosi

### Sistema Informativo della Brucellosi

versione 1.0 build 1.1.7

#### CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER LE BRUCELLOSI

Responsabili: Dott. Massimo Scacchia - Dott.ssa Manuela Tittarelli

Il Centro di Referenza Nazionale per le brucellosi è stato attivato presso la sede centrale dell'IZSAM con Decreto Ministeriale del 4 ottobre 1999.

Compiti specifici del Centro Nazionale di Referenza sono:

- conferma, ove previsto, della diagnosi di brucellosi effettuata da altri laboratori
- standardizzazione delle metodiche di analisi
- avviamento, in collaborazione con l'Istituto Superiore di Sanità, di idonei "ring test" fra istituti
- produzione, rifornimento, detenzione e distribuzione agli altri Istituti Zooprofilattici Sperimentali o agli altri enti di ricerca dei reagenti di referenza, quali antigeni, anticorpi e anti sieri
- utilizzo e diffusione dei metodi ufficiali di analisi
- organizzazione di corsi di formazione per il personale di altri Istituti Zooprofilattici Sperimentali
- fornitura agli altri Istituti Zooprofilattici Sperimentali e agli altri enti di ricerca delle informazioni relative alle novità nel settore specialistico
- predisposizione di piani di intervento
- collaborazione con altri Centri di Referenza comunitari o di Paesi Terzi
- fornitura al Ministero della Sanità di assistenza ed informazioni specialistiche

[Home](#)

[Legislazione](#)

[Cos'è la brucellosi?](#)

[Situazione epidemiologica](#)

[Documenti tecnici ed informazioni](#)

[Modulistica](#)

[Link](#)

[Circuito Interlaboratorio](#)

[Bibliografia Istituto "G. Caporale"](#)

[Bibliografia](#)

[Modalità alimentazione](#)

[Scheda Connessione Web Services](#)

[Autenticazione](#)

[Login](#)

# Sito web brucellosi



ISTITUTO G. CAPORALE  
TERAMO



CRN Brucellosi  
Centro di Referenza Nazionale

## Centro di referenza nazionale per le Brucellosi

### Sistema Informativo della Brucellosi

versione 1.0 build 1.1.7

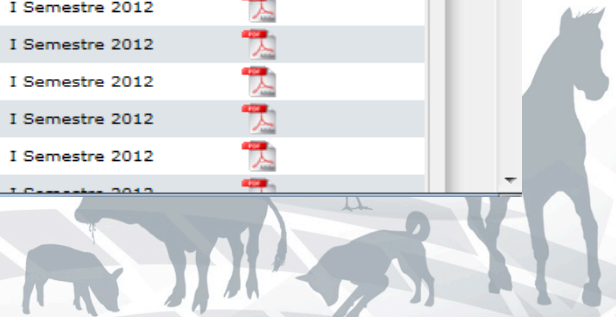
- Home
- Legislazione
- Cos'e' la brucellosi?
- Situazione epidemiologica
- Documenti tecnici ed informazioni
- Modulistica
- Link
- Circuito Interlaboratorio
- Bibliografia Istituto "G. Caporale"
- Bibliografia
- Modalita' alimentazione
- Scheda Connessione Web Services
- Manuale d'uso
- Logout

- Attività  
Diagnostica
- Tabelle  
Decodifica
- Amministrazione
- Report
- Mappe


25
Rows Displayed

Risultati trovati 195, Visualizzati da 1 a 25

Regione	Ausl	Descrizione	Specie	Periodo	Operazioni
Calabria		Ordinanza 14 Novembre 2006	Bovino	I Semestre 2012	
Calabria		Ordinanza 14 Novembre 2006	Bufalo	I Semestre 2012	
Calabria		Ordinanza 14 Novembre 2006	Ovicaprina	I Semestre 2012	
Campania		Ordinanza 14 Novembre 2006	Bovino	I Semestre 2012	
Campania		Ordinanza 14 Novembre 2006	Bufalo	I Semestre 2012	
Campania		Ordinanza 14 Novembre 2006	Ovicaprina	I Semestre 2012	
Puglia		Ordinanza 14 Novembre 2006	Bovino	I Semestre 2012	
Puglia		Ordinanza 14 Novembre 2006	Bufalo	I Semestre 2012	
Puglia		Ordinanza 14 Novembre 2006	Ovicaprina	I Semestre 2012	
Sicilia		Ordinanza 14 Novembre 2006	Bovino	I Semestre 2012	
Sicilia		Ordinanza 14 Novembre 2006	Bufalo	I Semestre 2012	
Sicilia		Ordinanza 14 Novembre 2006	Ovicaprina	I Semestre 2012	





 **CRN Brucellosi**  
Centro di Referenza Nazionale



 **Reference Laboratory**  
*Brucellosis*  
*Contagious Bovine Pleuropneumonia*  
*Bluetongue*

L'Istituto G. Caporale è stato riconosciuto dall'OIE  
Laboratorio di Referenza per le **Brucellosi** (1993)





# *Attività internazionali 2011*

- Twinning sulla brucellosi, organizzato dall'OIE, con il National Animal and Plant Health Laboratory (NAPHL, Asmara-Eritrea).
- Training workshop "Surveillance and control of animal brucellosis", organizzato nell'ambito del progetto "Implementation of surveillance, prophylaxis and contingency plans for brucellosis, tuberculosis, rabies, foot and mouth disease and anthrax in CIS countries", Teramo 14 - 16 Marzo 2011





# IZSAM 06/08 RC



Identificazione proteica del corredo antigenico di matrici batteriche”.

