

**D.M. del 4 Ottobre 1999**  
**“Centri di Referenza Nazionali nel Settore Veterinario” Art. 5**

**CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER LA LEPTOSPIROSI**  
**IZS della Lombardia e dell’Emilia Romagna, via Bianchi 9, 25124 Brescia**

Il Centro di Referenza Nazionale per la Leptospirosi (CRNL) dell’Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell’Emilia Romagna (IZSLER) si articola in diverse strutture: il Reparto Batteriologia, il Reparto di Genomica, la Sezione Diagnostica di Brescia, il Laboratorio di Istologia, il Reparto Animali da Laboratorio, gli Osservatori Epidemiologici Veterinari della Regione Lombardia e dell’Emilia Romagna. Concorrono alle attività le Sezioni Diagnostiche IZSLER.

Le risorse umane, con impegno orario di seguito specificato in percentuale, e strumentali delle Strutture che hanno partecipato alle attività del CRNL nel corso dell’anno 2014 sono le seguenti:

- Struttura complessa Reparto Genomica, con il Reparto Batteriologia aggregato:
  - 1 dirigente biologo 45% (Responsabile).
- Reparto Batteriologia (BA):
  - 1 dirigente veterinario al 10%;
  - 2 tecnici di laboratorio biomedico, rispettivamente al 80% e al 55%;
  - 3 assistenti tecnici addetti servizi laboratorio, uno al 90% e due al 5%;
  - 1 operatore tecnico sanitario addetto ai servizi di laboratorio al 90%;
  - 1 laureato veterinario borsista al 100%.

Il Reparto BA dispone delle attrezzature necessarie per lo svolgimento dell’attività diagnostica colturale, sierologica e di biologia molecolare, per la produzione di ceppi, per la conservazione in azoto liquido di una collezione di ceppi di riferimento e di campo e per le attività di ricerca nell’ambito di questi settori.

- Reparto Genomica (GE):
  - 1 dirigente biologo al 10%;
  - 4 tecnici di laboratorio biomedico, due al 5% e due all’1%;
  - 1 laureato biologo borsista al 10%.

Il Reparto GE mette a disposizione strutture, attrezzature e competenze a supporto diagnostico ed opera per lo sviluppo di metodiche innovative di biologia molecolare, al fine del controllo d’identità dei ceppi di *Leptospira* di riferimento, dell’identificazione degli isolati e dell’evidenziazione e caratterizzazione di leptospire patogene nei campioni biologici.

- La Sezione Diagnostica di Brescia:
  - 1 dirigente veterinario al 2%.

La Sezione di Brescia partecipa alle attività del CRNL fornendo supporto per la gestione in campo dei focolai su territorio nazionale, e, insieme alle altre Sezioni Diagnostiche, ad attività di necropsia, esame anatomo-patologico, diagnosi differenziale, prelievo dei campioni da inviare al Reparto di Batteriologia.

- La Sezione Diagnostica di Mantova:
  - 1 dirigente veterinario al 5%.

La Sezione di Mantova partecipa alle attività del CRNL data l'esperienza maturata nel settore dell'allevamento suino.

- La Sezione Diagnostica di Bergamo:

1 dirigente veterinario al 5%.

La Sezione di Bergamo partecipa alle attività del CRNL data l'esperienza maturata nel settore dell'allevamento bovino.

- Laboratorio di Istologia con sede a Milano:

1 dirigente veterinario al 2%.

Il Laboratorio di Istologia partecipa alle attività del CRNL relativamente ad esami istologici e immunoistochimici.

- Osservatori Epidemiologici Veterinari della Regione Lombardia (SEL) e dell'Emilia Romagna (SEER):

3 dirigenti veterinari, uno al 5%, due al 2%;

1 laureato bistatistico borsista al 5%

Il SEL e il SEER collaborano alla gestione di focolai.

- Reparto Animali da laboratorio:

2 dirigenti veterinari, uno al 5%, uno al 2%.

Il Reparto Animali da laboratorio partecipa alle attività del CRNL con la produzione di vaccini stabulogeni e di antisieri.

Il piano d'attività 2014 descritto nei seguenti punti si riferisce al periodo 01/10/2013-30/09/2014, tenuto conto della periodicità trimestrale della reportistica di controllo di gestione; analogamente il periodo di riferimento della programmazione 2015 è 01/10/2014-30/09/2015.

### **Obiettivi strategici**

Nel corso dell'anno si è operato al miglioramento dei metodi identificativi di biologia molecolare. Grazie al metodo sviluppato MLST stiamo operando a controllo e riordino della collezione dei ceppi di *Leptospira spp.* provenienti da altre collezioni e dei ceppi di campo di nostra proprietà che alimenteranno la biobanca IZSLER, dotata di strutture dedicate. Stiamo inoltre programmando l'acquisto di ceppi e relativi antisieri per completare la collezione di ceppi di riferimento, in modo da garantirci la presenza di 1 ceppo rappresentativo per ogni sierogruppo e per ogni genospecie.

