



RELAZIONE ANNUALE

Centro di Referenza nazionale per la Paratubercolosi
IZSLER, Sede territoriale di Piacenza

(Periodo: dal 01.10.2019 al 30.09.2020)

Centro di Referenza Nazionale (C.R.N.) Paratubercolosi
Relazione sulla attività svolta dal 01.10.2019 al 30.09.2020

Attività Diagnostica

1) Standardizzazione e validazione di metodiche analitiche

Al fine di giungere ad una standardizzazione delle varie metodiche, il C.R.N. ha messo a disposizione l'elenco dei metodi di prova, validati ed emessi in qualità, all'interno del sito web dello stesso C.R.N.

Nella tabella seguente sono riportati i metodi di prova e le schede relative ai terreni utilizzati nelle prove batteriologiche, inviati nel periodo considerato ad IZZSS o altri Enti, a seguito di richieste specifiche.

IDENTIFICATIVO	REV	TITOLO	IZS O ALTRI ENTI ESTERNI	DATA INVIO
MP 04/022	8	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	IZSPLV	09/12/2019
MP 04/152	0	METODO DI PROVA INTERNO PER LA DETERMINAZIONE DI ANTICORPI NEI CONFRONTI DI Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis DA SIERO E PLASMA DI BUFALO E RUMINANTI SELVATICI TRAMITE ELISA INDIRETTA – KIT ID VET	IZSPLV	09/12/2019
MP 09/078	5	METODO DI PROVA INTERNO PER LA RICERCA DI MYCOBACTERIUM AVIUM SUBSP. PARATUBERCULOSIS TRAMITE REAL TIME PCR IN FECI, LATTE E TESSUTI	IZSSA	09/01/2020
MP 04/022	8	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	IZSVE	27/04/2020
PSV 04/022	2	PROTOCOLLO DI STUDIO E VALIDAZIONE 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	IZSVE	27/04/2020
RV 04/022	2	REPORT DI VALIDAZIONE 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	IZSVE	27/04/2020
MP 04/022	8	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	IZSLT	13/08/2020
PSV 04/022	2	PROTOCOLLO DI STUDIO E VALIDAZIONE METODO DI PROVA INTERNO PER LA DETERMINAZIONE DI ANTICORPI NEI CONFRONTI DI Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis DA SANGUE E LATTE TRAMITE ELISA INDIRETTA – KIT IDVET – REV. 8	IZSPLV	30/09/2020
RV 04/022	2	REPORT DI VALIDAZIONE METODO DI PROVA INTERNO PER LA DETERMINAZIONE DI ANTICORPI NEI CONFRONTI DI Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis DA SANGUE E LATTE TRAMITE ELISA INDIRETTA – KIT IDVET – REV. 8	IZSPLV	30/09/2020

E' frequente la richiesta di consulenza su problemi specifici riguardanti gli aspetti diagnostici, l'applicazione e l'interpretazione dei metodi di prova.

Relazione annuale 2019-2020 Centro di Referenza Nazionale Paratubercolosi - Documento prodotto in originale informatico e firmato digitalmente ai sensi del "Codice dell'amministrazione digitale" (Decreto legislativo n.82/2005)

Nel corso dell'anno di attività si è proceduto alla rivalidazione e/o revisione di nuovi metodi di prova:

IDENTIFICATIVO	REV	TITOLO	Data revisione
MP 04/022	8	METODO DI PROVA INTERNO PER LA DETERMINAZIONE DI ANTICORPI NEI CONFRONTI DI MYCOBACTERIUM AVIUM SUBSP. PARATUBERCULOSIS DA SANGUE E LATTE TRAMITE ELISA INDIRECTA – KIT ID VET	27/11/2019
MP 09/078	6	METODO DI PROVA INTERNO PER LA RICERCA DI Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis TRAMITE REAL TIME PCR IN FECI, LATTE E TESSUTI	05/03/2020

2) Produzione e distribuzione di reagenti

All'interno della Biobanca centralizzata IZSLER sono stoccati:

- campioni di siero positivi e negativi (ELISA e/o AGID) liofilizzati;
- campioni di latte positivi e negativi, liofilizzati;
- ceppi batterici tipizzati mediante metodica molecolare, appartenenti alle specie:
 - *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP);
 - *Mycobacterium porcinum* (agente di false positività in PCR-IS900 per MAP).

Sono inoltre a disposizione presso il C.R.N. altri materiali, necessari alla validazione dei metodi di prova, quali:

- campioni di feci di animali infetti e negativi;
- DNA di ceppi batterici;
- standard biomolecolari per qPCR.

Nel periodo considerato non sono stati richiesti materiali da parte di altri IZZSS, se non nell'ambito di specifici progetti di ricerca.

3) Attività analitica

La paratubercolosi non è una malattia per la quale è prevista la conferma da parte del C.R.N. Ugualmente, nel periodo considerato, il C.R.N. ha ricevuto per conferma diagnostica sierologica 8 conferimenti, per un totale di 76 campioni di siero di bufalo da IZSUM.

L'intera attività analitica, nel periodo di riferimento, è rimasta sostanzialmente stabile (-2% rispetto all'anno precedente), con una diminuzione dell'attività sierologica per i campioni non ufficiali, compensata da un aumento di attività delle prove di biologia molecolare.

Sui campioni pervenuti sono stati eseguiti complessivamente 39.500 esami, di cui:

	Non ufficiali	Ufficiali	Totale
PCR	1.036	419	1.455
Coltura	184	70	254
Esami sierologici	25.136	12.655	37.791
Totale	26.356	13.144	39.500

I risultati non rivestono importanza epidemiologica, in quanto i campioni sono stati inviati al laboratorio per diverse finalità (campionamenti ufficiali per acquisizione qualifica sanitaria, conferme diagnostiche su animali con sospetta forma clinica, monitoraggi a tappeto in allevamenti di stato sanitario sconosciuto, campionamenti nell'ambito di piani di risanamento).

4) Circuiti interlaboratorio organizzati dal C.R.N.

E' stato organizzato dal C.R.N. un circuito inter-laboratorio per la diagnosi indiretta (ELISA) su:

- 8 campioni di siero bovino
- 8 campioni latte bovino
- 8 campioni siero bufalino
- 8 campioni siero caprino

Al circuito hanno aderito 40 laboratori appartenenti ai 10 II.ZZ.SS presenti sul territorio nazionale.

I campioni sono stati spediti il 08.06.2020, con scadenza prevista per la restituzione dei risultati 07.07.2020.

Per la realizzazione del ring test è stato utilizzato il sito internet dell'IZSLER, con possibilità di iscrizione *online*, inserimento risultati, *upload* dei metodi di prova e *download* di protocolli e report.

Il C.R.N. ha provveduto alla pubblicazione sul sito IZSLER, nella sezione dedicata, dei seguenti documenti:

- tabella per la decodifica dei risultati entro 15 giorni dalla scadenza del ring test, al fine di provvedere prontamente alla correzione di eventuali non conformità;
- report completo entro 45 giorni dalla scadenza.

In generale i risultati del ring test sono risultati soddisfacenti.

L'accuratezza è infatti risultata:

- 1,00 per latte bovino e siero bufalino (per entrambi i kit impiegati, IDEXX e ID VET)
- 0,938 e 0,987 per il siero bovino, a seconda del kit impiegato (rispettivamente IDEXX e ID VET);
- 0,687 e 0,980 per il siero caprino, a seconda del kit impiegato (rispettivamente IDEXX e ID VET).

Da sottolineare come il basso valore di accuratezza ottenuto per il siero caprino per il kit IDEXX sia stato influenzato anche dall'esiguo numero di laboratori che lo hanno utilizzato. Questo risultato non permette robuste generalizzazioni dei risultati su questa matrice.

Inoltre, come previsto dalla procedura ISO 17043, a due laboratori sono stati nuovamente inviati i panel dei campioni su cui avevano ottenuto risultati non conformi, per poter ripetere la prova. I risultati del secondo invio sono risultati corretti al 100% per entrambi i laboratori.

5) Ring test a cui ha partecipato il personale del C.R.N.

Relazione annuale 2019-2020 Centro di Referenza Nazionale Paratubercolosi - Documento prodotto in originale informatico e firmato digitalmente ai sensi del "Codice dell'amministrazione digitale" (Decreto legislativo n.82/2005)

Il C.R.N. ha partecipato a:

- 1 prova inter-laboratorio (aprile 2020), organizzata a livello europeo, per esame sierologico su siero di sangue e latte bovino mediante ELISA (Ente organizzatore: GD Animal Health – Deventer, NE). I risultati sono stati corretti nel 100% dei casi.
- 1 prova inter-laboratorio (febbraio 2020), organizzata a livello europeo, per coltura e PCR su feci (Ente organizzatore: QA Veterinary Laboratory Agency - UK). I risultati sono stati corretti nel 100% dei casi.

Epidemiologia

1) Creazione banca dati

Il C.R.N. ha scelto di non attivare proprie Banche Dati, e di utilizzare il Sistema informativo Veterinario Nazionale (Vetinfo) per la raccolta dei dati relativi al patrimonio delle specie suscettibili, alle qualifiche sanitarie e ai focolai di malattia segnalati dalle ASL. A tale proposito si segnala come apparentemente non vi sia congruenza tra il numero di aziende con qualifica “Allevamento con casi clinici (PTC)” ed il numero di focolai di malattia registrati in SIMAN.

2) Sviluppo e gestione di sistemi informativi

A seguito dell'adozione delle Linee guida sulla paratubercolosi, è stata implementata all'interno del Sistema Informativo Veterinario (<https://www.vetinfo.sanita.it/>) la funzionalità per la gestione informatica delle attività previste dalle Linee Guida, in particolare per la registrazione di:

- casi clinici, ai fini della certificazione per l'esportazione nei Paesi terzi che richiedono l'assenza di casi clinici;
- qualifica sanitaria assegnata all'allevamento nella Anagrafe Bovina (BDN).