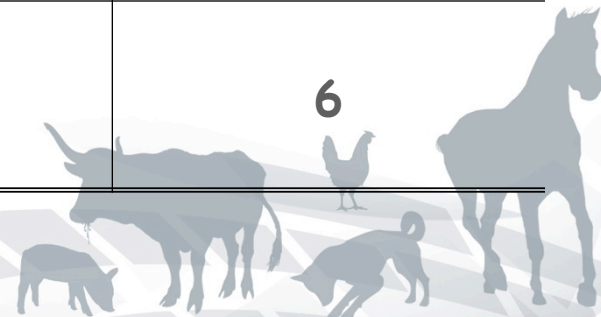
- Obiettivo per l'argomento *Brucella*:

Individuare antigeni proteici di membrana e citoplasmatici specifici per *Brucella suis*, da impiegare come epitopi target per lo sviluppo di sistemi diagnostici




# IZSAM 06/08 RC

	<i>B. suis</i> 1330 bv.1	<i>B. suis</i> 686 bv.3	<i>Yersinia</i> <i>enterocolitica</i>
Proteine totali identificate	103	114	82
Proteine comuni identificate	56	39	
Proteine immunogene da bibliografia	9	10	
Proteine comuni immunogene	6	6	



# IZSAM 03/09 RC



Studio delle dinamiche di contaminazione da agenti zoonotici nell'ambito della filiera suinicola e dei meccanismi di insorgenza di patologie correlate all'infezione nell'uomo".

- Obiettivo sull'argomento *Brucella*:

Determinare i livelli di contaminazione da *Campylobacter* termotolleranti, *Yersinia enterocolitica* e *Brucella suis* in:

- allevamento suino prelevando i campioni biologici presso gli impianti di macellazione;
- prodotti pronti per il consumo a base di carne suina acquistati presso punti vendita al dettaglio;

Definire le caratteristiche di resistenza di *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* e *Brucella suis* in prodotti pronti per il consumo a base di carne suina.



# Progetti di ricerca

“Sviluppo di metodi immunologici innovativi per la diagnosi della brucellosi suina”. (concluso).



# Ricerca in corso

EMIDA ERA-NET Project(2011): *Brucella melitensis*. biotyping and differential diagnostic (Bruc-mel).

Grecia/Israele/IZS Sicilia

Obiettivo del progetto è lo sviluppo di nuovi sistemi diagnostici, per il controllo della malattia nel Mediterraneo, in grado di discriminare sia le Brucelle dai batteri cross-reattivi, sia gli animali infetti dai vaccinati con Rev1.





# Ricerca

Il progetto prevede un approccio combinato basato sull'impiego di tecniche di proteomica, analisi genomiche e bioinformatiche di ceppi di riferimento, ceppi di campo e ceppi vaccinali di *B. melitensis* presenti nei paesi partner (Italia, Grecia e Israele).





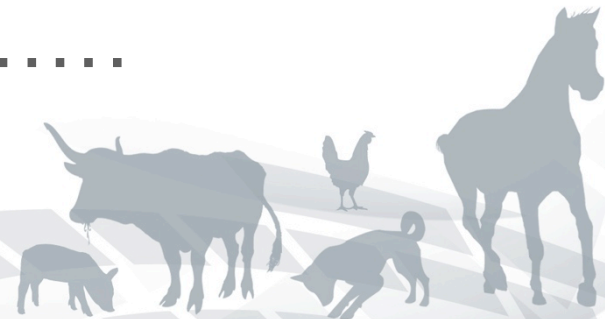
# Risultati attesi

- o Sviluppo di reagenti diagnostici LPS-free protein-based (Brucella recombinant protein antigens and specific Mabs) per aumentare la specificità diagnostica dei metodi sierologici.
- o Banca sieri e ceppi di *B. melitensis* caratterizzati epidemiologicamente
- o Analisi di omp2 gene by RFLP e DGGE.



# ...primi risultati dalla Grecia....

.....I have started checking some genes of immunogenic proteins: DNA-dependent RNA polymerase beta chain (rpoB), Copper/Zinc superoxide dismutase (sodC) και 50S ribosomal protein L7/L12 (rplL gene), ATP synthase subunit b and the results are quite interesting and promising. ...From 27.749 filed proteins of *B.melitensis*, they had created a dataset of 515 outer membrane proteins. ....





ISTITUTO G. CAPORALE  
TERAMO



CRN Brucellosi

Centro di Referenza Nazionale



***Grazie per l'attenzione***