Nel periodo considerato ci si è impegnati ad informatizzare la periodica raccolta di dati di laboratorio e di risultati di ring test, chiedendo agli IIZZSS uno sforzo di uniformazione dei metodi (es. soglia 1/100 e pannello minimo di antigeni MAT per tutte le specie animali) per consentire la gestione informatizzata del dato (v Epidemiologia punto 2).

In considerazione della possibilità che emergano sierovarianti non attualmente comprese nel pannello, è stato stimolato lo scambio di informazioni su attività di monitoraggio in atto presso i vari IIZZSS su animali da reddito, domestici e selvatici, che svelino la circolazione delle leptospire nell'ambiente.

Posto che l'isolamento del microrganismo andrebbe perseguito in quanto ne permette l'identificazione e consente la produzione di vaccini stabulogeni, oltre che una diagnosi di certezza, sulla base di approfondimenti bibliografici e contatti, si è iniziata la messa a punto delle metodiche MLST e VNTR, che negli ultimi anni hanno subito importanti aggiornamenti da parte di gruppi internazionali. La metodica MLST (Multi Locus

Sequence Typing) dimostra di avere una capacità differenziativa comparabile o superiore alle tecniche di identificazione molecolare più tradizionali quali PFGE o PCR/RFLP, mentre la tecnica VNTR (Variable Number Tandem Repeat) dimostra una maggiore utilità negli studi epidemiologici ed è quindi di supporto nelle ricostruzioni epidemiologiche. La non completa sovrapposibilità tra le classificazioni sierologica e genomica non consente alle metodiche di biologia molecolare di ottenere l'identificazione completa di tutte le sierovarianti di interesse, ma una combinazione di test "vecchi" (PCR/RFLP) e "nuovi" (MLST e VNTR) può risultare molto informativa e promettente, sia per studi epidemiologici su ceppi di campo che per il controllo dei ceppi di riferimento impiegati nella diagnosi di laboratorio. Obiettivo futuro sarà la continuazione delle attività di ricerca e sviluppo e l'applicazione dei suddetti metodi alla riorganizzazione della collezione dei ceppi di *Leptospira* conservata presso l'IZSLER. In prospettiva tali metodi consentiranno al CRNL di rispondere alle richieste degli altri IZZSS in modo sempre più approfondito, come supporto concreto per una migliore gestione dei focolai sul territorio nazionale.

### **Attività Diagnostica**

1) standardizzazione e validazione di metodiche analitiche;

Presso il Centro si utilizzano il Metodo di prova interno per la ricerca di anticorpi anti-*Leptospira* mediante agglutinazione microscopica (MAT) per la diagnosi sierologica di leptospirosi (Metodo di prova IZSLER, accreditato SINAL con il n° MP04/019), il Metodo di prova interno per la ricerca di *Leptospira* spp. mediante esame colturale (MP01/127) e il Metodo di prova interno per la ricerca di *Leptospira* spp. mediante PCR Real Time (LipL32) in matrici di origine animale (MP09/164) *in house*, validato.

Ai Servizi di Assicurazione Qualità di Istituti Zooprofilattici richiedenti sono state fornite dal RAQ IZSLER le seguenti metodiche:

- MAT MP 04/019 a 4 Istituti (IZS Lazio e Toscana, IZS Mezzogiorno, IZS Sardegna, IZS Umbria e Marche);
- PCR Real Time MP 09/164 a 4 Istituti (IZS Lazio e Toscana, IZS Mezzogiorno, IZS Sardegna, IZS Umbria e Marche);
- Esame colturale MP 01/127 a 1 Istituto (IZS Sardegna).

2) produzione e distribuzione di reagenti;

Il CRNL (secondo l'art. 2 del D.M. 4 ottobre 1999, comma d) si rifornisce, produce, detiene e distribuisce agli altri IZZSS i reagenti di riferimento, nella fattispecie gli 8 ceppi batterici *Leptospira* considerati materiale di riferimento primario da utilizzare come antigeni nella prova sierologica MAT.

Nel periodo di riferimento considerato il Centro ha mantenuto una collezione di ceppi di riferimento e di campo, mediante conservazione sia a temperatura ambiente con passaggi seriali, sia in azoto liquido. Per i ceppi di derivazione Royal Tropical Institute (KIT) di Amsterdam (Laboratorio di Referenza OIE, FAO, OMS), siamo stati autorizzati dal Dr. Hartskeerl (prot. 2124 del 23/1/06) alla cessione a titolo gratuito agli altri IZZSS (nel rispetto dei compiti del CRNL secondo l'art. 2 del D.M. 4 ottobre 1999, comma d) con il vincolo di non cederli a terzi.

Nel periodo considerato sono state effettuate 4 forniture di colture di *Leptospira* a 4 Istituti Zooprofilattici per un totale di 18 colture controllate, da impiegarsi come antigeni MAT:

1 ceppo all'IZS Puglia e Basilicata (prot. 20725 del 01/10/2014),

1 ceppo all'IZS Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta (prot. 7462 del 31/03/2014),

8 ceppi all'IZS Lazio e Toscana (prot. 10395 del 14/05/2014),

8 ceppi all'IZS dell'Umbria e Marche (prot. 18911 del 23/09/2014),

Nello stesso periodo è stato inoltre fornito 1 ceppo inattivato all'IZS del Mezzogiorno, Salerno, da destinare a controllo metodica PCR (prot. 23415 del 06/11/2013).