3) Studio, sviluppo e gestione di sistemi di sorveglianza, verifica e controllo

3.a. Linee guida (nazionali) per l'adozione di Piani di controllo e per l'assegnazione della qualifica sanitaria degli allevamenti nei confronti della paratubercolosi bovina

Le “Linee guida per l'adozione di Piani di controllo e per l'assegnazione della qualifica sanitaria degli allevamenti nei confronti della paratubercolosi bovina”, approvate in Conferenza Stato Regioni il 17 ottobre 2013 (G.U. 19.11.2013), prevedono la segnalazione obbligatoria dei casi clinici di Paratubercolosi e l'adesione volontaria ad un sistema di classificazione del rischio, basato sugli esiti di esami sierologici eseguiti secondo protocolli codificati.

Gli allevamenti negativi possono volontariamente aderire al Piano di Certificazione, mentre gli allevamenti infetti possono applicare, sempre volontariamente, un Piano di Controllo, basato sull'adozione di misure di biosicurezza e di opportuni test diagnostici.

Di seguito viene riportato lo stato di applicazione delle Linee Guida a livello Nazionale, ove risulta il recepimento formale da parte di tutte le Regioni.

Viene inoltre riportato il riferimento al relativo documento di recepimento.

Regione	Riferimento
Abruzzo	Determinazione n. DG 21/206 del 21.11.2013
Basilicata	Deliberazione della Giunta Regionale 17 novembre 2015, n. 1476
Calabria	Decreto del Commissario ad Acta n.47 del 21/05/2015
Campania	Deliberazione della Giunta Regionale n. 657 del 30/12/2013
Emilia-Romagna	Deliberazione della Giunta Regionale N. 2100 del 30/12/2013
Friuli Venezia Giulia	Deliberazione della Giunta regionale N. 916 del 15/05/2015
Lazio	Decreto del Commissario ad acta n. U00109 del 28/03/2014 Determinazione N. G02603 del 13/03/2015, Proposta n. 3168 del 05/03/2015 Linee guida Regionali per l'adozione di piani di controllo e per l'assegnazione della qualifica sanitaria degli allevamenti bovini e bufalini nei confronti della paratubercolosi.
Liguria	Deliberazione della Giunta Regionale n. 644 del 30/05/2014
Lombardia	DDGN N°6845 del 18/07/2013 Piano regionale di controllo e certificazione nei confronti della paratubercolosi bovina
Piemonte	Deliberazione della Giunta Regionale n. 15-7093 del 10/02/2014
Marche	Deliberazione della Giunta Regionale n. 116 del 3/10/2016
Molise	Decreto della Giunta regionale n.66 del 5.12.2016
Puglia	Deliberazione della Giunta Regionale n. 2567 del 30/12/2013
Sardegna	Deliberazione della Giunta Regionale N. 27/10 del 15.7.2014
Sicilia	Decreto Assessoriale 23/02/2015
Toscana	Deliberazione della Giunta Regionale n. 1103 del 16/12/2013
Trentino-Alto Adige	Provincia di Trento: Deliberazione n. 2702 del 20/12/2013 Provincia di Bolzano: Decreto N. 31.12/514378 DEL 15/12/2014 Piano di controllo nei confronti della paratubercolosi in Provincia di Bolzano.
Umbria	Deliberazione della Giunta Regionale n. 819 del 7 luglio 2014
Valle d'Aosta	Deliberazione della Giunta Regionale n. 14 del 10/1/2014
Veneto	Deliberazione della Giunta Regionale n. 2836 del 29/12/2014, ALLEGATO C Piano di miglioramento dello stato sanitario negli allevamenti della Regione Veneto nei confronti della paratubercolosi.

Da rilevare che:

- 2 Regioni hanno recepito le linee guida limitatamente alla segnalazione dei casi clinici (Provincia di Bolzano - con indennizzo - e Veneto).
- Tutte le altre Regioni hanno recepito integralmente le linee guida.

A 5 anni dalla loro emanazione, il C.R.N. ha elaborato una proposta di modifica/integrazione delle Linee Guida Nazionali, che ha trasmesso al Ministero in data 9.10.2018 (prot. 30699/2018). Il Ministero ha inviato il documento alle Regioni sollecitando eventuali osservazioni, richieste di modifica e integrazione. Il C.R.N. ha puntualmente risposto alle osservazioni delle Regioni Emilia Romagna, Lombardia, Veneto, Piemonte, pervenute il 13.11.2019, accogliendole in gran parte attraverso opportune revisioni delle Linee guida. Il documento recante le Linee guida revisionate è stato inviato al Ministero in data 24.3.2020. Il Ministero ha risposto in data 08.10.2020 con ulteriori richieste di modifica/integrazione da parte delle Regioni Umbria e Campania, che sono state prese in considerazione dal C.R.N. per la versione finale del documento, inviato al Ministero della Salute (Prot.21898 del 26.10.2020) per la presentazione in Conferenza Stato Regioni.

Le modifiche proposte e le relative motivazioni sono di seguito riportate.

- La specie bufalina è stata esplicitamente inserita nel campo di applicazione del Piano.
- Art.1. E' stata eliminata la possibilità di utilizzo dei campioni di latte per l'attribuzione della qualifica sanitaria, data la minore robustezza del dato riscontrato sul latte rispetto

al dato riscontrato sul sangue. Il test sierologico sul latte infatti risulta maggiormente influenzato dallo stadio di lattazione, risultando meno sensibile e ripetibile rispetto al dato sul sangue. Si conferma peraltro la possibilità di utilizzo del latte per l'applicazione di piani di autocontrollo aziendali.

- Art. 3. Data la sottonotifica evidente dei casi clinici, si è introdotta la raccomandazione di effettuare visite cliniche periodiche negli allevamenti per la rilevazione dei segni tipici della malattia, con frequenza minima definita dalle Regioni, tenendo conto delle attività pianificate negli allevamenti (ad es. sfruttando i controlli di stalla per la Tuberculosis per i quali è necessario catturare singolarmente tutti gli animali dell'allevamento).
- Allegato 2. Sono state introdotte alcune modifiche sostanziali ai criteri di attribuzione delle qualifiche sanitarie. In particolare:
 - per l'attribuzione della qualifica si è ritenuto di sostituire il prelievo campionario (S1) con il prelievo di tutti i capi di età superiore a 36 mesi (S2). L'approccio secondo il protocollo S1 era stato introdotto inizialmente per limitare gli oneri a carico degli aderenti, ma si ritiene che l'applicazione del protocollo S2, già peraltro applicato volontariamente dalla maggior parte degli allevamenti, essendo più sensibile, eviti la comparsa di positività inattese in fasi successive, che potrebbero demotivare l'allevatore, causando la perdita della qualifica e l'uscita dal piano.
 - per il mantenimento della qualifica è stato mantenuto il protocollo S1, ad eccezione degli allevamenti con qualifica PT1 per i quali è necessario applicare il protocollo S2 per una gestione più efficace degli animali infetti.
 - per tutte le qualifiche (invece che per i soli livelli PT3-PT5 come previsto da versione originale delle Linee guida) è stata prevista la possibilità per l'allevatore di richiedere una conferma diagnostica dei capi sieropositivi mediante PCR dalle feci, purché la sieroprevalenza risulti inferiore al 3%. Questo ha lo scopo di chiarire e approfondire i casi di sospette false positività dei test sierologici (comparsa di sieropositività in allevamenti ripetutamente negativi o a bassissima prevalenza). La comparsa di positività in allevamenti precedentemente ripetutamente negativi ha infatti costituito una causa di abbandono del piano da parte di alcuni allevamenti. La conferma mediante PCR di almeno un campione comporta la conferma della presenza di infezione in allevamento; in questo caso tutti i capi sieropositivi sono considerati infetti anche se negativi alla PCR. La conferma mediante PCR è prevista solo in caso di applicazione del protocollo S2, sia per acquisizione che per mantenimento qualifica.
 - è stata introdotta la raccomandazione di non eseguire i prelievi per le analisi sierologiche nei tre mesi successivi all'esecuzione della prova intradermica per la profilassi della tubercolosi, che potrebbe essere causa di reazioni falsamente positive.

Relativamente allo stato di applicazione delle qualifiche previste dalle Linee Guida, si riportano di seguito i dati relativi alle qualifiche degli **allevamenti bovini** presenti in BDN al 30.09.2020 per le singole Regioni (numero di allevamenti e relativa qualifica).

Regione	PTC	PT0	PT1	PT2	PT3	PT4	PT5	Senza qualifica	Totale complessivo	% con qualifica
ABRUZZO								4178	4178	0%
BASILICATA		28		4				2724	2756	1%
CALABRIA								8873	8873	0%
CAMPANIA		403						10239	10642	4%
EMILIA ROMAGNA	13	5394	34	53	12	5	5	1007	6523	85%
FRIULI VENEZIA GIULIA				2				2232	2234	0%
LAZIO		1	12	16	1	1		12099	12130	0%
LIGURIA		583	3	8				482	1076	55%
LOMBARDIA	1	4368	866	609	135	84	93	9462	15618	39%
MARCHE	2	636	14	19	2	3		2837	3513	19%
MOLISE								2494	2494	0%
PIEMONTE	3	8774	265	447	193	141	47	2128	12005	82%
PUGLIA		140						3985	4125	3%
SARDEGNA	1	7803	49	1				1513	9367	84%
SICILIA	8	3154		310				7538	11010	32%
TOSCANA		5		3				3780	3788	0%
P.A. BOLZANO		7972						243	8215	97%
P.A. TRENTO		182	123	785	179	77	2	219	1567	86%
UMBRIA				2				3244	3246	0%
VALLE D'AOSTA		1		1627				374	2002	81%
VENETO	1	966		434				13413	14814	9%
ITALIA	29	40410	1366	4320	522	311	147	93064	140176	34%

Di seguito si riportano i dati relativi alle qualifiche degli **allevamenti bufalini** presenti in BDN al 30.09.2020 per le singole Regioni (numero di allevamenti e relativa qualifica).

