

**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 2013 sono le seguenti:

- Struttura complessa Reparto Genomica, con il Reparto Batteriologia aggregato:
  - 1 dirigente biologo 35% (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 (GN):
  - 1 dirigente biologo al 5%;
  - 4 tecnici di laboratorio biomedico al 5%.

Il Reparto GN mette a disposizione strutture, attrezzature e competenze a supporto diagnostico ed opera per lo sviluppo di metodiche innovative biologico-molecolari, 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 5%.

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.

- Laboratorio di Istologia con sede a Milano:
  - 1 dirigente veterinario al 5%.

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 al 5%.

Il SEL e il SEER collaborano alla gestione di focolai.

- Reparto Animali da laboratorio:

2 dirigenti veterinari al 5%.

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

Il piano d'attività 2013 descritto nei seguenti punti si riferisce al periodo 01/10/2012-30/09/2013, tenuto conto della periodicità trimestrale della reportistica di controllo di gestione; analogamente il periodo di riferimento della programmazione 2014 è 01/10/2013-30/09/2014.

### **Obiettivi strategici**

Nel corso dell'anno si è operato al miglioramento dei metodi, punto di partenza per conoscere una malattia la cui diagnosi di laboratorio può essere complessa, tanto da richiedere sia metodi che evidenziano anticorpi anti-leptospirali che metodi mirati alla ricerca di leptospire, antigeni leptospirali o acidi nucleici leptospirali in tessuti e fluidi corporei.

In merito al metodo sierologico MAT, di cui si ha annosa esperienza, ci si è confrontati tra IIZZSS, nell'ambito di un convegno accreditato ECM inter-Istituti organizzato dal CRNL nel dicembre 2012, circa la preparazione e la scelta degli antigeni, i materiali di riferimento e i controlli. La proposta di armonizzazione prevede di mantenere la soglia di 1/100, ormai adottata dalla maggioranza degli IIZZSS, sia per ragioni tecnico-scientifiche, che di gestione informatizzata del dato. Tutti gli IIZZSS sono stati coinvolti in un costante processo di collaborazione volto, da un lato, ad uniformare il pannello minimo di antigeni della routine diagnostica per dare stabilità al metodo e per favorire la confrontabilità dei dati nazionali e, dall'altro, alla verifica della scelta dei ceppi utilizzati come antigeni. 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.

In merito al secondo gruppo di metodi, nel periodo considerato, ci si è concentrati sul metodo di biologia molecolare PCR Real Time per la ricerca di leptospire patogene in campioni biologici, che spesso affianca o sostituisce l'esame colturale e sulle criticità del campionamento.

Il metodo di recente sviluppo e validazione presso il CRNL, che fa uso di controllo interno già in fase di estrazione per svelare la presenza di eventuali inibizioni, è stato diffuso in sede di convegno inter-Istituti nel dicembre 2012, insieme con le informazioni raccolte da altri IIZZSS in occasione di un ring test conoscitivo e di un'operazione di raccolta dati nazionali. Si ritiene che questo potrà consentire la tenuta sotto controllo delle *performances* delle metodiche PCR in uso presso gli IIZZSS.

In merito all'esame colturale si sono favoriti i contatti con i veterinari del territorio al fine di porre particolare cura ed attenzione nelle operazioni di prelievo, trasporto e lavorazione del campione, con buoni risultati. Per il futuro ci si propone di migliorare le tecniche colturali, che risultano spesso difficoltose trattandosi di microrganismi esigenti, di lenta crescita e labili, su recenti proposte da letteratura, 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.

Poiché si ritiene importante l'affinamento dei metodi di identificazione per il controllo della collezione di ceppi di riferimento e per l'identificazione di ceppi di campo a fini epidemiologici, 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 e quindi di supporto nelle ricostruzioni epidemiologiche. La non completa sovrapponibilità 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, revisionato e rivalidato il 15/03/2011), 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 e emesso il 25/09/2012, che sostituisce il precedente Metodo di prova interno per la ricerca di *Leptospira* spp. mediante PCR Real Time in matrici di origine animale (kit Adiavet Lepto Real Time) (MP 09/112) commerciale.