3) attività analitica (*numero di campioni processati, tipologia e provenienza dei campioni, risultati, utilizzatori dei servizi analitico-diagnostici del centro*);

Nel periodo di riferimento considerato sono stati messi a confronto mediante MAT (MP04/019) 11.761 sieri con 8 antigeni appartenenti agli 8 sierogruppi più diffusi in Italia, per un totale di 94.088 esami.

Si sono rilevati 1.440 campioni positivi ad una o a più sierovarianti. Tra i 1.187 sieri positivi ad una sola sierovariante sono stati evidenziati in ordine di frequenza i sierogruppi Australis, Sejroe, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Tarassovi, Canicola, Grippotyphosa e Ballum.

Nello stesso periodo, da organi e fluidi biologici, sono stati eseguiti 95 esami colturali per ricerca di *Leptospira*, di cui 27 risultati positivi e appartenenti per lo più ai sierogruppi Pomona (da suino) e Sejroe (da bovino). Sono inoltre stati identificati con tecniche sierologiche a livello di sierogruppo 11 ceppi da altri Istituti. Presso il Reparto Batteriologia sono stati inoltre eseguiti esami PCR Real Time per la ricerca di leptospire patogene in 334 campioni, di cui 70 positivi.

I campioni esaminati sono stati per lo più conferiti dalle Sezioni Diagnostiche provinciali dell'IZSLER.

Il CRNL ha sempre risposto con sollecitudine alle richieste di analisi a supporto degli altri IIZZSS (secondo l'art. 2 del D.M. 4 ottobre 1999, comma a).

Nel periodo considerato sono stati sottoposti a conferma diagnostica con il metodo di agglutinazione microscopica MAT 14 sieri, di cui 13 conferiti dall'IZS del Mezzogiorno e 1 dall'IZS dell'Umbria e delle Marche:

- 4 sieri di bovino (2 prot. 892 del 16/01/14, 2 prot. 15788 del 25/07/14) dell'IZS del Mezzogiorno;
- 3 di bufalo (prot. 18445 del 17/09/14) dell'IZS dell'Umbria e Marche;
- 3 di cane (1 prot. 6831 del 21/03/14 e 2 RdP 2014/191023 Caserta) dell'IZS del Mezzogiorno;
- 1 di cane (prot. 18652 del 19/09/14) dell'IZS dell'Umbria e Marche;
- 2 di capra (prot. 22145 del 18/10/13 ) dell'IZS del Mezzogiorno;
- 1 di gatto (prot. 14865 del 11/07/14) dell'IZS del Mezzogiorno.

Nello stesso periodo sono stati sottoposti a conferma diagnostica con metodi di ricerca diretta (PCR Real Time, Esame colturale) 18 campioni biologici, di cui 17 conferiti dall'IZS delle Venezie e 1 conferito dall'IZS Puglia e Basilicata, Brindisi:

- 1 R di cane PCR Real Time e Isolamento (prot. 24919 del 28/11/13) conferito dall'IZS Puglia e Basilicata, Brindisi
- 17 campioni di DNA estratto da urine bovine PCR Real Time (prot. 23535 del 07/11/13) conferiti dall'IZS delle Venezie.

Nello stesso periodo sono inoltre stati sottoposti a tipizzazione con metodi sierologici e di biologia molecolare 5 ceppi di *Leptospira* isolati da cinghiale (prot. 4346 del 24/02/14) conferiti dall'IZS Sardegna risultati *L.interrogans* serovar Pomona.

Il CRNL assicura su richiesta degli IZZSS il controllo d'identità dei ceppi in uso come antigeni MAT presso i laboratori locali e l'eventuale fornitura come da paragrafo 2).

4) circuiti interlaboratorio organizzati dal C. d. R. (*risultati, gestione degli stessi, successi e fallimenti*)

E' stata completata l'organizzazione, con l'utilizzo del software "IZSLER Proficiency test", di un circuito inter-laboratorio MAT 2013 tra Istituti Zooprofilattici (secondo l'art. 2 del D.M. 4 ottobre 1999, comma c), a cui hanno aderito 9 laboratori, appartenenti a 9 diversi Istituti Zooprofilattici, compreso l'Istituto organizzatore. I campioni sono stati inviati il 16/12/2013 accompagnati da mail prodotta in automatico dal programma e da lettera prot. 25763 del 12/12/2013, nella quale si specificava che il Protocollo Operativo era stato contestualmente pubblicato all'indirizzo indicato sulla notifica di conferma di iscrizione.

Ciascun laboratorio partecipante ha ricevuto 10 campioni di siero di sangue da analizzare con la metodica di agglutinazione microscopica MAT utilizzata per la diagnosi di Leptosirosi.

