

# Piano di Attività Centro di Referenza Nazionale Paratubercolosi

## Anno 2008-2009

### Attività Diagnostica

#### **1) standardizzazione e validazione di metodiche analitiche**

Nel corso dell'anno si è proceduto alla **codifica** dei seguenti metodi di prova:

- Metodo di prova interno per la ricerca di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* tramite PCR in matrici di origine animale (MP 09/053, rev.0, data emissione 24.6.2009);
- Metodo di prova interno per la ricerca di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* tramite PCR nel latte (MP 09/054, rev.0, data emissione 24.6.2009);
- Metodo di prova interno per l'identificazione di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* da isolati batterici mediante PCR (MP 09/033, rev.0, data emissione 3.12.2008).

Si è proceduto inoltre alla **revisione** dei seguenti metodi di prova:

- Metodo di prova interno per la determinazione di anticorpi nei confronti di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* da sangue e latte tramite ELISA indiretta – kit ID VET (MP 04/022 rev.4, data emissione 22.10.2008);
- Metodo di prova normato per la diagnosi di Paratubercolosi – Immunodiffusione in gel di agar (O.I.E. Manual of diagnostic tests and vaccines) (MP 04/036 Rev.1, data emissione 17.10.2008).

E' **in corso** la stesura di un metodo per la tipizzazione molecolare di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* tramite PCR da ceppo batterico.

I metodi sono a disposizione degli altri Istituti, al fine di giungere ad una standardizzazione delle varie metodiche.

Numerosi IIZZSS hanno richiesto, nel corso dell'anno di attività, copia dei vari metodi di prova e delle schede relative ai terreni utilizzati nelle prove batteriologiche, nonché consulenza su problemi specifici riguardanti gli aspetti diagnostici.

Il CRN si occupa di una malattia la cui conferma diagnostica non è prevista da alcuna normativa.

Il CRN comunque riceve materiale biologico da vari IIZZSS per la conferma diagnostica.

#### **2) produzione e distribuzione di reagenti**

Sono a disposizione dei vari IIZZSS ed Università che ne fanno richiesta:

- sieri di animali infetti;
- feci di animali infetti;
- ceppi batterici;
- DNA di ceppi batterici.

In particolare nell'ultimo anno sono stati richiesti e distribuiti i seguenti materiali:

- Ceppi batterici e DNA di Map all'Università degli Studi di Milano;
- Feci di animali positivi e negativi all'Istituto Zooprofilattico della Sardegna (Sezione di Oristano).
- Ceppi di Map di campo tipizzati dal CRN all'IZS della Sardegna (Sezione di Sassari).

### 3) attività analitica

Nel periodo di riferimento l'attività di routine si è indirizzata alla diagnosi di infezione prevalentemente dalla specie bovina.

Sui campioni pervenuti sono stati eseguiti complessivamente **33.330 esami**, di cui:

sierologici	29.857
Microbiologici	2.681
PCR	792

I risultati non rivestono importanza epidemiologica, in quanto i campioni sono stati inviati al laboratorio per diverse finalità (animali con forma clinica, monitoraggi a tappeto in allevamenti di stato sanitario sconosciuto, campionamenti mirati ecc.). Si può comunque affermare che la Paratubercolosi, analogamente agli altri Paesi Europei, è una malattia molto diffusa sul nostro territorio, così come già messo in evidenza da precedenti indagini epidemiologiche realizzate dal CRN sul territorio della Regione Lombardia negli anni 2003-2005 (prevalenza stimata di aziende infette: 19,2%) e dell'Emilia Romagna nell'anno 2007 (prevalenza stimata di aziende infette: 10,7%).

### 4) circuiti interlaboratorio organizzati dal CRN

Sono stati organizzati dal CRN due circuiti interlaboratorio:

- 1 circuito per la diagnosi sierologica (ELISA e/o AGID), a cui hanno aderito 30 laboratori appartenenti a tutti (10) gli IIZZSS.

In occasione del ring test, il CRN ha organizzato una prova con lo scopo di verificare le performances diagnostiche dei vari kit commerciali.

I risultati di questo ring test saranno discussi con i partecipanti in occasione dell'incontro per gli IIZZSS che il CRN ha organizzato per i giorni 15 e 16 ottobre 2009 a Piacenza.

Il protocollo ed il report del ring test sono disponibili presso il CRN.