Regione	PT0	PT1	PT2	Totale allev con qualifica	Senza qualifica	Totale complessivo	% con qualifica
ABRUZZO				0	14	14	0%
BASILICATA	2			2	22	24	8%
CALABRIA		1		1	19	20	5%
CAMPANIA	89			89	1216	1305	7%
EMILIA ROMAGNA	13			13	10	23	57%
FRIULI VENEZIA GIULIA				0	28	28	0%
LAZIO		2		2	711	713	0%
LIGURIA	1			1	3	4	25%
LOMBARDIA	22	10		32	64	96	33%

MARCHE	19			19	76	95	20%
MOLISE				0	11	11	0%
PIEMONTE	15			15	14	29	52%
PUGLIA	3			3	66	69	4%
SARDEGNA	3			3	1	4	75%
SICILIA	4			4	20	24	17%
TOSCANA				0	19	19	0%
TRENTINO - ALTO ADIGE (BZ)	2			2		2	100%
UMBRIA			1	1	34	35	3%
VENETO	3			3	134	137	2%
ITALIA	176	13	1	190	2462	2652	7%

Di seguito viene riportato lo stato di applicazione e le relative problematiche rilevate nelle quattro regioni a maggiore vocazione zootecnica (Lombardia, Emilia-Romagna, Piemonte, Veneto) e nella provincia autonoma di Trento.

3.b. Piano regionale di controllo e certificazione nei confronti della Paratubercolosi bovina in Regione Lombardia

La Regione Lombardia ha anticipato la pubblicazione delle *Linee guida nazionali* con l'approvazione di un Piano Regionale, pubblicato sul Bollettino Ufficiale Regione Lombardia del 24 luglio 2013.

Il "Piano regionale di controllo e certificazione nei confronti della Paratubercolosi bovina" (D.d.g.s 6845/2013) è rivolto a fornire indicazioni circa le modalità di certificazione del latte i cui derivati siano destinati all'esportazione verso paesi terzi ed è stato redatto secondo le indicazioni delle Linee guida Nazionali.

L'assegnazione della qualifica sanitaria agli allevamenti avviene su richiesta dell'allevatore (richiesta di adesione al piano). Ricevuta la richiesta, i servizi veterinari della ASL effettuano una visita clinica in allevamento con cadenza annuale, in base alla quale viene assegnata la qualifica PTC o PTEX del piano lombardo. La qualifica PTEX corrisponde alla qualifica PT0 delle linee guida nazionali con l'azione aggiuntiva della visita clinica. La visita clinica non solo permette di individuare eventuali casi clinici non ancora notificati, ma rappresenta anche un'occasione di formazione e sensibilizzazione dell'allevatore.

La richiesta di una qualifica sanitaria volontaria (PT1, PT2, PT3, PT4 e PT5) avviene in seguito ad un'ulteriore istanza (richiesta di qualifica).

Nelle province di Cremona, Brescia e Bergamo, la formazione degli allevatori e la sensibilizzazione dell'industria di trasformazione ad opera di IZSLER, in collaborazione con le ASL e i veterinari liberi professionisti, hanno portato ad una buona adesione al piano.

Ad oggi hanno aderito al Piano 4.325 allevamenti (in lieve aumento rispetto ai 4.252 dell'anno precedente), pari al 72.6% del totale degli allevamenti da riproduzione e al 27.7% del totale.

Di questi, 2.670 hanno raggiunto la qualifica PTEX (assenza di casi clinici a seguito di una visita clinica in allevamento e assenza di segnalazioni nei precedenti 12 mesi), pari al 61.7%

degli allevamenti aderenti al Piano. La qualifica PTEX1 è necessaria agli allevamenti conferenti latte per la trasformazione in prodotti destinati all'esportazione in Paesi che richiedono garanzie sanitarie nei confronti della Paratubercolosi.

Per quanto riguarda le qualifiche superiori:

- 866 allevamenti (in aumento rispetto ai 777 dell'anno precedente) hanno raggiunto la qualifica PT1 (allevamenti a basso rischio);
- 609 allevamenti (in aumento rispetto ai 588 dell'anno precedente) hanno ottenuto la qualifica PT2 (allevamento negativo);
- 312 hanno ottenuto la qualifica di allevamento certificato (in aumento rispetto a 249 dell'anno precedente), rispettivamente 135 PT3, 84 PT4 e 93 PT5.

In Regione Lombardia nell'anno 2020 si conferma un trend positivo del numero di aziende che richiede e acquisisce le qualifiche rispetto agli anni precedenti (2014-2019). Questo risultato è stato ottenuto grazie al ruolo attivo delle ASL e di IZSLER, che hanno coinvolto i caseifici maggiormente interessati all'export e organizzato incontri tra rappresentanti dell'industria di trasformazione, allevatori afferenti, veterinari ASL e liberi professionisti.

3.c Piano regionale di controllo e assegnazione delle qualifiche sanitarie nei confronti della Paratubercolosi bovina in Regione Emilia Romagna

La Regione Emilia-Romagna ha recepito integralmente le *Linee guida nazionali* approvate in Conferenza Stato-Regioni con la Delibera di Giunta n. 2100/2013, pubblicata sul Bollettino Ufficiale Regione Emilia-Romagna del 16 gennaio 2014.

Successivamente, con Determina del Responsabile del Servizio Veterinario e Igiene degli Alimenti n. 5302 del 16 aprile 2014, sono state date indicazioni operative ai servizi sull'applicazione del piano di controllo regionale. In tale atto era previsto che la Regione avrebbe chiesto a BDN l'assegnazione della qualifica PT0 (senza casi clinici) a tutte le aziende bovine con riproduttori, lasciando ai Servizi Veterinari ASL il compito di aggiornare la qualifica.

Ad oggi non è stata organizzata un'attività di promozione regionale del piano, con l'eccezione della provincia di Piacenza dove il C.R.N. ha coinvolto attivamente alcuni caseifici, gli allevamenti conferenti e i rispettivi veterinari aziendali.

A differenza di altre regioni, dove per l'assegnazione della qualifica sanitaria il prelievo deve essere eseguito da veterinari AUSL, in Emilia-Romagna, seguendo le indicazioni regionali, il prelievo può essere eseguito anche da veterinari liberi professionisti, purchè l'invio al laboratorio IZS sia accompagnato dall'elenco delle marche auricolari.

3.d Piano regionale di controllo e assegnazione delle qualifiche sanitarie nei confronti della Paratubercolosi bovina in Regione Veneto

La Regione Veneto ha recepito le *Linee Guida nazionali* limitatamente alla segnalazione dei casi clinici.

L'IZSVE fornisce consulenza alle aziende infette che vogliano intraprendere piani aziendali volontari di controllo ed ha predisposto delle Linee Guida per ridurre il rischio di contaminazione del latte nelle aziende infette, disponibili al link:

http://www.izsvenezie.it/images/stories/Pdf/Temi/LG_in_VET2_paratubercolosi.pdf

3.e Piano regionale di controllo e assegnazione delle qualifiche sanitarie nei confronti della Paratuberculosis bovina in Piemonte

Con la D.G.R. n. 15-7093 del 10/02/2014, la Regione Piemonte ha recepito le linee guida del Ministero della Salute, e successivamente, in data 17/04/2014 ha trasmesso alle ASL le relative istruzioni operative.

Rispetto a quanto indicato dalle Linee Guida Nazionali sono state previste le seguenti azioni supplementari:

- il prelievo di conferma su sospetto clinico rilevato al macello
- la visita clinica su tutti gli allevamenti da riproduzione non aderenti al piano volontario per l'assegnazione delle qualifiche sanitarie di base (PT0/PTC).

Per incentivare le adesioni, il prelievo viene eseguito dai Servizi Veterinari a titolo gratuito nelle aziende aderenti al piano regionale di controllo della rinotracheite infettiva, e in possesso di qualifica (allevamento IBR indenne o negativo).

Nel periodo ottobre 2019 – settembre 2020 i controlli per la qualifica e la certificazione hanno riguardato 1.106 allevamenti aderenti al Piano, corrispondenti al 12,3% degli allevamenti da riproduzione (in lieve aumento rispetto al 12,1% dell'anno precedente); negli allevamenti aderenti risulta presente il 24% del patrimonio bovino degli allevamenti da riproduzione.

Le aziende aderenti sono per circa il 75% della tipologia produttiva linea vacca-vitello, e il 30% pratica l'alpeggio.

La percentuale degli allevamenti negativi (qualifiche dal PT2 al PT5) registra un lieve incremento rispetto al periodo precedente, con un incremento significativo delle qualifiche di più alto livello PT4-PT5.

Su 46.481 capi controllati (+6% rispetto al periodo precedente), 596 sono risultati sieropositivi e 17 dubbi (complessivamente pari all'1,31 dei controllati vs. 1,78% dell'anno precedente).

Le aziende da riproduzione non aderenti al Piano sono state sottoposte con cadenza annuale a visita clinica per l'attribuzione della qualifica PT0 o PTC.

I casi clinici confermati sono stati quattro, in tre allevamenti.

Si conferma una situazione epidemiologica significativamente più favorevole negli allevamenti di piccole dimensioni. Infatti, è risultato negativo all'accertamento diagnostico (qualifiche da PT2 a PT5) circa l'86% delle aziende controllate di consistenza fino a 50 capi, mentre in quelle con un numero di capi presenti superiore la percentuale di aziende negative corrisponde al 55%.

Nelle aziende da carne è stata riscontrata una situazione meno favorevole, in relazione alle maggiori difficoltà nell'applicazione delle misure di controllo ed al rischio elevato determinato dalla pratica dell'alpeggio.

3.f Piano regionale di controllo e assegnazione delle qualifiche sanitarie nei confronti della Paratubercolosi bovina nella Provincia Autonoma di Trento

A partire dal 2018, con l'adozione della Delibera della Giunta Provinciale n.33 del 18.1.2018, si è passati da una attività di monitoraggio ufficiale su tutti gli allevamenti, alla adozione di un piano volontario, basato sul controllo di tutti i bovini di età superiore a 36 mesi (protocollo S2) mediante test ELISA su sangue.