Il termine per l'invio dei risultati, da inserire direttamente sul sito IZSLER utilizzando i dati di accesso forniti in fase di registrazione, è stato fissato al 31/01/2014 (mail del 16/12/2013).

La pubblicazione sul sito del Report finale del circuito inter-laboratorio MAT leptosirosi 2013 è stata annunciata mediante apposita mail informativa generata automaticamente dal programma il 02/05/2014.

I risultati del circuito inter-laboratorio sono stati presentati il 29/05/2014 al "3° Convegno inter-Istituti Zooprofilattici del Centro di referenza leptosirosi" organizzato dal CRNL, a cui sono stati invitati tutti gli Istituti Zooprofilattici e il Referente ministeriale Dr. Ruocco (prot. 2371/2014 del 03/02/2014).

Complessivamente la prova valutativa ha mostrato un risultato soddisfacente e piuttosto omogeneo tra i partecipanti, tranne che per un laboratorio, a cui è stato fornito successivamente supporto (parere sull'interpretazione dell'esito di controlli, mail 23/09/2014). Poiché risultati scorretti potrebbero derivare da contaminazione crociata dei ceppi utilizzati come antigeni, è stata richiamata attenzione al controllo di qualità applicato agli antigeni diagnostici, che prevede, come da linee guida OIE, che l'identità dei ceppi vada controllata periodicamente.

Il metodo in uso presso l'Istituto organizzatore è stato inviato agli IZZSS che ne hanno fatto richiesta (v.punto 1).

E' attualmente in preparazione un ring test PCR 2014, mentre un ring test MAT 2015 è in programma per il prossimo anno, secondo il principio dell'alternanza nei ring test annuali che il CRNL organizzatore si è dato.

5) ring test a cui ha partecipato il personale del C. d. R. (*risultati, gestione degli stessi, successi e fallimenti*)

Il CRNL è in attesa dei campioni del Round 12 dell' "International Proficiency Testing Scheme for the Leptospirosis MAT sulla prova di agglutinazione microscopica (MAT), organizzato da R. Chappel, National Serology Reference Laboratory (NRL) – Victoria (Australia),

coadiuvato da R. A. Hartskeerl e M. Goris, Leptospirosis Reference Centre, Royal Tropical Institute (KIT) - Amsterdam (Olanda), e da Lee Smith and Philip Berry del Animal Health and Veterinary Laboratories Agency (AHVLA) in New Haw, Addlestone, England (U.K), con la finalità di fornire assicurazione di qualità ai laboratori che eseguono il test di agglutinazione microscopica MAT per la diagnosi di leptospirosi in campo umano o veterinario. La composizione del pannello di campioni del precedente circuito Round 11 dell' "International Proficiency Testing Scheme for the Leptospirosis MAT a cui si è aderito, ricevuta via posta elettronica dall'Organizzatore del circuito Dr. Chappel il 27/10/2013, conferma i risultati ottenuti e la validità delle procedure e dei controlli applicati agli Ag diagnostici presso il CRNL. Si resta in attesa del Report finale.

6) altre attività (es. necroscopie, istopatologia, ecc.)

Oltre che sull'esame anatomo-patologico eseguito in sede necroscopica presso le Sezioni Diagnostiche, la diagnosi *post mortem* si basa sulla valutazione microscopica delle lesioni renali e sull'immunolocalizzazione di *Leptospira interrogans s.l.* in colorazione immunoistochimica (IHC) presso il Laboratorio di Istologia. Il "Metodo di prova interno per la messa in evidenza di antigeni, in campioni di tessuto inclusi in paraffina. Colorazione immunoistochimica" validato e accreditato (MP07/003), che utilizza un pool di anticorpi policlonali di produzione interna rappresentativi delle più importanti sierovarianti di *Leptospira* in campo veterinario, è stato applicato nel periodo considerato a n° 5 campioni, di cui 3 positivi (di suino).

### **Epidemiologia**

1) creazione di banca dati;

I dati nazionali di attività diagnostica 2012 e 2013, a seguito di richiesta inviata ai Direttori degli IZZSS (prot. 2371 del 03/02/2014), sono stati raccolti attraverso un prodotto informatico di gestione dei dati di laboratorio leptospirosi, introdotto dal CRNL in collaborazione con i Sistemi informativi IZSLER, quindi sono stati esportati in Excel, elaborati manualmente e restituiti agli IZZSS nel corso del 3° Convegno Inter-Istituti del 29 maggio 2014.

2) sviluppo e gestione di sistemi informativi;

- E' stato fornito alla rete degli Istituti un sistema di raccolta dati di laboratorio informatizzato, con il primo obiettivo di facilitare e rendere maggiormente fruibili le raccolte di dati di laboratorio nazionali, necessarie alla formulazione di pareri a supporto delle decisioni del Ministero (v. consulenze, punto 2) e ne è stata fatta una prima soddisfacente applicazione sui dati 2012-2013. Si è attualmente orientati, in accordo con il Ministero della Salute, a rendere permanente tale sistema di raccolta dati di laboratorio, per permettere un costante monitoraggio della malattia sul territorio italiano e lo scambio di informazioni con le istituzioni a livello nazionale ed internazionale. Tali dati potrebbero essere messi annualmente a disposizione del Ministero e risultare di utilità per fronteggiare emergenze sanitarie e per predisporre piani di intervento o di formazione a carattere nazionale.