- 1 circuito per la diagnosi diretta (PCR e coltura), a cui hanno aderito:
  - PCR: 13 laboratori (8 IIZZSS);
  - Coltura: 10 laboratori (9 IIZZSS).

I risultati di questo ring test saranno discussi con i partecipanti in occasione dell'incontro per gli IIZZSS che il CRN ha organizzato per i giorni 15 e 16 ottobre 2009 a Piacenza.

Il protocollo ed il report dei ring test sono disponibili presso il CRN.

Dall'analisi dei risultati dei ring test si evidenzia un miglioramento delle performances analitiche complessive dei laboratori degli IIZZSS aderenti, sia relativamente alle

metodiche sierologiche, in particolare per la metodica AGID, che per i test di diagnosi diretta, sia mediante coltura che PCR.

### **5) ring test a cui ha partecipato il personale del CRN.**

Il CRN ha partecipato a:

- 3 prove interlaboratorio (ottobre 2008, gennaio 2009, luglio 2009), organizzate a livello europeo, per esame sierologico mediante ELISA e AGID (Ente organizzatore: QA Veterinary Laboratory Agency - UK). I risultati sono stati corretti nel 100% dei casi con entrambe le prove.
- 1 prova interlaboratorio (luglio 2009), organizzata a livello europeo, per PCR (Ente organizzatore: QA Veterinary Laboratory Agency - UK). I risultati sono stati corretti nel 100% dei casi.
- 1 prova interlaboratorio (agosto 2009), organizzata a livello europeo e relativa alla coltura (Ente organizzatore: QA Veterinary Laboratory Agency - UK). Le prove sono in corso.

## **Epidemiologia**

### **1) creazione banca dati**

Nulla da segnalare.

### **2) sviluppo e gestione di sistemi informativi;**

Non esistono al momento sistemi informativi organizzati, finalizzati alla raccolta di dati relativi alla paratubercolosi.

### **3) studio, sviluppo e gestione di sistemi di sorveglianza, verifica e controllo;**

#### ***3.a. Piano di Certificazione***

Il CRN ha partecipato alla stesura di un Piano di Certificazione per la Paratubercolosi, su richiesta dall'Associazione Allevatori della province di Milano e Lodi, in collaborazione con l'ASL di Lodi e di Milano. Tale Piano, a carattere volontario è stato approvato dall'ASL di Lodi (det. n.113 del 23/04/2007) e più recentemente dall'ASL di Milano (Det. n.20 del 02/04/2008). Il piano prevede test annuali mediante esame sierologico ELISA e/o colture fecali, in base ai quali l'allevamento viene categorizzato in 4 livelli, cui corrispondono livelli di garanzia crescente di assenza di infezione in allevamento.

Al piano hanno ad oggi aderito 28 aziende, di cui 12 hanno ottenuto la certificazione di primo livello. Il CRN partecipa attivamente alle riunioni periodiche del Comitato tecnico, organizzate per valutare i risultati del piano ed eventualmente proporre modifiche per migliorarne l'efficacia, nonché promuovere azioni di sostegno.

#### ***3.b Manuali per il Controllo della Paratubercolosi***

Sono stati messi a disposizione sul sito del CRN due *Manuali per il Controllo per la Paratubercolosi*, uno destinato agli allevamenti di vacche da latte e uno a quelli di

vacche da carne. I due Manuali ed il loro utilizzo sono stati illustrati nel corso di vari interventi pubblici.

#### **4) aggiornamenti epidemiologici sulle materie di competenza**

E' stata effettuata una indagine epidemiologica sulla prevalenza dell'infezione paratuberculare nei ruminanti selvatici dell'arco alpino in regione Lombardia. La prevalenza di infezione è risultata circa il 30% nei cervi e il 10% nei caprioli.

#### **Ricerca e sperimentazione**

##### **1) Progetti di ricerca finanziati dal Ministero della Salute (titolo, stato dell'arte dei lavori, ecc.)**

###### *Ricerca Corrente*

- Progetto di Ricerca Corrente IZS LER 01/06: "Messa a punto e attivazione di modelli di sorveglianza epidemiologica e gestione del rischio a livello di produzione primaria e di trasformazione in prodotti tradizionali del territorio" (Responsabile scientifico: Dr. P.Boni, IZS Brescia).