Sono previsti inoltre:

- il controllo in compravendita su capi di età superiore a 24 mesi destinati ad allevamenti aderenti al piano, mediante test sierologico su sangue.
- limitazioni per lo spostamento in alpeggio dei capi positivi ai test diagnostici, a meno che non siano separati efficacemente dai capi di altri allevamenti.

Le "Linee guida nazionali per l'adozione di Piani di controllo e per l'assegnazione della qualifica sanitaria degli allevamenti nei confronti della paratubercolosi" non prevedono l'utilizzo del latte di massa per l'acquisizione e/o per il mantenimento delle qualifiche, ma solo l'analisi sierologica individuale; il latte di massa infatti, sia da risultati ottenuti dal C.R.N. che da dati raccolti dall'IZSVE, non consente la rilevazione di allevamenti a bassa prevalenza.

Da registrare l'autorizzazione dal parte del Ministero della Salute, previa relazione favorevole del Servizio Veterinario della Provincia autonoma di Trento, all'utilizzo di un vaccino commerciale spento adiuvato in due allevamenti di capre con alta prevalenza di infezione.

3.g Manuali per il Controllo della Paratubercolosi

Sono a disposizione sul sito del C.R.N. due *Manuali per il Controllo per la Paratubercolosi*, uno destinato agli allevamenti di vacche da latte

(http://www.izsler.it/izs_bs/allegati/443/Allegato%201%20A_MANUALE_latte_Rev_1.pdf)

e uno a quelli di vacche da carne

(http://www.izsler.it/izs_bs/allegati/443/Allegato%201_B_MANUALE_carne_Rev_1.pdf).

I Manuali ed il loro utilizzo sono stati illustrati nel corso di vari interventi pubblici e sono inseriti nelle "Linee guida per l'adozione dei piani di controllo e per l'assegnazione di della qualifica sanitaria nei confronti della paratubercolosi".

Nell'anno in corso è stata realizzata una brochure informativa/divulgativa dal titolo "Paratubercolosi nella capra: conoscerla per combatterla", destinato ad allevatori e veterinari. La brochure verrà presentata in occasione del webinar sulla paratubercolosi nell'allevamento caprino il 30.10.2020 e successivamente caricata sul sito del centro di referenza nazionale.

4) Aggiornamenti epidemiologici sulle materie di competenza

Il nuovo Regolamento (UE) 2016/429 (“Animal Health Law”), e il relativo Regolamento di Esecuzione (UE) 2018/1882, definiscono che la Paratubercolosi sia annoverata tra le malattie di categoria E, per le quali è necessario da parte degli Stati Membri attivare un sistema di sorveglianza.

4.a Raccolta di dati di diffusione di infezione sul territorio italiano

I dati riportati nella tabella seguente, raccolti nel corso degli anni precedenti, sono quelli attualmente disponibili, relativamente al **patrimonio bovino**.

E' da rilevare che le indagini eseguite mediante test ELISA su sangue individuale mostrano una prevalenza di allevamenti infetti superiore rispetto a quelle che hanno utilizzato il test ELISA su latte di massa, perché la sensibilità della prima metodica di rilevazione adottata è decisamente superiore rispetto alla seconda, che consente la rilevazione solo degli allevamenti a prevalenza intra-aziendale medio-alta.

Regione	Anno	Prevalenza apparente aziende	Prevalenza apparente animali	Metodologia	Riferimento bibliografico
Veneto	2002	64.6%	3.5%	ELISA individuale siero	Pozzato et al, 2011
Lombardia	2003-2005	43.7%	2.6%		Lillini et al., 2005
Lazio	2002	42.0%	2.5%		Papa et al., 2011
Umbria e Marche	2008	52.8%	4.6%		
Piemonte	2007-2008	9.47%	N.D.	ELISA latte massa	(comunicazione personale)
Emilia-Romagna	2011-2012	14.5%	N.D.		PRC2005/003
Lombardia	2017	56,0%	1,9%	ELISA individuale siero	Arrigoni et al, 2018
Provincia Trento	2019	18,7%	2,0%		Dellamaria (comunicazione personale)

Relativamente al **patrimonio ovi-caprino**, si riportano di seguito i dati disponibili e la relativa fonte.

Regione	Anno	Prevalenza apparente aziende	Prevalenza apparente animali	Test	Riferimento bibliografico
Sicilia	2015	64,2% ovini 56,9% caprino	3,6%	ELISA individuale	Fiasconaro, 7° Congresso nazionale sulla Paratubercolosi
Piemonte	2017	40,0% caprini	3,0%		Gennero (comunicazione personale)
Puglia	2019	Capra 82,2% Pecora 44,8% Capra-Pecora 73,9%	Capra 15,7% Pecora 2,8% Capra-Pecora 9,9% Pecora – capra 3,7%		Iarussi (2019)

		Pecora – capra 61,2%			
Provincia Trento	2019	Caprini 19,7%	Caprini 4.0%		Dellamaria (comunicazione personale)

Si rileva una elevata prevalenza di aziende infette, in particolare nel patrimonio caprino, che risulta essere particolarmente sensibile all'infezione, come già precedentemente segnalato in letteratura.

Relativamente al **patrimonio bufalino**, si riportano di seguito i dati che sono stati presentati in occasione del 51° Congresso Nazionale della Società italiana di Buiatria (vedi pubblicazioni su atti di congressi).

Regione	Anno	Prevalenza apparente aziende	Prevalenza apparente animali	Metodologia	Riferimento bibliografico
Campania	2016-2018	54,7%	1,8%	ELISA individuale	De Carlo et al. (in corso di pubblicazione)

4.b Dati sui focolai

Le Linee Guida nazionali hanno definito che i casi clinici di Paratubercolosi bovina debbano essere registrati in SIMAN. I dati relativi ai casi clinici registrati in SIMAN sono i seguenti:
Allevamento con qualifica PTC assegnata nell'anno

Regione	2014	2015	2016	2017	2019	2020	TOTALE
Emilia-Romagna	1	1	1		2	1	6
Lombardia					1		1
Piemonte	7	7	2			3	19
Marche				2			2
Sardegna	2	2	2	2		1	7
Toscana	1						1
Trento	6	4	2				12
ITALIA	17	14	7	2	3	5	48

(Fonte: SIMAN: Dati aggiornati al 30/09/2020)

Da sottolineare una scarsa segnalazione di casi clinici rispetto alla diffusione della malattia sul territorio nazionale, e la mancanza di allineamento con il numero di allevamenti con qualifica PTC, possibilmente dovuti a erroneo o mancato inserimento dei dati nei due database.

Gli allevamenti con qualifica PTC nel periodo considerato sono infatti 29, a fronte di 5 focolai registrati in SIMAN. Tutte le segnalazioni riguardano allevamenti bovini, mentre non si sono registrate segnalazioni per l'allevamento bufalino.

Ricerca e sperimentazione

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

Ricerca Corrente come Capofila

Progetto di ricerca corrente IZS LE 2018/011: "Studio sulla sopravvivenza di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* al processo di produzione della mozzarella ottenuta da latte vaccino e bufalino" (Responsabile scientifico M. Ricchi). Il progetto ha avuto inizio il 31.10.2019 e terminerà il 30.05.2021 (Progetto prorogato). *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) è sospettato di essere coinvolto nell'eziopatogenesi del morbo di Crohn, del diabete di tipo I, della sarcoidosi, della sclerosi multipla e della tiroidite di Hashimoto. Pur non essendo stato provato definitivamente il suo ruolo zoonotico, questo non è mai stato escluso (EFSA Regulation (EU) N. 2016/429). A tal proposito, il consumo di latte e prodotti lattiero-caseari è considerato la principale via di esposizione umana a MAP e molti studi hanno rilevato la presenza sia di DNA che del batterio vitale nei formaggi venduti al dettaglio. Poiché MAP non è in grado di crescere in vitro o al di fuori dell'ospite in assenza della presenza di siderofori specifici (mycobactin), la sua concentrazione nel prodotto trasformato può solo diminuire. Lo studio è rivolto a determinare la concentrazione iniziale di MAP presente nel latte e verificare l'efficacia delle fasi di produzione e conservazione del formaggio nella inattivazione di MAP. Si ritiene che il punto critico nel processo di produzione della mozzarella sia la fase di riscaldamento e filatura della cagliata in acqua ad alta temperatura (da 65 a 80 °C), come precedentemente osservato per altri patogeni (ad es. *E. coli*, *A. butzleri* e *L. monocytogenes*). Per questo motivo, in un primo momento, si sta valutando l'impatto di questa fase sulla sopravvivenza di MAP. In accordo con il programma, il primo anno è stato dedicato alla messa a punto delle colture per la contaminazione dei prodotti e delle metodiche per la ricerca di MAP dal prodotto durante le fasi di trasformazione. In particolare, sono stati realizzati due esperimenti con MAP e due con *M. smegmatis*, per la determinazione delle condizioni di omogeneizzazione della cagliata ideali per consentire la valutazione ottimale della sopravvivenza dei micobatteri durante il processo tecnologico. I risultati parziali indicano una notevole variabilità nella sopravvivenza di MAP dopo l'esposizione ai differenti trattamenti (temperatura e tempo di esposizione). La sperimentazione è stata interrotta a causa del lockdown nazionale, che ha anche ostacolato l'acquisizione del personale e l'esecuzione delle prove sperimentali di challenge; per questo è stata chiesta una proroga, oltre a quella di 5 mesi concessa dal Ministero, di ulteriori 7 mesi.