L'inserimento nel programma di raccolta dei dati di laboratorio del Centro sta continuando a tutt'oggi in automatico da parte dei seguenti IZZSS: Lombardia e Emilia Romagna, Piemonte Liguria e Valle d'Aosta, Sicilia, Venezia.

Prevediamo per il futuro i seguenti perfezionamenti:

- tracciabilità del singolo campione: il sistema di raccolta dovrà essere implementato rendendo possibile l'inserimento dell'identificativo del campione, per consentire agli informatici la possibilità di un percorso a ritroso, a partire dai dati aggregati, tanto da poter rintracciare il singolo campione; la tracciabilità dei dati è infatti compatibile in modalità xml, che comporta inserimenti informatizzati di dati disaggregati;
  - obbligatorietà del codice allevix con possibilità di estrazione;
  - estrazioni per Provincia dell'azienda;
  - aggiunta della data di prelievo/accettazione alla data di chiusura dell'analisi;
  - inserimento graduale di voci di specie animali e matrici in uso in altri Istituti non presenti nel nomenclatore Darwin IZSLER;
  - aggancio dei dati di identificazione a nuovi MP;
  - introduzione di elaborazioni informatizzate, oggi possibili solo manualmente applicando filtri e formule ai dati esportati in Excel.
- Il Centro ha anche provveduto ad implementare, con accorgimenti che tenessero conto delle peculiarità dell'esame sierologico leptospirosi, un software IZSLER per la gestione e la raccolta dei risultati dei ring test, che ha adottato già a partire dal circuito MAT 2013 inter-laboratorio organizzato dal CRNL. Si sta inoltre programmando l'uso del programma per il ring test PCR 2014.

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

4) aggiornamenti epidemiologici sulle materie di competenza

### **Ricerca e sperimentazione**

1) Progetti di ricerca finanziati dal Ministero della Salute (*titolo, stato dell'arte dei lavori, ecc.*) Sta per concludersi la collaborazione con l'IZS della Sardegna nell'ambito del PRC2011115 "Indagine sulla prevalenza della leptospirosi nella fauna selvatica della Sardegna", grazie all'applicazione a isolati, da cinghiale, riccio e ratto, di metodi identificativi di biologia molecolare sviluppati recentemente.

E' in corso la collaborazione sulle leptospirosi degli animali da compagnia con l'IZSVe PRC2012102 "La Leptospirosi negli animali da compagnia e il suo impatto sulla Sanità Animale", con la prevista applicazione a campioni biologici di cani e gatti sia del metodo sierologico MAT a pannello allargato di antigeni, sia di metodi di biologia molecolare per la ricerca diretta da campione biologico del DNA leptospirale. In previsione del Convegno del 4 ottobre organizzato dall'IZS Venezia, sono stati completati (rispetto a quelli presentati nel 3° convegno inter-Istituti del 29 maggio), controllati e elaborati i dati nazionali 2012-2013 e i dati storici del cane IZSLER.

E' in corso il progetto di ricerca corrente ministeriale PRC2011016 "Produzione di linee guida e metodi diagnostici per la gestione di focolai di leptospirosi bovina" del CRNL: si sta conducendo un'infezione sperimentale di bovini con Hardjo e Pomona per chiarire aspetti della malattia e della vaccinazione ai fini dell'aggiornamento dell'OM. Sempre nell'ambito di questo progetto si stanno sviluppando tecniche di identificazione e di genotipizzazione che stanno dando ottimi risultati, sia per il valore epidemiologico, che per l'utilità nel controllo dei ceppi di collezione, per la cui continuazione è stata proposta una nuova ricerca corrente 2014.

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

Il successo dell'esame colturale, generalmente difficile da realizzare, che ha reso disponibili 9 ceppi isolati da riccio, ci ha permesso di confermare la validità di una tecnica PCR/RFLP da noi sviluppata negli anni '90 per la specie *L. interrogans* e di verificare, con successo, due nuove tecniche di identificazione e di genotipizzazione (MLST e VNTR) allo studio. Stiamo preparando una comunicazione di epidemiologia molecolare sulla Pomona nel suino da presentare al prossimo convegno Eurolepto che si terrà ad Amsterdam nell'aprile 2015.

Oltre che sul riccio si sta lavorando su altri selvatici quali ruminanti selvatici (in collaborazione con la Sezione di Sondrio e con l'Università di Milano), nutrie (in collaborazione con la Sezione di Milano e l'Università di Milano), orso marsicano (in collaborazione con l'Università di Teramo). La tartaruga, data la prevalenza di Tarassovi in tartarughe acquatiche alloctone, merita futuri studi per chiarire il suo ruolo epidemiologico.