Ai Servizi di Assicurazione Qualità di Istituti Zooprofilattici richiedenti sono state fornite dal RAQ IZSLER le seguenti metodiche: MAT, colturale e PCR Real Time all'IZS della Sardegna (e-mail di richiesta del 19/12/2012); PCR Real Time all'IZS dell'Abruzzo e Molise (e-mail del 06/03/2013), all'IZS del Lazio e Toscana (richiesta anticipata il 11/06/2013 e inviata via posta elettronica il 16/07/2013) e all'IZS del Mezzogiorno (e-mail di richiesta del 16/07/2013).

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 IIZZSS 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 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 IIZZSS (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 2 Istituti Zooprofilattici per un totale di 20 colture controllate, da impiegarsi come antigeni MAT: 1 ceppo all'IZS dell'Abruzzo e del Molise (prot. 26602 del 07/11/12) e 19 ceppi all'IZS dell'Umbria e Marche (8 ceppi prot. 29513 del 10/12/12; 8 ceppi prot. 1392 del 18/01/13; 3 ceppi prot. 5177 del 07/03/13).

Nello stesso periodo è stato inoltre fornito 1 flacone di siero di riferimento negativo all'IZS dell'Umbria e Marche (prot. 1392 del 18/01/13).

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) 10.507 sieri con 8 antigeni appartenenti agli 8 sierogruppi più diffusi in Italia, per un totale di 84.058 esami. Si sono rilevate 1.646 positività, talvolta multiple, ai sierogruppi Australis, Sejroe, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Tarassovi, Canicola, Grippityphosa e Ballum in ordine di frequenza.

Nello stesso periodo, da organi e fluidi biologici, sono stati eseguiti 65 esami colturali per ricerca di *Leptospira*, di cui 11 risultati positivi e appartenenti ai sierogruppi Pomona (9) e Sejroe (2).

Sono stati inoltre eseguiti esami PCR Real Time per la ricerca di leptospire patogene in 126 campioni, di cui 23 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 80 sieri, di cui 42 conferiti dall'IZS dell'Umbria e Marche, 22 dall'IZS delle Venezie, 14 dall'IZS del Mezzogiorno e 2 dall'IZS del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta:

- 5 di bovino (1 siero prot. 28688 del 30/11/12 Portici; 1 siero prot. 29564 del 10/12/12 Catanzaro; 3 sieri prot. 439 del 08/01/13 Catanzaro) dell'IZS del Mezzogiorno;
- 26 di bovino (7 sieri prot. 2216 del 29/01/13; 17 sieri prot. 3176 del 11/02/13; 2 sieri prot. 4268 del 26/02/13) dell'IZS dell'Umbria e Marche;
- 22 di bovino (prot. 20621 del 30/09/13) dell'IZS delle Venezie;

- 1 di bufalo (prot. 30389 del 19/12/12 Salerno) dell'IZS del Mezzogiorno;
- 14 di bufalo (prot. 6163 del 18/03/13) dell'IZS dell'Umbria e Marche;
- 2 di cane (1 siero prot. 946 del 15/01/13; 1 siero prot. 4016 del 22/02/13) dell'IZS Umbria e Marche;
- 2 di cane (prot. 18621 del 30/08/13) dell'IZS del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta;
- 7 di capra (prot. 26015 del 30/10/12) dell'IZS del Mezzogiorno;
- 1 siero di toro (prot. 23335 del 01/10/12) dell'IZS del Mezzogiorno.

I 22 sieri di bovino dell' IZS Venezia sono stati esaminati con un pannello allargato di 24 antigeni.

Nello stesso periodo sono stati sottoposti a conferma diagnostica con il metodo PCR Real Time 9 campioni biologici conferiti dall' IZS dell'Umbria e Marche:

- 6 organi, fluidi biologici e estratti di DNA di 1 cane (prot. 16195 del 17/07/13);
- 3 organi e fluidi biologici di 1 cane (prot. 18112 del 20/08/13).