Stato dell'arte: il progetto è iniziato il 2.7.2007 e terminerà il 1.7.2010. Il CRN ha messo a punto i metodi diagnostici per la ricerca di Map dai formaggi. I metodi di diagnosi diretta (coltura e PCR end point/nested/real-time) sono stati validati mediante partecipazione ad un ring test europeo (ottobre 2007). Mentre per il test PCR i dati sono incoraggianti, il test colturale ha evidenziato due problematiche principali:

1. frequenti inquinamenti, dovuti sia alla flora microbica normalmente presente in alcuni tipi di formaggi
2. eterogenicità delle diverse matrici casearie, sia in termini di contenuto lipidico/proteico che di acqua. A tal proposito sono stati condotti numerosi esperimenti atti a determinare la metodica migliore per la rilevazione di MAP partendo da matrici casearie di diversa natura (formaggio Grana Padano, Italice e Caciotta).

Il Centro di Referenza è inoltre coinvolto nei seguenti Progetti di Ricerca Corrente di altri IZZSS, in cui fornisce attività di consulenza sulle metodiche analitiche ed eventuale attività di conferma:

- Progetto Ricerca Corrente LT 09/07: "La Paratubercolosi dei piccoli ruminanti: valutazione di strumenti diagnostici e studi genetici di popolazione" (Responsabile scientifico: Dr. L.De Grossi, IZS Rieti). La ricerca, iniziata il 1.9.2008, terminerà il 28.2.2010;
- Progetto Ricerca Corrente IZS VE 17/07: "Performance diagnostiche di kit ELISA commerciali per ricerca di anticorpi contro *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in aziende infette e negative del norddest d'Italia". (Responsabile scientifico Dr. N.Pozzato, IZS Verona). Il progetto si concluderà il 31.10.2009. Il Centro di Referenza ha partecipato al progetto organizzando, in occasione del ring

test sierologico, una valutazione delle performances dei 4 kit commerciali presenti in Italia, inviando i kit e campioni ad hoc a 10 laboratori appartenenti a 10 diversi IIZZSS. Il Centro di Referenza ha inoltre messo a disposizione dati di sensibilità su animali positivi a diverso grado alla coltura fecale. La ricerca, iniziata il 1.5.2008, terminerà il 30.4.2009;

- Progetto di ricerca corrente IZS SA 04/07: "PNA molecular beacon per il rilevamento sul campo di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* negli organismi acquatici di lagune ed acque poste nelle vicinanze di allevamenti bovini della Sardegna" (Responsabile scientifico: Dr. F.Salati, IZS Oristano); sono stati forniti ceppi di campo tipizzati dal CRN per la messa a punto delle metodiche analitiche. La ricerca, iniziata il 1.7.2008, terminerà il 31.12.2009;
- Progetto di ricerca corrente IZS PLV 10/08: "Approccio multi task finalizzato al controllo dell'infezione da *M.avium* subsp. *paratuberculosis*: valutazioni sull'efficacia diagnostica di un protocollo integrato e analisi dei fattori genetici di resistenza alla malattia (Responsabile scientifico: Dr. Maria Goria); la ricerca avrà inizio il 31.10.2009 e terminerà il 30.10.2012;
- Progetto di ricerca corrente IZS UM 11/08: "Messa a punto e validazione di nuovi allergeni da impiegare per gli accertamenti diagnostici in vivo ed in vitro per *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*" (Responsabile scientifico: Dr. Monica Cagiola). Il progetto è iniziato il 1.6.2009;
- Progetto di ricerca corrente IZS UM 07/08: "Indagine sulla prevalenza della Paratubercolosi in aziende da latte ed in centri genetici delle Regioni Umbria e Marche e predisposizione di protocolli per il contenimento della malattia in aziende infette e per la prevenzione della contaminazione del latte" (Responsabile scientifico: Dr. Paola Papa). Il progetto è iniziato il 1.6.2009 e terminerà il 31.5.2011;
- Progetto di ricerca corrente IZS SA 07/08: "Paratubercolosi dei ruminanti: definizione di protocolli diagnostici, studio della resistenza/suscettibilità genetica e della dinamica della escrezione di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) nel latte (Responsabile scientifico: Ciriaco Ligios). Il progetto è iniziato il 1.09.2009 e terminerà il 31.8.2011.

## **2) Progetti di ricerca finanziati da altri Enti (titolo, stato dell'arte dei lavori, ecc.)**

Continua la collaborazione con il Parco Tecnologico Padano, con uno studio sulla resistenza genetica del bovino nei confronti dell'infezione Paratubercolare e di correlazione della virulenza dei ceppi con le loro caratteristiche genotipiche.