### **Aggiornamento e formazione professionale**

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

Si è partecipato al Convegno "La Leptospirosi canina e umana: cosa c'è di nuovo?", organizzato dall'Università di Milano il 04/02/2014, con le relazioni dal titolo "Diagnosi di laboratorio di leptospirosi nel cane: campionamento, metodi, dati" e "Il ruolo del cane nell'epidemia della leptospirosi". Si è inoltre partecipato al Seminario "La Leptospirosi canina", organizzato dall'Università di Bologna il 06/04/2014, con le stesse due presentazioni.

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

Il CRNL ha organizzato il 3° Convegno inter-Istituti (29 maggio 2014) con accreditamento ECM. In tale occasione, alla presenza del Referente ministeriale, sono stati presentati e discussi dati della rete IZZSS 2012-2013 e l'esito del circuito interlaboratorio MAT 2013 organizzato dal CRNL. L'ospite Dr.ssa Josipa Habus, segretaria dell'ELS ha presentato una panoramica sulla sierosorveglianza della leptospirosi animale in Croazia. Nella stessa sede è stato divulgato un resoconto su temi di epidemiologia, di diagnosi di laboratorio tradizionale e di biologia molecolare, riportato dall'ultimo convegno internazionale (Meeting of International Leptospirosis Society ILS 2013, Fukoka, Japan, October 8th-October 11th 2013), a cui il CR ha partecipato, e il lavoro presentato in quella sede. A seguire sono state presentate le linee di ricerca in corso del CRNL e della rete degli Istituti Zooprofilattici: Leptospirosi nei selvatici in Sardegna; Leptospirosi nel cane: dati storici IZSLER dal 1990 ad oggi e disegno della ricerca con i risultati preliminari; Leptospirosi nel bovino: gestione focolai pregressi e gestione focolai attuali.

Il CRNL ha partecipato all'8th Annual Scientific Meeting of International Leptospirosis Society ILS 2013, con il lavoro "*Leptospira interrogans* serogroup Australis in Hedgehog in Northern Italy, a Fukoka in Giappone (8-11 ottobre 2013).

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

Con alcuni componenti del tavolo tecnico allargato a nuove figure si è discussa (30/05/2014 a Brescia) e perfezionata la bozza di documento "Indicazioni operative per la gestione dei focolai di leptospirosi animale", che si è in procinto di rendere definitivo entro la fine del 2014 con l'apporto del Referente Ministeriale (seconda riunione di tavolo tecnico prevista per il 20 novembre 2014), al fine di aggiornare l'OM 4 settembre 1985.

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

1) Consulenze richieste ad esterni

2) Consulenze e pareri tecnici forniti ad esterni

- Invio al Dr. Facelli dell'Ufficio III - DSVETOC del Ministero della Salute di un parere finalizzato a consentire l'esportazione di bufale in Turchia (prot. 7234 del 26/03/2014) richiesto dalla Dr.ssa Alessia Garofano (e-mail del 25/03/2014).

- Proposta di modifica alla nuova edizione del Manuale OIE, maggio 2014: il commento alla proposta di modifica, relativa all'inclusione della MAT tra i metodi di conferma di casi clinici nella diagnosi di infezioni acute, inviato all'OIE a cura del Dr. Pasquale Simonetti del Ministero della Salute (e-mail del 23/12/2013), è stato accolto con l'inclusione della modifica nella nuova edizione 2014 del Manuale adottata in maggio e visibile in internet (Chapter 2.1.9. Leptospirosis).

- E' stato fornito un parere su un focolaio leptospirosi bovina alla Regione Lombardia (prot. 10879 del 20/05/2014).

3) Attività di docenza

### **Consulenze e collaborazioni europee**

*(intese anche le collaborazioni in programmi di ricerca)*

### **Consulenze e collaborazioni internazionali**

*(intese anche le collaborazioni in programmi di ricerca)*

### **Pubblicazioni scientifiche e brochure divulgative** *(copia del frontespizio)*

- Tagliabue S., Figarolli B.M., D'Incau M., Foschi G., Gennero M.S., Giordani R., Natale A., Papa P., Ponti N., Scaltrito D., Spadari L., Vesco G., Ruocco L. "Serological surveillance of leptospirosis in Italy: two year period national data (2010-2011)." Accettato per la pubblicazione sulla rivista Veterinaria Italiana.
- Boniotti M.B., Gelmini L., Carra E., Figarolli B.M., D'Incau M., Tagliabue S., (2013) Leptospira interrogans serogroup Australis in Hedgehog in Northern Italy. 8th Annual Scientific Meeting of International Leptospirosis Society ILS 2013, Fukoka, Japan, October 8th- October 11th 2013. PS2-58.

### **Sito Web** *Sito web (indirizzo, frequenza di aggiornamento e contenuto)*

E' attivo sul sito Web istituzionale IZSLER, nell'ambito della sezione dedicata ai Centri di Referenza Nazionali, quello di pertinenza del Centro di Referenza Nazionale per la Leptospirosi (indirizzo: <http://www.bs.izs.it/Referenza/Lepto/Lepto.htm>).

Brescia, 14/11/2014

Il Direttore del CRNL  
Dr.ssa Silvia Tagliabue

Documento prodotto in originale informatico e firmato digitalmente ai sensi del "Codice dell'Amministrazione Digitale" (D. L.vo n.82/2005).