Progetto di ricerca corrente IZS LE 2019/010: “Rischio di infezione da paratubercolosi al pascolo: contributo di ruminanti domestici e selvatici” (responsabile Scientifico C. Garbarino). Il progetto ha avuto inizio il 20/12/2019 e terminerà il 19/05/2022 (Progetto prorogato). Nel corso del primo anno di attività, nonostante l'emergenza Covid, è stato rispettato il calendario previsto: sono state portate a termine le Fasi 1 (messa a punto della scheda di raccolta dati e della struttura del Dataset); 2 (definizione campionamento); 3 (campionamento e invio campioni) e iniziata la fase 4 (esecuzione analisi PCR e colture). E' stata effettuata una riunione in remoto con tutte le UUOO per illustrare i risultati raggiunti. Sono state individuate maggiori percentuali di positività nelle feci di cervo rispetto a quelle di bovino, percentuali che risultano comunque contenute in tutte le aree. Si è rilevato inoltre che la positività è abbastanza distribuita, essendo presente in 11 aree su 21 sottoposte a campionamento. Sono in corso le colture dalle feci risultate positive al test PCR.

Ricerca Corrente come Unità Operativa

Il C.R.N. è coinvolto come Unità Operativa nei seguenti Progetti di Ricerca Corrente, in cui, oltre ad eseguire attività specifica nell'ambito dei vari progetti, fornisce agli altri IZZSS consulenza sulle metodiche analitiche ed eventuale attività di conferma:

- Progetto di ricerca corrente IZS LE 2014/013: “Epidemiologia ed ecosistema dei Micobatteri presenti in Italia: *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, *Mycobacterium microti*” (Responsabile scientifico: M.L. Pacciarini). Il progetto ha avuto inizio il 1.11.2015 ed è terminato il 31.10.2019 (Progetto prorogato). MAP è un organismo caratterizzato da una lenta crescita e da scarsa variabilità genetica. Uno degli obbiettivi del progetto è stato quello di seguire la naturale evoluzione di questo microorganismo in condizioni naturali. A tal fine, ceppi isolati da vacche provenienti dalla stessa azienda nell'arco di diversi anni (2012 - 2016) sono stati sottoposti ad analisi Whole Genome Sequencing (WGS). Il DNA da 43 ceppi è stato isolato e sottoposto ad analisi WGS. Il primo step eseguito su questi isolati di campo è stato quello di analizzare 13 loci mini- e micro-satelliti, in cui si è dimostrato come tutti i ceppi mostrassero un identico profilo. L'analisi WGS ha dimostrato un elevato grado di omogeneità genomica fra i ceppi sequenziati, infatti non sono state ritrovate nè delezioni, nè inserzioni all'interno del genoma di questi isolati di campo. Tuttavia, è stato possibile riconoscere almeno 7 SNPs (pos7, pos33, pos68, pos43, pos53, pos37 e pos19) informativi, presenti cioè in almeno due isolati. L'analisi filodinamica utilizzando un approccio di tipo bayesiano (eseguita utilizzando la suite Beast2) ha mostrato una struttura evolutiva coerente della popolazione di ceppi, suggerendo l'ipotesi che un singolo evento infettivo (unico clone) abbia originato l'infezione nella mandria. Attraverso questa analisi è stato anche possibile indicare una possibile data di infezione, tuttavia, ancorché tale data sia stata confermata da informazioni anamnestiche, gli intervalli di confidenza sono troppo ampi per garantirne un margine di credibilità sufficiente. Inoltre, l'analisi filo-dinamica ha

mostrato come i ceppi di MAP si siano evoluti in maniera indipendente rispetto al loro ospite. Infatti dallo stesso ospite sono stati isolati ceppi appartenenti a differenti clusters, ma d'altra parte ceppi del medesimo cluster sono stati trovati in più ospiti. Ulteriori analisi, eseguite utilizzando specifici software di clusterizzazione, hanno permesso di chiarire come l'ipotesi più probabile sia quella di una coinfezione e non di un processo evolutivo. I dati parziali ottenuti nell'ambito del progetto sono stati presentati come comunicazione orale al XVIII congresso SIDILV (vedi pubblicazioni su atti di congressi). I risultati conclusivi sono stati utilizzati per un lavoro scientifico, recentemente inviato alla rivista *Veterinary Microbiology* (in corso di revisione).

- Progetto di ricerca corrente IZS PLV 2014/109: "Dalla genetica all'epigenomica: studio delle interazioni DNA-proteina e modificazioni della cromatina in modelli di malattie infettive animali" (Responsabile scientifico: S. Peletto). Il progetto è iniziato il 1.10.2015 e terminerà il 31.03.2020 (progetto prorogato).
- Progetto di ricerca corrente IZS PLV 2015/104: "Paratubercolosi caprina: strategie per la gestione sanitaria degli allevamenti e salubrità della Robiola di Roccaverano" (Responsabile scientifico: M.S. Gennero). Il progetto è iniziato il 1.11.2016 e terminerà il 31.10.2020 (progetto prorogato).
- Progetto di ricerca corrente IZS SA 2017/108: "Automazione e validazione di un test fagico per la rilevazione di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) in campioni clinici di bovini". (Responsabile scientifico: A.Ruiu). Il progetto è iniziato il 01.12.2017 e terminerà il 30.11.2020 (progetto prorogato).
- Progetto di ricerca corrente IZS PLV 2018/05 RC: "Valutazione del profilo immunitario delle cellule T nella diagnosi precoce della malattia di Johne's" (Responsabile scientifico: M.S. Gennero). Il progetto è iniziato il 20.12.2018 e terminerà il 19.12.2020.
- Progetto di ricerca corrente IZS PLV 2018/06 RC: "Titolo del progetto: L'interpretazione dei dati di sequenziamento dell'intero genoma nello studio delle dinamiche d'infezione di *M. bovis* e *M. paratuberculosis*: quanto si adatta l'approccio matrice SNPs?" (Responsabile scientifico: M. Goria). Il progetto è iniziato il 20.12.2018 e terminerà il 19.12.2020.

Ricerca Finalizzata

Il C.R.N. ha partecipato come Unità Operativa alla call dell'anno 2019 (PI Paola Mollicotti, Azienda Ospedaliera Universitaria Sassari). Il progetto presentato, da titolo "*Quantum dots nanotechnology to implement diagnosis of Paratuberculosis*", si prefiggeva di innovare il rilevamento di MAP mediante un nuovo approccio nano-tecnologico basato sulla tecnologia Quantum-dots, in grado di rilevare MAP nel latte e altri prodotti lattiero-caseari, contribuendo a raccogliere dati sul possibile coinvolgimento di MAP nell'eziopatogenesi di alcune malattie dell'uomo (sclerosi multipla, diabete di tipo 1 e malattia di Crohn). Il test sviluppato doveva essere utilizzato in associazione a tecniche molecolari, in particolare alla digital PCR, su alimenti per l'uomo (latte e derivati in particolare), contribuendo a fornire informazioni sul possibile coinvolgimento di MAP nelle fasi precoci dello sviluppo delle

suddette malattie dell'uomo con componenti eziopatogenetiche autoimmuni. Il progetto ha totalizzato un punteggio di 22 punti e non è pertanto stato finanziato.

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

- Accordo di collaborazione con IZS Mezzogiorno (Capofila: dott. Esterina De Carlo, responsabile Centro di riferimento Nazionale sull'igiene e le tecnologie dell'allevamento e delle produzioni bufaline, Sezione Diagnostica di Salerno) per l'esecuzione di un Piano di monitoraggio sulla prevalenza della paratubercolosi nella popolazione bufalina della regione Campania e per la valutazione dell'applicabilità del Piano Nazionale alla specie bufalina. Nel periodo 2016-2018 sono stati analizzati, mediante kit ID-Vet (Montpellier, France), 201.175 sieri di animali di età > 24 mesi, provenienti da 995 aziende delle province di Salerno (286) e Caserta (709), rappresentativi di oltre il 90% della popolazione regionale. La Sieroprevalenza apparente (SAP) inter-aziendale è risultata pari al 54,7% (IC95% 51,5-57,8%). A livello di singolo capo, la SAP è risultata pari all'1,8%. I dati di SAP intra- ed inter-aziendale risultano sovrapponibili a quelli osservati nella specie bovina e le performances dei test sierologici adeguate alla specie. Suddividendo le aziende in base alla SAP intra-aziendale in 3 classi (negativi; prevalenza ≤5%; prevalenza >5%), si rileva come il 90,2% degli allevamenti potrebbero accedere alle qualifiche di PT2 (allevamento negativo, 45,3% delle aziende) o basso rischio (PT1, 44,9% delle aziende). In conclusione, in regione Campania la malattia è diffusa negli allevamenti bufalini, con valori di SAP sovrapponibili a quelli rilevati negli allevamenti bovini in Italia. Le performances dimostrate dal test ELISA ne hanno confermato la validità per l'utilizzo nell'ambito dei piani di controllo. Inoltre, le Linee guida sono risultate applicabili, oltre alla specie bovina, anche a quella bufalina, utilizzando gli stessi test diagnostici e gli stessi strumenti di valutazione del rischio. Questi dati sono stati presentati al 51° Congresso Nazionale della Società Italiana di Buiatria (vedi pubblicazioni su atti di congressi) ed utilizzati per la stesura di una pubblicazione scientifica che è stata presentata alla rivista "Journal of Dairy Science" (in corso di revisione).

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

- Accordo di collaborazione scientifica (data avvio 8.3.2016; data scadenza 7.3.2020) con il Parco Tecnologico Padano, per lo studio delle caratteristiche genomiche di MAP, attraverso l'analisi dell'intero genoma, utilizzando metodiche Next generation Sequencing (NGS).
- Material Transfer Agreement con l'Istituto Spallanzani di Roma (data avvio 16.11.2016; data scadenza 15.11.2021). L'obiettivo del progetto è valutare l'uso della tecnologia MALDI-TOF per l'identificazione di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) e un suo eventuale impiego nella sub-tipizzazione dei ceppi.