## **3) Altre ricerche (titolo, stato dell'arte dei lavori, ecc.)**

- E' stata realizzata una collaborazione con l'Istituto Sperimentale Italiano "Lazzaro Spallanzani" e con la Facoltà di medicina veterinaria dell'Università degli Studi di Milano (Prof. P. Roncada, Prof. L. Bonizzi) per uno studio sulla proteomica nei bovini infetti da Paratubercolosi.

- E' in corso un progetto con il Policlinico IRCCS S.Matteo di Pavia (Dr. P.Marone), il Gruppo Policlinico di Monza (Prof . A. Giacosa) e l'Università di Milano (Prof. C. Bandi), dal titolo "Studio dell'infezione/colonizzazione da *Mycobacterium paratuberculosis* in pazienti con morbo di Crohn e in ruminanti".

### Aggiornamento e formazione professionale

#### **1) Corsi che il C. d. R. ha organizzato o a cui ha partecipato**

- Corso di aggiornamento ECM "La diagnostica di laboratorio in sanità animale" - (Paratubercolosi : Diagnosi di laboratorio, Docente: N.Arrigoni), organizzato dall'IZS Lazio e Toscana, a Firenze il 14.10.2008.
- Corso di aggiornamento ECM "Principi di base della PCR Real-time e sue applicazioni" (Studi di espressione genica tramite PCR Real-Time, Docente: M.Ricchi), organizzato dall'IZSLER, a Brescia il 2.12.2008.
- Corso di aggiornamento ECM "Introduzione teorico-pratica all'applicazione della metodica PCR (Polymerase Chain Reaction) (Docente: M.Ricchi), organizzato dall'IZSLER, a Piacenza, il 17 e 18 dicembre 2008.
- Corso di aggiornamento teorico pratico ECM: "Aggiornamenti su argomenti emergenti di sanità animale e sanità pubblica e relative metodiche diagnostiche" ("La paratubercolosi: aspetti clinici, epidemiologici e diagnostici. Potenziale ruolo zoonosico di *M.avium* subsp. *paratuberculosis* e possibile correlazione con morbo di Crohn". "Applicazione pratica di protocolli diagnostici, colturali e molecolari per la diagnosi della Paratubercolosi". Docente: N.Arrigoni), organizzato dall'IZSLER, a Pavia, il 6 maggio 2009.
- Corso di aggiornamento teorico pratico ECM: "Argomenti di Sanità Animale e Microbiologia Alimentare" ("*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: aspetti di sanità pubblica". "Aggiornamento sulle principali metodiche analitiche per il rilevamento di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*". Docente: N.Arrigoni) organizzato dall'IZSLER, a Piacenza, l'11 e 20 maggio 2009.
- Corso "Management, attualità e controllo di patologie emergenti nell'allevamento bovino e suino" ("Paratubercolosi bovina: aspetti di sanità animale e sanità pubblica", Docente: N.Arrigoni), organizzato dall'ordine dei Veterinari di Lodi, il 5 ottobre 2009.

#### **2) Convegni/congressi che il C. d. R. ha organizzato o a cui ha partecipato**

- Convegno ECM: "La paratubercolosi bovina: un problema sottovalutato?", organizzato dall'IZSUM a Perugia, il 28 maggio 2009.  
In questa occasione la Dr. Arrigoni ha effettuato 3 interventi:
  - "La diagnosi della Paratubercolosi bovina: l'attività degli IIZZSS e del Centro di Referenza Nazionale";
  - "La conoscenza della prevalenza intra-aziendale e dei fattori di rischio nelle aziende problema";

- "Aspetti di sanità pubblica: *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* come potenziale agente zoonosico".

Il Dr. G.L. Belletti ha effettuato 2 interventi:

- "Passato e presente della Paratubercolosi bovina"
  - "Possibili piani di intervento per il contenimento della paratubercolosi in aziende infette: simulazione di gestione in 2/ 3 allevamenti di bovini infetti".
- 10th International Colloquium on Paratuberculosis (9 – 15 agosto 2009, Minneapolis, Minnesota, a cui ha partecipato la Dr. Arrigoni, presentando 4 posters (vedi lavori pubblicati). In questa occasione è stata avanzata la candidatura di Parma come sede del 12 International Colloquium on Paratuberculosis. Il progetto per la realizzazione del Congresso, presentato al Board of Directors dalla Dr. N. Arrigoni, ha vinto il ballottaggio con l'Università di Utrecht (Olanda).
  - La Dr. Arrigoni ha partecipato alla tavola rotonda "Bacterial trigger in the etiology of Crohn's disease and other autoimmune and autoinflammatory diseases", organizzata a Brno, dal Centro di Riferimento OIE per la Paratubercolosi (Dr. Ivo Pavlik);
  - E' stata preparato il programma e predisposta la documentazione per l'accreditamento ECM del III Convegno Nazionale sulla Paratubercolosi, in programma per i giorni 15 e 16 ottobre 2009, organizzato dal Centro di Referenza Nazionale sulla Paratubercolosi, in collaborazione con il Centro di Referenza nazionale per la Formazione (IZSLER Brescia).

Il programma è di seguito riportato:

### 1° giornata

12.30 - 13.30: Registrazione dei partecipanti

13.30 - 14.00: Saluti del Direttore Generale

#### **Sessione I: Attualità sulla Paratubercolosi**

14.00 - 15.00: 10th International Colloquium on Paratuberculosis: focus sulla novità emergenti – N. Arrigoni

15.00 - 16.00: Diagnosi di Paratubercolosi: interpretazione del dato diagnostico – S. Nielsen

16.00 - 16.30: Coffee-break

16.30 - 17.30: Piani di controllo e di certificazione in Europa – S. Nielsen

17.30 - 19.00: Tavola rotonda. Attività di ricerca in campo diagnostico ed epidemiologico – Coordina: Dr. G.L. Belletti

19.00 - 19.30: Discussione

### 2° giornata

#### **Sessione II: Attività del Centro di Referenza**

8.30 - 9.30: Organizzazione e risultati ring test sierologico (ELISA e AGID) - M. Tamba

9.30 - 10.00: Organizzazione e risultati ring test diagnosi diretta (coltura) - N. Arrigoni

10.00 - 11.00: Organizzazione e risultati ring test diagnosi diretta (PCR) - M. Ricchi

11.00 - 11.15: Coffee break

11.15 - 13.00: Tavola rotonda. Prospettive per la ricerca: presentazione dei progetti - Coordina N. Arrigoni

13.00: Compilazione questionari e chiusura del convegno

### **3) comitati scientifici e gruppi di lavoro a cui ha partecipato il personale del C. d. R.**

- Comitato tecnico previsto dal Programma volontario di Certificazione per la Paratubercolosi bovina nella provincia di Lodi;
- Comitato tecnico previsto dal Programma volontario di Certificazione per la Paratubercolosi bovina nella provincia di Milano.

### **Consulenze, attività di docenza, collaborazioni nazionali**

#### **1) Consulenze richieste ad esterni**

- Nulla da segnalare.

#### **2) Consulenze e pareri tecnici forniti ad esterni**

- Il CRN ha fornito un parere al Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali, nella persona della Dr. Donatella Loni, relativamente ad un protocollo di certificazione dei torelli nei confronti della Paratubercolosi proposto da ANABIC (nostro Prot. N. 5054 del 18.2.2009).
- Il CRN ha fornito un parere al Parco dello Stelvio in merito alle catture di cervo ai fini di ripopolamento (nostro Prot. N. 4135 del 11.2.2009).
- Al CRN sono afferite numerose richieste telefoniche o via posta elettronica, da parte di altri IZZSS, per chiarimenti sulle metodiche diagnostiche e sulla gestione del problema in allevamento.
- Al CRN sono pervenute numerose richieste di chiarimento sull'interpretazione dei dati diagnostici e sulla gestione del problema in allevamento, da parte di veterinari liberi professionisti e AUSL di varie regioni italiane.

#### **3) Attività di docenza**

Nel corso del periodo di riferimento la Dr. N. Arrigoni ha svolto attività di docenza relativamente alla Paratubercolosi presso la "Scuola di Specializzazione in "Sanità animale, Allevamento e Produzioni Zootecniche", Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università degli Studi di Pisa, il 24.05.2009.

### **Consulenze e collaborazioni europee**

- Il CRN della Paratubercolosi è inserito come partner del progetto Europeo "Veterinary Network of Laboratories Researching into Improved Diagnosis and Epidemiology of Mycobacterial Diseases" (Co-ordination Action SSPE-CT-2004-501903-VENoMYC).