N° 2 Allegati: 1) Riepilogo delle spese sostenute dal Centro 2014, 2) Risorse ritenute necessarie per la realizzazione delle iniziative di intervento 2015

## Consuntivo 2014 (1/10/2013-30/9/2014)

### 1. Personale

A	B	C	D	E	F	E x F
Personale in servizio (Nominativo)	Qualifica	Tipo di contratto	Breve descrizione dell'attività svolta nel 2009 all'interno del Centro	Costo medio annuo	Percentuale di utilizzo	Costo finale
1. 316 (ST)	Dirigente biologo	Tempo indeterminato – Dirigente Struttura complessa	Reparto Genomica e Batteriologia – Responsabile del CRNL- Ricerca e Sviluppo, Diagnostica, Epidemiologia, Rapporti nazionali e internazionali, Gestione e coordinamento	€ 141.964,79	45	€ 63.884,16
2. 1041 (MD)	Dirigente veterinario	Tempo indeterminato –Dirigente Struttura semplice	Reparto Batteriologia – Diagnostica, Assicurazione qualità	€ 125.484,90	10	€ 12.548,49
3. 267 (AS)	Tecnico sanitario di laboratorio biomedico–categoria DS funzioni coordinamento	Tempo indeterminato – Comparto sanitario	Reparto Batteriologia– Diagnostica sierologica e biologico-molecolare, Produzione diagnostici, Coordinamento tecnici, Collaborazione a Ricerca e Sviluppo	€ 45.214,01	55	€ 24.867,71
4. 605 (MF)	Tecnico sanitario di laboratorio biomedico–categoria D	Tempo indeterminato – Comparto sanitario	Reparto Batteriologia– Diagnostica sierologica, Collaborazione guidata a Ricerca e Sviluppo	€ 42.857,42	80	€ 34.285,94
5. 429 (CT)	Assistente tecnico categoria C	Tempo indeterminato – Comparto tecnico	Reparto Batteriologia– Terreni colturali, Accettazione, Diagnostica sierologica, Raccolta dati, Collaborazione guidata a Ricerca e Sviluppo	€ 37.441,93	90	€ 33.697,74
6. 432 (DL)	Operatore tecnico – categoria B	Tempo indeterminato – Comparto tecnico	Reparto Batteriologia– Terreni colturali, Accettazione, Diagnostica sierologica	€ 33.914,09	90	€ 30.522,68
7. 398 (GC)	Assistente tecnico categoria C	Tempo indeterminato – Comparto tecnico	Reparto Batteriologia– Accettazione, controlli autoclave	€ 36.292,24	5	€ 1.814,61
8. 1136 (PT)	Assistente tecnico categoria C	Tempo indeterminato – Comparto tecnico	Reparto Batteriologia– Accettazione	€ 34.376,67	5	€ 1.718,83
9. 1416 (BB)	Dirigente Biologo	Tempo indeterminato – Dirigente	Reparto Genomica - Ricerca e Sviluppo, Supporto diagnostico	€ 93.112,68	10	€ 9.311,27

		Professional	settore biologia molecolare			
10. 5599 (AP)	Laureato Biologo	Borsista 1/10/13 – 30/09/14	Reparto Genomica - Ricerca e Sviluppo	€ 20.897,16	10	€ 2.089,72
10. 558 (AM)	Tecnico sanitario di laboratorio biomedico - categoria DS	Tempo indeterminato - Comparto sanitario	Reparto Genomica - Diagnostica biologico molecolare, Collaborazione a Ricerca e Sviluppo	€ 43.627,64	5	€ 2.181,38
11. 1124 (DL)	Tecnico sanitario di laboratorio biomedico - categoria D	Tempo indeterminato - Comparto sanitario	Reparto Genomica - Diagnostica biologico molecolare, Collaborazione guidata a Ricerca e Sviluppo	€ 38.433,08	5	€ 1.921,65
12. 991 (SM)	Tecnico sanitario di laboratorio biomedico - categoria D	Tempo indeterminato - Comparto sanitario	Reparto Genomica - Diagnostica biologico molecolare	€ 39.110,07	1	€ 391,10
13. 1196 (DC)	Tecnico sanitario di laboratorio biomedico - categoria D	Tempo indeterminato - Comparto sanitario	Reparto Genomica - Diagnostica biologico molecolare	€ 37.338,59	1	€ 373,39
14. 463 (DG)	Dirigente Veterinario	Tempo indeterminato -Dirigente Professional	Laboratorio Istologia	€ 141.413,62	2	€ 2.828,27
15. 773 (LA)	Dirigente Veterinario	Tempo indeterminato -Dirigente Struttura Complessa	Sezione Diagnostica di Brescia	€ 172.852,22	2	€ 3.457,04
16. 821 (AN)	Dirigente Veterinario	Tempo indeterminato -Dirigente Struttura Complessa	Sezione Diagnostica di Mantova	€ 179.581,96	5	€ 8.979,10
17. 841 (FP)	Dirigente Veterinario	Tempo indeterminato -Dirigente Struttura Complessa	Sezione Diagnostica di Bergamo	€ 161.252,02	5	€ 8.062,60
18. 1014 (MZ)	Dirigente Veterinario	Tempo indeterminato -Dirigente Struttura Semplice	SEL - Epidemiologia	€ 130.833,09	2	€ 2.616,66
19. 1414 (DA)	Dirigente Veterinario	Tempo indeterminato -Dirigente Professional	SEL - Epidemiologia	€ 119.845,59	5	€ 5.992,28
20. 5651 (DG)	Laureato Biostatistico	Borsista dal 1/10/2013 al 16/09/2014	SEL - Epidemiologia	€ 20.026,45	5	€ 1.001,32
21. 909 (MT)	Dirigente Veterinario	Tempo indeterminato -Dirigente Professional	SEER - Epidemiologia	€ 137.586,82	2	€ 2.751,74
22. 515 (GL)	Dirigente Veterinario	Tempo indeterminato	Reparto Benessere e animali da laboratorio -	€ 172.235,85	2	€ 3.444,72