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 di un circuito inter-laboratorio PCR leptospirosi tra Istituti Zooprofilattici (secondo l'art. 2 del D.M. 4 ottobre 1999, comma c) a cui hanno aderito 11 laboratori, di cui 7 appartenenti a 7 diversi Istituti Zooprofilattici e 4 appartenenti all'Istituto organizzatore. I campioni, accompagnati da Protocollo Operativo e Scheda di Registrazione dei Risultati, sono stati inviati il 06/11/2012 ai laboratori appartenenti a Istituti diversi dall'organizzatore (prot. 26288 del 02/11/2012) e il 13-14/11/2012 alle Sezioni IZSLER partecipanti (prot. 26603 del 7/11/13), con termine per l'invio dei risultati fissato al 30/11/2012. Ciascun laboratorio partecipante ha ricevuto 6 campioni di sangue bovino e 6 campioni costituiti da DNA estratto dagli stessi campioni, da analizzare con le metodiche PCR utilizzate per la diagnosi di Leptospirosi. I risultati del ring test sono stati anticipati il 14/12/2012 al convegno "Attività diagnostica leptospirosi presso il Centro di riferimento e gli Istituti Zooprofilattici" organizzato dal CRNL, a cui sono stati invitati tutti gli Istituti Zooprofilattici (e-mail di invito del 26/07/2012 e di invio verbale del 10/01/2013) e le tre Sezioni partecipanti al circuito (e-mail di invito del 26/11/2012). Il report del circuito inter-laboratorio PCR leptospirosi 2012 è stato inviato via posta elettronica il 16/07/2013 ai partecipanti e, per conoscenza, al rappresentante ministeriale intervenuto al convegno, Dr. Ruocco. Complessivamente la prova valutativa ha mostrato un risultato soddisfacente e piuttosto omogeneo tra i partecipanti. La maggior parte delle differenze sono attribuibili alla sensibilità dei metodi utilizzati, infatti i tre laboratori che hanno utilizzato la metodica di PCR end-point hanno ottenuto esiti falsamente negativi sui campioni meno contaminati. Il metodo in uso presso l'Istituto organizzatore è stato inviato agli IZZSS che ne hanno fatto richiesta (v.punto 1). Allo stesso convegno sono stati anche presentati i risultati dell'ultimo ring test MAT organizzato dal CRNL.

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

Il CRNL ha partecipato, all' "International Proficiency Testing Scheme for the Leptospirosis MAT –Round 11" 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. I risultati ottenuti a seguito della partecipazione al circuito (inviati in internet 01/08/2013) confermano la validità delle procedure e dei controlli applicati agli Ag diagnostici presso il CRNL (come da report preliminare ricevuto via posta elettronica il 27/10/2013).

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

Oltre che sull'esame anatomo-patologico in sede necroscopica eseguito 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° 30 campioni, di cui 15 positivi.

### **Epidemiologia**

1) creazione di banca dati;

I dati nazionali di attività diagnostica 2010 e 2011, raccolti a seguito di richiesta ai Direttori degli IIZZSS (prot. 21953 del 08/08/2011 e prot. 18733 del 23/07/2012) e, limitatamente al 2012, di invio di apposito format (e-mail del 26/07/2012), sono stati elaborati manualmente, integrati e restituiti agli IIZZSS nel corso dell'evento formativo 2012 sull'"Attività diagnostica leptospirosi presso il Centro di referenza e gli Istituti Zooprofilattici". La ricognizione della casistica e dei metodi applicati presso gli IIZZSS, effettuata nell'occasione, è risultata utile all'organizzazione ed alla valutazione del circuito interlaboratorio organizzato nell'anno e potrà servire anche in futuro miratamente all'armonizzazione delle metodiche.

2) sviluppo e gestione di sistemi informativi;

E' stato impostato dal CRNL, in collaborazione con i Sistemi informativi IZSLER, un prodotto informatico di gestione dei dati di laboratorio leptospirosi. La prima applicazione riguarderà i dati del territorio bi-regionale di competenza, ma si stanno valutando diverse modalità di raccolta dati informatizzata, per facilitare e rendere maggiormente fruibili le future raccolte di dati nazionali, necessarie alla formulazione di pareri a supporto delle decisioni del Ministero (v. consulenze, punto 2). Tali database potrebbero essere messi annualmente a disposizione del Ministero e risultare di utilità anche alla predisposizione di piani nazionali di controllo.

Si ritiene inoltre opportuna e si auspica la creazione di una rete informatizzata di raccolta permanente dei dati nazionali di laboratorio sulla leptospirosi, che favorirebbe un costante monitoraggio della malattia sul territorio italiano e lo scambio di informazioni con le istituzioni a livello nazionale ed internazionale (e-mail Dr. Ruocco del 17/04/2013 e del 17/5/13).

Il Centro sta anche provvedendo ad implementare, con accorgimenti che tengano conto delle peculiarità dell'esame sierologico leptospirosi, un software IZSLER per la gestione e la raccolta dei risultati dei ring test, con l'intenzione di adottarlo già a partire dalle prossime edizioni di circuiti inter-laboratorio organizzati dal CRNL.