- Accordo di collaborazione scientifica (data avvio 14.12.2017; data scadenza 13.12.2020) con Università di Milano, Dipartimento di Medicina Veterinaria, Reparto Anatomia Patologica, finalizzato allo studio delle malattie da Micobatteri negli animali. Nell'ambito di questa collaborazione è stato realizzato un lavoro scientifico relativo ad un focolaio di paratubercolosi in orici allevati presso il Parco delle Cornelle (BG). I risultati dello studio sono stati presentati al XLIII Convegno nazionale AIE (vedi pubblicazioni in atti di congressi) ed utilizzati per un lavoro scientifico, pubblicato sulla rivista "Animals" (vedi pubblicazioni).
- Accordo di collaborazione scientifica (data avvio 20.12.2018; data scadenza 19.12.2021) con Università di Milano, Dipartimento di Medicina veterinaria, Centro clinico veterinario e zootecnico sperimentale (Lodi), finalizzato allo studio delle Micobatteriosi negli animali.
- Material transfer agreement (data avvio 13.11.2018; data di scadenza 12.11.2020) con l'Università degli Studi di Bari "Aldo Moro" per la cessione campioni di sieri e feci di campo, positivi e negativi e ceppi di campo di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*.

Aggiornamento e formazione professionale

- **Corsi che il C.R.N. ha organizzato o a cui ha partecipato**
 - Nulla da segnalare
- **Convegni/congressi che il C.R.N. ha organizzato o a cui ha partecipato**
 - Il C.R.N. (N. Arrigoni, S. Russo) ha partecipato al XIX Congresso Nazionale S.I.Di.L.V., Matera, 23-25 ottobre 2019 con due contributi (vedi atti di congressi):
 - Cammi G, Ricchi M, Galiero A, Daminelli P, Cosciani-Cunico E, Dalzini E, Losio MN, Cerutti G, Garbarino C, Arrigoni N. "Valutazione della sopravvivenza di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) durante il processo produttivo dei formaggi Parmigiano Reggiano e Grana Padano" (poster).
 - Butot S, Ricchi M, Sevilla IA, Michot L, Molina E, Tello M, Russo S, Arrigoni N, Garrido J, Tomas D. "Performance dei metodi analitici per la ricerca di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* nel latte" (poster).
 - Il C.R.N. (C.Garbarino) ha partecipato al XLIII Convegno AIE, Catania, 23-25 ottobre 2019, con un contributo (vedi atti di congressi):
 - Arrigoni N, Pigoli C, Guadagnini D, Ricchi M, Bonacina E, Russo S, Gibelli LR, Garbarino CA. "Isolamento di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in un gruppo di orici dalle corna a sciabola (*Oryx dammah*) in un parco del Nord Italia" (poster).

- Il C.R.N. (N. Arrigoni) ha partecipato al 51° Congresso nazionale Società italiana Buiatria, Parma, 7-8 novembre 2019, con un contributo (vedi atti di congressi):
 - De Carlo E, Ricchi M, Galletti G, Martucciello A, Pesce A, Russo S, Galiero A, Gamberale F, Russo M, Sannino E, Garbarino CA, Cammi G, Arrigoni N. "Paratubercolosi nel bufalo: risultati di uno studio di siero-prevalenza in regione Campania" (comunicazione orale).

Per l'anno oggetto di rendicontazione era prevista la partecipazione al 15th International Colloquium on Paratuberculosis, che avrebbe dovuto avere luogo a Dublino, dal 14 al 18 giugno 2020. A causa della situazione sanitaria mondiale dovuta alla pandemia da COVID-19, il congresso è stato rimandato al 6-9 aprile 2021.

- **Comitati scientifici e gruppi di lavoro a cui ha partecipato il personale del C.R.N.**
 - Il C.R.N. (N. Arrigoni) ha partecipato al comitato tecnico scientifico del 15th International Colloquium on Paratuberculosis.

Consulenze, attività di docenza, collaborazioni nazionali

1) Consulenze richieste ad esterni

Nulla da segnalare

2) Consulenze e pareri tecnici forniti ad esterni

- Nel periodo considerato non sono stati richiesti al C.N.R pareri da parte di esterni (Ministero, Regioni, altri Enti).
- Il C.R.N. è impegnato, in collaborazione con l'Università degli studi di Bologna, per la realizzazione di un piano di controllo e certificazione nei 64 allevamenti conferenti ad un caseificio della Calabria (Assolac).
- Nel periodo considerato il C.R.N. (C. Garbarino, tutor e correlatore della tesi) è stato coinvolto nella tesi di laurea di Elisa Carisetti (Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Medicina Veterinaria, Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie delle Produzioni Animali), discussa in remoto in data 14/07/2020. Titolo della Tesi: "L'importanza della motivazione dell'allevatore per migliorare le strategie di prevenzione delle malattie ed il raggiungimento degli obiettivi: l'esempio della paratubercolosi".

Attività di docenza

- Il C.R.N. (Dr. C. Garbarino) ha svolto attività di docenza al Corso di Laurea Magistrale in Scienze delle Tecnologie delle Produzioni Animali, Corso di gestione dei piani di Profilassi, presso la Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano, con una relazione dal titolo: "Paratubercolosi: linee guida per l'adozione di piani di controllo e assegnazione della qualifica sanitaria agli allevamenti e piano di gestione sanitaria", il 21.11.2019.

Consulenze e collaborazioni europee

- E' stato stipulato un accordo di collaborazione scientifica con il Centro di Referenza OIE Veterinary Research Institut di Brno (CZ), referente Dr.Petr Kralik, della durata di 5 anni (data di avvio: 25.6.2019; data di scadenza: 24.6.2024), che prevede lo scambio di materiali e conoscenze tecniche, attraverso reciproci stage formativi, per la realizzazione di ricerche e pubblicazioni congiunte.
- Il C.R.N. è stato contattato dall'IZS Venezia, che rappresenta l'Italia nell'ambito di un progetto europeo COST per le malattie del bovino non coperte da piani di intervento obbligatori, per rispondere al questionario relativo alla paratubercolosi previsto dal Progetto (diffusione dell'infezione sul territorio nazionale, sistemi di raccolta dati presenti sul territorio, struttura del Piano di controllo nazionale). Il coinvolgimento del C.R.N. nell'ambito del progetto COST proseguirà con la stesura di un paper da pubblicare su un numero speciale di una rivista internazionale impattata, relativo alla situazione della paratubercolosi in Italia. Nei prossimi mesi verrà formalizzata la partecipazione del C.R.N. nel progetto COST.

Consulenze e collaborazioni internazionali

- Il Responsabile del C.R.N. è membro del Board of Directors in rappresentanza dell'Italia nell'International Association for paratuberculosis, associazione scientifica mondiale dedicata allo studio della paratubercolosi.
- E' stato stipulato un Material Transfer Agreement con U.S. Department of Agriculture (Agricultural Research Service, Midwest area, Infectious Bacterial Diseases, Dott. Bannantine), per una collaborazione relativa allo scambio di ceppi di *Mycobacterium avium* subsp. *hominisuis*, da utilizzare in prove di tipizzazione comparativa con MAP mediante metodiche PCR e MALDI-TOF (scadenza novembre 2021).

Pubblicazioni scientifiche e divulgative

(Nota. Gli autori facenti capo al C.R.N. sono identificati con *)

Su riviste con Impact factor:

1. Tilocca B, Soggiu A, Greco V, Piras C, Arrigoni N*, Ricchi M*, Britti D, Urbani A, Roncada P. Immunoinformatic-Based Prediction of Candidate Epitopes for the Diagnosis and Control of Paratuberculosis (Johne's Disease). *Pathogens*. 2020 Aug 27;9(9):E705. **(IF 3,018)**.
2. De Grossi L, Santori D, Barone A, Abbruzzese S, Ricchi M*, Marcario GA. Isolation of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in the feces and tissue of small ruminants using a non-automated liquid culture method. *Animals (Basel)*. 2019 Dec 20;10(1):20. **(IF 2,323)**.
3. Pigoli C, Garbarino C*, Ricchi M*, Bonacina E, Gibelli L, Grieco V, Scaltriti E, Roccabianca P, Sironi G, Russo S*, Pongolini S, Arrigoni N*. "Paratuberculosis in

captive scimitar-horned Oryxes (*Oryx dammah*), *Animals*, 2020 Oct 23;10(11):E1949 (**IF 2,323**).

Su atti di congressi o riviste senza Impact Factor:

- 1) Cammi G*, Ricchi M*, Galiero A*, Daminelli P, Cosciani-Cunico E, Dalzini E, Losio MN, Cerutti G*, Garbarino C*, Arrigoni N*. "Valutazione della sopravvivenza di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) durante il processo produttivo dei formaggi Parmigiano Reggiano e Grana Padano". XIX Congresso Nazionale S.I.Di.L.V., Matera, 23-25 ottobre 2019.
- 2) Butot S, Ricchi M*, Sevilla IA, Michot L, Molina E, Tello M, Russo S*, Arrigoni N*, Garrido J, Tomas D. "Performance dei metodi analitici per la ricerca di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* nel latte" (poster). XIX Congresso Nazionale S.I.Di.L.V., Matera, 23-25 ottobre 2019.
- 3) Arrigoni N*, Pigoli C, Guadagnini D, Ricchi M*, Bonacina E, Russo S*, Gibelli LR, Garbarino CA*. "Isolamento di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in un gruppo di orici dalle corna a sciabola (*Oryx dammah*) in un parco del Nord Italia" XLIII Convegno AIE, Catania, 23-25 ottobre 2019.
- 4) De Carlo E, Ricchi M*, Galletti G, Martucciello A, Pesce A, Russo S*, Galiero A*, Gamberale F, Russo M, Sannino E, Garbarino CA*, Cammi G*, Arrigoni N*. "Paratubercolosi nel bufalo: risultati di uno studio di siero-prevalenza in regione Campania". 51° Congresso nazionale Società italiana Buiatria, Parma, 7-8 novembre 2019.

Attività di referaggio:

Nel periodo considerate sono stati effettuati 2 referaggi (N.Arrigoni) sulle materie di interesse del Centro di Referenza per riviste impattate (entrambe per Veterinaria Italiana)

Sito Web

Il sito, ove sono disponibili le informazioni relative alla malattia, i manuali per il controllo, le informazioni sulle attività del C.R.N. (formazione, ring test), e l'archivio fotografico, è stato completamente aggiornato secondo un format IZSLER comune a tutti i centri di referenza.