		-Dirigente Struttura Complessa	produzioni			
23. 1724 (NM)	Dirigente Veterinario	Tempo determinato 1/10/2013 – 15/3/2014, Borsista 16/3/2014 – 15/7/2014 – Dirigente	Reparto Benessere e animali da laboratorio - produzioni	€ 43.839,47	5	€ 2.191,97
24. 5430 (BMF)	Laureato Veterinario	Borsista dal 01/10/2013 al 15/9/2014	Reparto Batteriologia – PRC 2011016	€ 19.155,73	100	€ 19.155,73

**Totale Spese Personale: € 280.090,09**

## 2. Apparecchiature, tecnologie, arredi che si è acquistato nel 2014

Apparecchiature, tecnologie, arredi adibiti solo ed esclusivamente al servizio del Centro e quelli condivisi con altri laboratori.

A	B	C	D	C x D
Apparecchiatura	Quantità	Costo	Percentuale di utilizzo	Costo finale
1. Licenza Software per la Gestione Centro Referenza Leptosirosi	1	€ 23.485,00	100%	€ 23.485,00

**Totale spese apparecchiature, tecnologie, arredi: €23.485,00**

## 1. Altri costi previsti per le attività

Per la realizzazione delle iniziative volte al conseguimento degli obiettivi del programma operativo 2014, il Centro ha sostenuto le seguenti spese:

Voci di costo	costo	Ente finanziatore (se diverso dall'IZS di appartenenza)
Formazione e missioni	€ 3.929,53	Ministero della Salute RC PRC2011016
Materiali di consumo – 28,02%, Reparto Batteriologia	€ 31.370,91	
Materiali di consumo – 3% Reparto Genomica	€ 8483,49	
Servizi– 28,02%, Reparto Batteriologia	€ 6119,29	
Servizi– 3% Reparto Genomica	€ 1214,67	
Riparazioni e manutenzioni – 28,02%, Reparto Batteriologia	€ 2230,11	
Riparazioni e manutenzioni – 3% Reparto Genomica	€823,74	
Ammortamenti – 28,02% Reparto Batteriologia	€ 7.815,62	
Ammortamenti – 3% Reparto Genomica	€ 1908,57	

**Totale altre voci di costo:..... € .63.895,93**

## 2. Spese generali

**Totale altre spese generali:.....€ 36.747,10**

**Consuntivo anno 2014  
(1.+ 2. + 3. + 4.)**

**Totale € 404.218,12**

## **Ricavi 2014**

1. **Prestazioni a pagamento (breve descrizione)**  
Prestazioni standard e convenzioni; in misura limitata, profilassi e compravendita  
**Fatturato: €16.537,40**
  
2. **Progetti di ricerca finanziati dal Ministero della Salute**  
Ammontare del Finanziamento  
**€42.000**
  
3. **Progetti di ricerca finanziati da altri Enti**  
Ammontare del Finanziamento: //
  
4. **Finanziamento specifico del Ministero della Salute (specificare quale)**  
//

## **Risorse ritenute necessarie per la realizzazione delle iniziative di intervento nel 2015**

Il Centro di Referenza per svolgere l'attività prevede di sostenere i seguenti costi:

### **1. Personale**

**Totale spese personale: € 288.492,79**

### **2. Apparecchiature, tecnologie, arredi**

Apparecchiature, tecnologie, arredi adibiti solo ed esclusivamente al servizio del Centro e quelli condivisi con altri laboratori.

**Totale spese apparecchiature, tecnologie, arredi €24.189,55**

### **3. Altri costi previsti per le attività**

Per la realizzazione delle iniziative volte al conseguimento degli obiettivi del programma operativo 2015, il Centro prevede di sostenere i seguenti costi:

**Totale altre voci di costo: € 65.812,81**

### **4. Spese generali**

**Totale altre spese generali: € 37.849,51**

**Previsione totale costi anno 2015**

**(1. + 2. + 3. + 4.)**

**Totale € 416.344,66**