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

v. punto 2

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.*) Sono stati attivati i progetti di ricerca corrente ministeriale PRC2011016 "Produzione di linee guida e metodi diagnostici per la gestione di focolai di leptospirosi bovina" del CRNL e PRC2011115 "Indagine sulla prevalenza della leptospirosi nella fauna selvatica della Sardegna" dell'IZS della Sardegna con il CRNL responsabile di UO.

Si è anche aderito all'invito dell'IZS delle Venezie a collaborare ad un progetto di ricerca corrente ministeriale proposto per il 2012 "La Leptospirosi negli animali da compagnia e il suo impatto sulla Sanità Animale".

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

### **Aggiornamento e formazione professionale**

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

Si è partecipato al Corso ECM 2012 "La leptospirosi: nuove acquisizioni" organizzato dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A. Mirri", Palermo il 12 ottobre 2012 con la relazione dal titolo "Diagnosi di laboratorio delle leptospirosi animali".

Si è partecipato al Corso ECM 2013 "La Leptospirosi, una zoonosi sottovalutata" organizzato dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A. Mirri", Palermo, il 02 Luglio 2013 con la relazione dal titolo "Diagnosi di laboratorio delle leptospirosi animali: metodiche tradizionali e innovative".

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

Si è organizzato un evento formativo (14 dicembre 2012) sull'"Attività diagnostica leptospirosi presso il Centro di referenza e gli Istituti Zooprofilattici" con accreditamento ECM. In tale occasione sono stati presentati e discussi dati della rete IIZZSS, esiti dei circuiti interlaboratorio organizzati dal CRNL e aggiornamenti diagnostici volti al miglioramento e all'armonizzazione delle metodiche, dando spazio ad interventi degli IIZZSS (invio verbale al rappresentante ministeriale intervenuto, Dr. Ruocco e ai referenti IIZZSS e-mail del 10/01/2013).

Si è partecipato al LXVII Convegno Nazionale S.I.S.Vet Società Italiana delle Scienze Veterinarie, Centro Congressi Camera di Commercio di Brescia, 17-19 settembre 2013 con la presentazione dei dati nazionali sierologici 2010-2011 leptospirosi.

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

Il documento su linee guida e misure da adottare per la gestione dei focolai di leptospirosi al fine di aggiornare l'OM 4 settembre 1985, già inviato in bozza al Referente Ministeriale, andrà completato e reso definitivo nel 2014 con l'apporto degli altri componenti del tavolo tecnico.

### **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 Affari Internazionali del Ministero della Salute di un "Dossier di malattie infettive relativo alla leptospirosi bovina in Italia" (prot. 10354 del 09/05/2013) richiesto dalla Dr.ssa Alessia Garofalo (e-mail del 24/04/2013), finalizzato a consentire l'esportazione di bovini vivi in Turchia, comprensivo di dati MAT 2010-2011 raccolti manualmente per il bovino in occasione del convegno interistituti organizzato dal CR il 14 dicembre 2012.

Sono stati mantenuti contatti a supporto degli IZZSS. Sono state fornite informazioni all'IZS dell'Abruzzo e Molise sulla validazione del Metodo PCR Real Time (e-mail 06/03/2013) e all'IZS dell'Umbria e Marche sui sieri iperimmuni da utilizzare come controllo del metodo sierologico (e-mail 10/01/2013).

3) Attività di docenza

Illustrazione dell'attività di diagnostica della leptospirosi presso il CRNL a studenti del V anno del Corso di Laurea Magistrale in Medicina Veterinaria dell'Università degli Studi di Milano, accompagnati dalla Prof.ssa Stefania Lauzi, del Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Docente all'interno del Modulo "Dal laboratorio all'ambulatorio: diagnostica e profilassi delle malattie infettive degli animali da compagnia" in corso di visita del 15/04/13, ore 11,00-13,00 (prot. 6975 del 27/03/2013 e prot. 7211 del 28/03/2013).

### **Consulenze e collaborazioni europee**

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

Richiesta di parere sullo schema di genotipizzazione MLST al Dr. Hartskeerl, Leptospirosis Reference Centre, Royal Tropical Institute (KIT) - Amsterdam (Olanda) (e-mail 04/10/12).