Sul sito sono disponibili:

- una brochure informativa/divulgativa dal titolo "Paratubercolosi nell'allevamento della bovina da latte", destinato ad allevatori e veterinari, aggiornata con i criteri delle Linee guida nazionali.
(http://www.izsler.it/izs_bs/allegati/450/brochure17_12_13B.pdf).
- la versione italiana di un filmato divulgativo per allevatori, in cui sono illustrate le modalità di diffusione e di controllo dell'infezione. Il filmato è disponibile al link <https://www.youtube.com/watch?v=PNWmho9XMxQ>, come "tutorial paratubercolosi".

- una App per la valutazione del rischio in allevamento (iRAMP, Italian Risk Assessment and Management Planning), per tablet (Android, iOS, Windows), realizzata dal C.R.N. per la valutazione del rischio di ingresso e diffusione della paratubercolosi nelle aziende bovine e per l'individuazione delle misure gestionali idonee a ridurre i fattori di rischio, a disposizione dei veterinari pubblici e liberi professionisti. Lo schema di valutazione è stato ripreso dal "Manuale per il controllo della paratubercolosi negli allevamenti di bovine da latte", rielaborato ed adattato allo strumento informatico, in modo da renderlo facilmente leggibile e compilabile su tablet, direttamente in azienda.

iRAMP è un'applicazione in grado di operare sia online sia offline in grado di:

- semplificare e standardizzare la raccolta dei dati aziendali e l'esecuzione della valutazione del rischio in campo attraverso una checklist guidata;
 - aiutare il veterinario nella stesura del piano di gestione sanitaria aziendale, elaborando automaticamente un file (scaricabile in formato Excel) riportante i dati aziendali, la distribuzione del rischio nelle diverse aree dell'allevamento e un elenco di raccomandazioni specifiche con relativa priorità di intervento. I dati possono essere integrati nel tempo per valutare il successo e le criticità del piano implementato;
 - fornire nozioni chiave sulla Paratubercolosi e sul suo controllo, attraverso appositi HELP e collegamenti disponibili in ogni sezione (istruzioni per la valutazione del rischio, nozioni specifiche di biosicurezza e per la stesura del piano di gestione sanitaria). La app iRAMP è disponibile al link <http://iramp.izsler.it>. Sono anche disponibili le istruzioni essenziali per l'utilizzo della app iRAMP, direttamente scaricabili dal sito.
- La piattaforma interattiva per la gestione dei ring test (proficiency test) organizzati dal C.R.N.; nell'anno in corso è stata utilizzata per la gestione del ring test per la diagnosi sierologica di Paratubercolosi mediante test ELISA.

Centro di Referenza Nazionale (C.R.N.) Paratubercolosi **Programmazione attività per il periodo 1.10.2020 – 30.09.2021**

Obiettivi strategici

Sviluppare maggiormente i rapporti nazionali ed internazionali.

A livello nazionale:

- Intensificare la collaborazione con i vari IIZZSS e con il Servizio Sanitario nazionale.

INDICATORI

- Realizzazione di un ring test per la diagnosi diretta (PCR e/o coltura) che coinvolgerà i laboratori di tutti gli Istituti Zooprofilattici Sperimentali;
- Partecipazione del Centro di Referenza a Progetti di Ricerca Corrente e/o Finalizzata, anche in collaborazione con altri IIZZSS;
- Organizzazione di un congresso nazionale (in alternativa in modalità webinar o FAD, se non sarà possibile per la situazione legata al COVID-19);
- Organizzazione di una riunione (eventualmente in teleconferenza) con i referenti dei vari IIZZSS;
- Realizzazione di accordi di collaborazione scientifica e/o Material Transfer Agreement con vari IIZZSS.

- Intensificare la collaborazione con Centri di Ricerca di Medicina Veterinaria (Università, ecc.).

INDICATORI

- Realizzazione di accordi di collaborazione scientifica e/o Material Transfer Agreement con altri centri di ricerca;
- Realizzazione di tesi di specializzazione o dottorato.

A livello internazionale:

- Acquisire maggiore visibilità in campo internazionale.

INDICATORI

- Presentazione di risultati di ricerche a congressi internazionali;
- Pubblicazione di lavori scientifici su riviste con impact factor;
- Partecipazione a progetti europei;
- Partecipazione a gruppi di lavoro, comitati scientifici o redazioni editoriali;
- Svolgimento di attività di referaggio per riviste impattate.

Attività diagnostica

1. Standardizzazione e validazione di metodiche analitiche

Invio dei MMPP disponibili agli IIZZSS che ne faranno richiesta.

2. Produzione e distribuzione di reagenti

- Produzione e distribuzione di ceppi, sieri, DNA e standard biomolecolari per la diagnostica di MAP;
- Implementazione della “banca” dei materiali di riferimento (sieri, ceppi batterici).

3. Attività analitica

La previsione è che l'attività diagnostica routinaria possa subire un aumento, a seguito dell'applicazione delle modifiche previste alle “Linee guida nazionali per l'adozione di piani di controllo e l'assegnazione della qualifica sanitaria degli allevamenti bovini e bufalini nei confronti della Paratubercolosi”, con introduzione della PCR di conferma sugli animali sieropositivi, in allevamenti a bassa prevalenza.

4. Circuiti interlaboratorio organizzati dal C.R.N.

E' in previsione, per i primi mesi del 2021, la realizzazione di un *ring test* per la diagnosi diretta mediante PCR e/o coltura su matrici fecali bovine.

Al precedente ring test per la diagnosi diretta avevano aderito 22 laboratori appartenenti a 10 IIZZSS.

5. Ring test a cui parteciperà il personale del C.R.N.

E' in previsione:

- la partecipazione al ring test sierologico internazionale mediante metodica ELISA su siero e latte, organizzato da GD Animal Health – Deventer, NE con frequenza annuale.
- la partecipazione ad un ring test annuale per la diagnosi diretta (PCR e coltura), organizzata a livello europeo, per esame colturale e PCR su feci (Ente organizzatore: QA Veterinary Laboratory Agency – UK o GD Animal Health – Deventer, NE).

6. Altre attività

Nessuna attività in previsione.

Epidemiologia

1. Creazione banca dati

Verrà mantenuto il presidio del sistema Vetinfo relativamente ai casi clinici eventualmente segnalati e alla qualifica sanitaria degli allevamenti, a supporto del sistema di certificazione per l'esportazione. Tali adempimenti sono previsti dalle “Linee guida per l'adozione di Piani di controllo e per l'assegnazione della qualifica sanitaria degli allevamenti nei confronti della Paratubercolosi bovina”, per rispondere alle richieste provenienti da paesi terzi in merito alla garanzia che il latte esportato non provenga da allevamenti in cui si siano manifestati casi clinici di Paratubercolosi.

2. Sviluppo e gestione di sistemi informativi

Le Linee Guida Nazionali sul controllo della Paratubercolosi lasciano al Ministero della Salute la definizione delle modalità di raccolta dei dati relativi ai controlli (sierologici, microbiologici e di biologia molecolare) svolti nell'ambito dei piani di certificazione e di controllo aziendali. Al momento non si ritiene opportuno attivare un ulteriore sistema informativo autonomo e si ritiene più funzionale aprire al caricamento dei dati relativi ai controlli sierologici il sistema SANAN del Sistema Informativo Veterinario (<https://www.vetinfo.sanita.it/>).

3. Studio, sviluppo e gestione di sistemi di sorveglianza, verifica e controllo

Linee guida nazionali per l'adozione di piani di controllo e l'assegnazione della qualifica sanitaria degli allevamenti bovini e bufalini nei confronti della Paratubercolosi

Ha avuto termine la procedura di modifica delle Linee Guida Nazionali per l'adozione di piani di controllo e l'assegnazione della qualifica sanitaria degli allevamenti nei confronti della Paratubercolosi, trasmesse al Ministero della Salute con prot.21898 del 26.10.2020, per la discussione in Conferenza Stato-Regioni. Le "Linee guida" sono state esplicitamente estese all'allevamento bufalino, mentre verrà valutata la possibilità di estenderle all'allevamento ovicaprino. Dai dati nazionali, la prevalenza di allevamenti ovini e caprini infetti da Paratubercolosi è pari o superiore rispetto a quella degli allevamenti bovini.

4. Aggiornamenti epidemiologici sulle materie di competenza

Il C.R.N. continuerà l'attività di coordinamento dei Piani di monitoraggio regionali o provinciali, fornendo attività di supporto per la realizzazione di piani di campionamento e fornendo consulenza per l'elaborazione dei dati.

Ricerca e sperimentazione

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

Ricerca Corrente come Capofila

- **Progetto di ricerca corrente IZS LE 2018/011**: "Studio sulla sopravvivenza di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* al processo di produzione della mozzarella ottenuta da latte vaccino e bufalino" (Responsabile scientifico: M.Ricchi). Il progetto è stato avviato il 31.12.2018 e terminerà il 30.12.2020.
- **Progetto di ricerca corrente IZS LE 2019/010**: "Rischio di infezione da paratubercolosi al pascolo: contributo di ruminanti domestici e selvatici" (Responsabile scientifico: C.Garbarino). Il progetto è stato avviato 20.12.2019 e terminerà il 19.05.2022. Si prevede la necessità di richiedere una proroga di almeno 7 mesi, oltre a quella di 5 mesi già concessa a causa dell'emergenza COVID-19, a causa del ritardo nella acquisizione del personale.
- **Progetto di ricerca corrente IZS LE 2020/009**: "Automazione delle metodiche per la rilevazione degli acidi nucleici di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP)

in campioni diagnostici” (Responsabile scientifico: M. Ricchi). Il progetto sarà avviato entro la fine del 2020.