Nell'ambito del progetto il Dr. M. Ricchi ha effettuato una training mobility dal 19.01.09 al 23.01.09 presso il Friedrich-Loeffler-Institut (Federal Research Institute for Animal Health) a Jena (D), dove ha approfondito gli aspetti di tipizzazione molecolare dei ceppi di Map mediante tecniche Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit (MIRU) e la Variable-Number Tandem-Repeat - Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit (MIRU-VNTR).

La Dr. N. Arrigoni e il Dr. M. Ricchi hanno partecipato alla riunione finale del Progetto a Torino nei giorni 18 e 19 giugno 2009.

- E' in corso una collaborazione con l'Università di Copenhagen (Dr. S. Nielsen) per l'elaborazione dei dati raccolti dal CRN a fini epidemiologici sul territorio italiano.

### **Consulenze e collaborazioni internazionali**

Nulla da segnalare.

### **Pubblicazioni scientifiche e divulgative**

Vedi All. 5 (copia del frontespizio).

1. Arrigoni N, Belletti GL, Manini F, Galletti G, Gelmini L, Merialdi G, Renzi M, Tamba M (2008): Indagine sulla prevalenza della paratubercolosi bovina in Emilia-Romagna mediante test ELISA sul latte di massa, Journal of the Italian Association for Buiatrics, 3,2: 3-9.
2. Arrigoni N, Cammi G, Cerutti G, Manini F, Bersani A, Cavalli L, Fava M, Fea C, Fumi E, Guareschi F, Zioni O, Belletti GL (2008): Studio sulla persistenza di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* nei foraggi concimati con effluenti di allevamenti infetti. Journal of the Italian Association for Buiatrics, 3,2: 11-16.
3. Tamba M, Arrigoni N, Galletti G, Gelmini L, Merialdi G, Renzi M, Belletti G (2008): Confronto tra diversi protocolli di campionamento per la stima della prevalenza di paratubercolosi bovina mediante test ELISA sul latte di massa. Epidemiologia : strumenti per conoscere, agire e decidere in sanità pubblica veterinaria : IV Workshop nazionale di epidemiologia veterinaria : Università degli studi "Sapienza" : Roma, 11-12 Dicembre 2008: riassunti/ a cura di G.Scavia, S.Babsa e M.Sala – Roma: Istituto Superiore di Sanità , 2008 . - (ISTISAN congressi ; 08/C12). p 24-25.

### **Pubblicazioni in corso di stampa:**

1. Arrigoni N, Cammi G, Belletti GL (2009): Study on the persistence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) in field-dried hay fertilized with slurry from bovine infected herd. Proceedings of 10th International Colloquium on Paratuberculosis, August 9th-14th, 2009 Minneapolis (USA), in press.
2. Ricchi M, Taddei R, Barbieri I, Belletti GL, Pacciarini ML and Arrigoni N (2009): Typing of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) strains isolated from different Italian regions by four Variable-Number Tandem Repeat (VNTR) methods alone or in

- association. Proceedings of 10th International Colloquium on Paratuberculosis, August 9th-14th, 2009 Minneapolis (USA), in press.
3. Ricchi M, Manini F, Cammi G, Donaghy J and Arrigoni N (2009): Comparison of four different PCR methods for the detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in milk. Proceedings of 10th International Colloquium on Paratuberculosis, August 9th-14th, 2009 Minneapolis (USA), in press.
  4. Capello K, Arrigoni N, Bottazzari M, Chiavegato MG, Bonizzato S, Pozzato N (2009): Interlaboratory evaluation of four commercial ELISA kits for *M.avium* subsp. *paratuberculosis* antibody detection in bovine serum. Proceedings of 10th International Colloquium on Paratuberculosis, August 9th-14th, 2009 Minneapolis (USA), in press.
  5. Spaggiari B, Rugna G, Licata E, Frasnelli M, Barigazzi G, Gelmini L, Massi P, Renzi M, Ricchi M, Merialdi G. (2009): Wildlife fauna monitoring program in Emilia Romagna: health status of roe deer (*Capreolus capreolus*) population. II Convegno Nazionale Società Italiana Ecopatologia della Fauna, Torino, 15-17 ottobre 2009, 16.

### **Sito Web**

Il sito Web è stato attivato alla fine del 2008.

Al momento il sito contiene informazioni relativamente agli aspetti generali del problema e consente di scaricare informazioni e documenti (Manuali per il Controllo, Piani di certificazione, presentazioni realizzate in occasione di precedenti eventi formativi ecc).