### **Consulenze e collaborazioni internazionali**

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

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

- Figarolli B.M., D'Incau M., Tagliabue S. (2013) Leptospirosi: guardiamola in faccia. La Settimana Veterinaria n. 835 (19 giugno 2013), 4-10.
- 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. (2013) Serological surveillance of leptospirosis in Italy: two year period national data (2010-2011) LXVII Convegno Nazionale S.I.S.Vet Società Italiana delle Scienze Veterinarie, Centro Congressi Camera di Commercio di Brescia, 17-19 settembre 2013, pag 66.

**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, 13/11/2013

Il Direttore del CRNL  
Dr.ssa Silvia Tagliabue

# Consuntivo 2013 (1/10/2012-30/9/2013)

## 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 | € 144.485,75      | 35                      | € 50.570,01  |
| 2. 1041 (MD)                       | Dirigente veterinario  | Tempo indeterminato –Dirigente Struttura semplice   | Reparto Batteriologia – Diagnostica, Assicurazione qualità  | € 125.395,96      | 10                      | € 12.539,60  |
| 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               | € 46.901,13       | 55                      | € 25.795,62  |
| 4. 605 (MF)                        | Tecnico sanitario di laboratorio biomedico–categoria D                         | Tempo indeterminato – Comparto sanitario            | Reparto Batteriologia– Diagnostica sierologica, Collaborazione guidata a Ricerca e Sviluppo   | € 44.518,97       | 80                      | € 35.615,18  |
| 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                             | € 38.836,61       | 90                      | € 34.952,95  |
| 6. 432 (DL)                        | Operatore tecnico – categoria B  | Tempo indeterminato – Comparto tecnico              | Reparto Batteriologia– Terreni colturali, Accettazione, Diagnostica sierologica   | € 35.172,19       | 90                      | € 31.654,97  |
| 7. 398 (GC)                        | Assistente tecnico categoria C   | Tempo indeterminato – Comparto tecnico              | Reparto Batteriologia– Accettazione, controlli autoclave  | € 38.334,46       | 5                       | € 1.916,72   |
| 8. 1136 (PT)                       | Assistente tecnico categoria C   | Tempo indeterminato – Comparto tecnico              | Reparto Batteriologia– Accettazione   | € 35.809,26       | 5                       | € 1.790,46   |
| 9. 1416 (BB)                       | Dirigente Biologo  | Tempo indeterminato – Dirigente Professional        | Reparto Genomica - Ricerca e Sviluppo, Supporto diagnostico settore biologia molecolare   | € 92.053,10       | 5                       | € 4.602,66   |
| 10. 558 (AM)                       | Tecnico sanitario di   | Tempo indeterminato                                 | Reparto Genomica - Diagnostica biologico  | € 45.246,72       | 5                       | € 2.262,34   |

|                    |  |  |   |              |                  |            |
|--------------------|--|--|---|--------------|------------------|------------|
|                    | laboratorio<br>biomedico -<br>categoria DS                           | - Comparto<br>sanitario  | molecolare  |              |                  |            |
| 11. 1124 (DL)      | Tecnico<br>sanitario di<br>laboratorio<br>biomedico -<br>categoria D | Tempo<br>indeterminato<br>- Comparto<br>sanitario              | Reparto Genomica -<br>Diagnostica biologico<br>molecolare     | € 40.160,82  | 5                | € 2.008,04 |
| 12. 991 (SM)       | Tecnico<br>sanitario di<br>laboratorio<br>biomedico -<br>categoria D | Tempo<br>indeterminato<br>- Comparto<br>sanitario              | Reparto Genomica -<br>Diagnostica biologico<br>molecolare     | € 40.761,92  | 5                | € 2.038,10 |
| 13. 1196<br>(DC)   | Tecnico<br>sanitario di<br>laboratorio<br>biomedico -<br>categoria D | Tempo<br>indeterminato<br>- Comparto<br>sanitario              | Reparto Genomica -<br>Diagnostica biologico<br>molecolare     | € 39.066,92  | 5                | € 1.953,35 |
| 14. 463 (DG)       | Dirigente<br>Veterinario   | Tempo<br>indeterminato<br>-Dirigente<br>Professional           | Laboratorio Istologia   | € 144.836,47 | 5                | € 7.241,82 |
| 15. 773 (LA)       | Dirigente<br>Veterinario   | Tempo<br>indeterminato<br>-Dirigente<br>Struttura<br>Complessa | Sezione Diagnostica di<br>Brescia                             | € 174.406,02 | 5                | € 8.720,30 |
| 16. 1014<br>(MZ)   | Dirigente<br>Veterinario   | Tempo<br>indeterminato<br>-Dirigente<br>Struttura<br>Semplice  | SEL - Epidemiologia   | € 133.461,19 | 5                | € 6.673,06 |
| 17. 909 (MT)       | Dirigente<br>Veterinario   | Tempo<br>indeterminato<br>-Dirigente<br>Professional           | SEER - Epidemiologia  | € 141.037,71 | 5                | € 7.051,89 |
| 18. 1524<br>(GG)   | Dirigente<br>Veterinario   | Tempo<br>indeterminato<br>-Dirigente<br>Professional           | SEER - Epidemiologia  | € 41.135,02  | 5                | € 2.056,75 |
| 19. 515 (GL)       | Dirigente<br>Veterinario   | Tempo<br>indeterminato<br>-Dirigente<br>Struttura<br>Complessa | Reparto Benessere e<br>animali da laboratorio -<br>produzioni | € 179.126,70 | 5                | € 8.956,34 |
| 20. 1724<br>(NM)   | Dirigente<br>Veterinario   | Tempo<br>determinato -<br>Dirigente<br>Professional            | Reparto Benessere e<br>animali da laboratorio -<br>produzioni | € 80.889,80  | 5                | € 4.044,49 |
| 21. 15430<br>(BMF) | Laureato<br>Veterinario  | Borsista   | Reparto Batteriologia -<br>PRC 2011016                        | € 18206,24   | 100% x<br>318 gg | € 18206,24 |