Ricerca Corrente come Unità Operativa

Il C.R.N. è inoltre coinvolto, come Unità Operativa, nei seguenti Progetti di Ricerca Corrente, in cui, oltre ad eseguire attività specifica nell’ambito dei vari progetti, fornisce consulenza sulle metodiche analitiche ed eventuale attività di conferma:

- Progetto di ricerca corrente IZS PLV 2015/104: “Paratubercolosi caprina: strategie per la gestione sanitaria degli allevamenti e salubrità della Robiola di Roccaverano” (Responsabile scientifico: Responsabile scientifico: M.S.Gennero). Il progetto è iniziato il 1.11.2016 e terminerà il 31.10.2020 (progetto prorogato).
- Progetto di ricerca corrente IZS SA 2017/108: “Automazione e validazione di un test fagico per la rilevazione di Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis (MAP) in campioni clinici di bovini”. (Responsabile scientifico: A.Ruiu). Il progetto è iniziato il 01.12.2017 e terminerà il 30.11.2020 (progetto prorogato).
- Progetto di ricerca corrente IZS LE 2018/005: “Analisi di parametri produttivi e loro correlazione con lo stato di benessere in allevamenti di capra da latte” (Responsabile scientifico A.Gaffuri). Il progetto è iniziato il 31.12.2018 e terminerà il 31.12.2020 (progetto prorogato).
- Progetto di ricerca corrente IZS PLV 2018/104: “L’interpretazione dei dati di sequenziamento dell’intero genoma nello studio delle dinamiche di infezione di M. bovis e M. paratuberculosis: quanto si adatta l’approccio matrice SNPs” (Responsabile scientifico: M.Goria). Il progetto è iniziato il 20.12.2018 e terminerà il 19.12.2020.
- Progetto di ricerca corrente 2018 PLV 2018/106 “Valutazione del profilo immunitario delle cellule T nella diagnosi precoce della malattia di Johne” (Responsabile scientifico: M.S. Gennero) il progetto è iniziato il 20.12.2018 e terminerà il 19.12.2020.

Ricerca finalizzata

Nulla da segnalare.

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

Nulla da segnalare.

3. Altre ricerche (titolo, stato dell’arte dei lavori, ecc.)

Nulla da segnalare.

Aggiornamento e formazione professionale

- **Corsi che il C.R.N. organizzerà o a cui parteciperà;**

Nulla in previsione.

- **Convegni/congressi che il C.R.N. organizzerà o a cui parteciperà;**

- E' in previsione per il 30.10.2020, in modalità Webinar, la realizzazione del corso ECM "Paratubercolosi nell'allevamento caprino e aspetti di benessere e biosicurezza", di cui si riporta di seguito il programma:
 - 8.30: Registrazione partecipanti
 - 8.45 - 9.30: La paratubercolosi nell'allevamento caprino: clinica ed epidemiologia (N. Arrigoni – CRN Paratubercolosi)
 - 9.30 - 10.30: La paratubercolosi nell'allevamento caprino: diagnosi e profilassi (C. Garbarino - CRN Paratubercolosi)
 - 10.30 - 11.30: Benessere e biosicurezza nell'allevamento caprino (A. Gaffuri, IZSLER Bergamo)
 - 11.30 - 12.30: Piano di monitoraggio ed esperienze di vaccinazione nella provincia autonoma di Trento (D. Dellamaria, IZSVE - V. Dorigoni, Serv. Politiche San. PA TN)
 - 12.30-13.30 TAVOLA ROTONDA. La paratubercolosi nell'allevamento ovicaprino: interventi degli stakeholders (coordinatore M. Tamba - Sorveglianza Epidemiologica - IZSLER)

- E' in previsione per il 2021 la realizzazione di un corso FAD relativo a "Paratubercolosi nell'allevamento caprino e aspetti di benessere e biosicurezza"

- E' in previsione per il 2021 la realizzazione da parte del C.R.N di un convegno nazionale (9° Congresso Nazionale sulla Paratubercolosi). Sono ancora da definire la data e il luogo di realizzazione, che saranno condizionati dalla situazione epidemiologica nazionale relativa a COVID-19. In alternativa, verrà valutata la possibilità di realizzare il congresso in modalità webinar. In questa occasione verranno discusse le novità emerse dal congresso mondiale e verranno forniti aggiornamenti relativi alle modifiche alle Linee guida nazionali.

- E' in previsione la partecipazione del C.R.N al 15th International Colloquium on Paratuberculosis, (Dublin, 14-18 giugno 2020). In questa occasione il C.R.N. presenterà:
 - i risultati conclusivi del Progetto di ricerca corrente IZS LE 2015/002: "Valutazione delle performances dei test sierologici per la diagnosi di Paratubercolosi nella specie bufalina" (poster).
 - i risultati preliminari del Progetto di ricerca corrente IZS LE 2018/011 "Studio sulla sopravvivenza di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* al processo di produzione della mozzarella ottenuta da latte vaccino e bufalino" (poster).
 - i risultati dello studio eseguito presso il C.R.N relativamente alla validazione del metodo di prova per la rilevazione di MAP dalle feci tramite PCR. Tale validazione è stata eseguita in accordo con le linee guida dell'OIE. (lavoro accettato come presentazione orale).

3. Comitati scientifici e gruppi di lavoro a cui parteciperà il personale del C.R.N.

Relazione annuale 2019-2020 Centro di Referenza Nazionale Paratubercolosi - Documento prodotto in originale informatico e firmato digitalmente ai sensi del "Codice dell'amministrazione digitale" (Decreto legislativo n.82/2005)

- E' in previsione l'organizzazione da parte del C.R.N. di una riunione dei referenti degli Istituti Zooprofilattici per la discussione dei risultati dei ring test e dello stato di applicazione delle Linee guida nelle varie Regioni. Sono ancora da definire data e luogo (in relazione alla situazione COVID-19 si valuterà la possibilità di effettuare la riunione in teleconferenza).
- E' in programma inoltre che il C.R.N. partecipi ai seguenti gruppi di lavoro:
 - Gruppo di lavoro con Ministero della Salute, Regioni e IIZZSS per il coordinamento del piano di intervento nazionale nei confronti della Paratubercolosi;
 - Board of Directors, International Association of Paratuberculosis (Rappresentante italiano: Dr. N.Arrigoni)

Consulenze, attività di docenza, collaborazioni nazionali

1.Consulenze richieste ad esterni

Nulla da segnalare.

2. Consulenze e pareri tecnici forniti ad esterni

- Il C.R.N. continuerà a rispondere alle richieste di consulenza, aggiornamento, sopralluoghi, valutazione di metodiche analitiche, provenienti da IIZZSS, Veterinari appartenenti alle AUSL e liberi professionisti, allevatori.
- E' in programma la realizzazione di stage formativi e tirocini curricolari ed extra-curricolari per ricercatori dei vari Istituti Zooprofilattici, neolaureati e studenti di Veterinaria, Scienze Biologiche e Biotecnologie, per l'approfondimento delle metodiche diagnostiche sulla Paratubercolosi.

3. Attività di docenza

Il personale del C.R.N. parteciperà in qualità di docente a giornate di aggiornamento per allevatori e veterinari in varie province italiane, organizzati da Facoltà Universitarie, ASL, Ordini professionali.

Consulenze e collaborazioni europee

Nulla da segnalare

Consulenze e collaborazioni internazionali

Nulla da segnalare

Pubblicazioni scientifiche e divulgative

Su riviste con Impact factor:

Sono in corso di stesura alcuni lavori da pubblicare su riviste internazionali relativi a:

- Risultati di un monitoraggio sierologico realizzato negli allevamenti bufalini in regione Campania (studio in collaborazione con il Centro di Referenza igiene allevamento bufalino, IZS Mezzogiorno, Salerno). Il lavoro è già stato sottomesso alla rivista Journal

of Dairy Science ed è in attesa di valutazione (Martucciello A, Galletti G, Pesce A, Russo M, Sannino E, Arrigoni N*, Ricchi M*, Tamba M, Brunetti R, Ottaiano M, Iovane G, De Carlo E. "Seroprevalence of paratuberculosis in Italian water buffaloes, *Bubalus bubalis*, in the Region of Campania").

- Studio sulla diffusione in allevamento di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* mediante WGS - Progetto di ricerca corrente IZS LE 2014/013. Il lavoro è già stato sottomesso alla rivista Veterinary Microbiology ed è in attesa di valutazione (Bolzoni L, Scaltriti E, Russo S, Pongolini S, Garbarino C*, Leo S*, Arrigoni N*, Ricchi M*. "Transmission patterns of a *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* clone within a single herd investigated by Whole Genome Sequencing").
- Studio sulla validazione del metodo di prova sviluppato e impiegato presso il C.R.N. per la ricerca di DNA di MAP in campioni fecali. Il lavoro è stato sottomesso alla rivista Frontiers in Veterinary Science ed è in attesa di valutazione (Russo S*, Leo S*, Arrigoni N* and Ricchi M*. "Validation of IS900-qPCR assay to assess the presence of *Mycobacterium avium* subs. *paratuberculosis* in faecal samples")
- Valutazione delle performances dei test sierologici e qPCR nella specie *Bubalus bubalis* (bufalo d'acqua) (Progetto di ricerca corrente IZS LE 2015/002). Il lavoro è in corso di stesura.
- Situazione relativa all'applicazione del Piano paratubercolosi a livello italiano, nell'ambito di un programma europeo COST relativo alle malattie del bovino non coperte da Piani di intervento obbligatori, in collaborazione con IZSVE.

Su atti di congressi o riviste senza Impact factor

A causa dell'epidemia da COVID 19, non si è in grado di effettuare previsioni in questo ambito.

Sito Web

Il sito web, con funzioni interattive funzionali alla realizzazione e alla gestione di ring test per la diagnosi diretta, verrà aggiornato relativamente a metodi di prova, pubblicazione e progetti.

Verrà pubblicata una brochure sulla paratubercolosi nell'allevamento caprino e verrà arricchita la sezione relativa alla documentazione fotografica.

Il Responsabile del Centro di Referenza Nazionale per la Paratubercolosi

Dott. Norma Arrigoni