**Totale Spese Personale: € 270.650,87**

## **2. Apparecchiature, tecnologie, arredi che si è acquistato nel 2013**

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. Manutenzioni e riparazioni - Laboratorio diagnostica e sierologia leptospire U201, Reparto Batteriologia | /        | € 3.180,00  | 100%                    | € 3.180,00   |
| 2. Manutenzioni e riparazioni - Reparto Genomica  | /        | € 44.951,00 | 2%                      | € 899,02     |
| 3. Cappa a flusso laminare mod. smart fast - dasit - U299 Reparto Batteriologia                             | 1        | € 3603,75   | 33%                     | € 1189,24    |

**Totale spese apparecchiature, tecnologie, arredi: €5.268,26**

## 1. Altri costi previsti per le attività

Per la realizzazione delle iniziative volte al conseguimento degli obiettivi del programma operativo 2013, il Centro ha sostenuto le seguenti spese:

| Voci di costo  | costo       | Ente finanziatore (se diverso dall'IZS di appartenenza) |
|--|-------------|---|
| Materiali di consumo – Laboratorio diagnostica e sierologia leptospire U201, Reparto Batteriologia   | € 43.997,00 |   |
| Materiali di consumo – 2% Reparto Genomica   | € 12.830,88 |   |
| Altri costi– piccole apparecchiature, prevenzione e sicurezza, articoli pulizia, vestiario, presidi sanitari, formazione, vari, utenze, altri servizi (trasporto, vigilanza, vari) - Laboratorio diagnostica e sierologia leptospire U201, Reparto Batteriologia | € 22.777,00 |   |
| Altri costi – piccole apparecchiature, prevenzione e sicurezza, articoli pulizia, vestiario, presidi sanitari, formazione, vari, utenze, altri servizi (trasporto, locazione e noleggio, vigilanza, vari),– 2% Reparto Genomica                                  | € 2.840,46  |   |

**Totale altre voci di costo: € 82.445,34**

## 2. Spese generali

**Totale altre spese generali: € 35.836,45**

**Consuntivo anno 2013  
(1.+ 2. + 3. + 4.)**

**Totale € 394.200,92**

## **Ricavi 2013**

1. **Prestazioni a pagamento (breve descrizione)**  
Prestazioni standard e convenzioni; in misura limitata, profilassi e compravendita  
**Fatturato: € 85.516,00**
2. **Progetti di ricerca finanziati dal Ministero della Salute**  
Ammontare del Finanziamento
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 2014**

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

## **1. Personale**

**Totale spese personale: € 276.063,89**

## **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 €5.373,63**

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

Per la realizzazione delle iniziative volte al conseguimento degli obiettivi del programma operativo 2014, il Centro prevede di sostenere i seguenti costi:

**Totale altre voci di costo: € 84.094,25**

## **4. Spese generali**

**Totale altre spese generali: € 36.553,18**

**Previsione totale costi anno 2014**

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

**Totale € 402.084,94**