

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

ATTIVITA' SVOLTA NELL'ANNO 2004 (periodo di riferimento 01/10/2003- 30/09/2004)
D.M. 4 ottobre 1999 "Centri di Referenza Nazionali nel Settore Veterinario", Art.5

L'attività svolta dal Centro di Referenza Nazionale per la Leptospirosi (CRNL) presso la Sede Centrale dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna (IZSLER) nel corso dell'anno 2004 è parzialmente inserita in un progetto di ricerca corrente 2002 (PRC2002008) finanziato dal Ministero della Salute dal titolo "Studio epidemiologico sulla leptospirosi suina nella Regione Lombardia", in collaborazione con l'Osservatorio Epidemiologico Veterinario della Regione Lombardia (OEVR).

1 Risorse umane e strumentali delle Strutture partecipanti alle attività del CRNL

Il Reparto di Batteriologia Specializzata (BA) comprende fra i suoi laboratori quello del CRNL, gestito separatamente come Centro di Costo G201.

Il Reparto BA dispone delle attrezzature necessarie per lo svolgimento dell'attività diagnostica colturale, sierologica e biologico-molecolare (di base), per la produzione di ceppi e sieri (in collaborazione con il Centro Allevamento e Sperimentazioni Animali IZSLER), per la conservazione in azoto liquido di ceppi di riferimento e di campo e per le attività di ricerca nell'ambito di questi settori.

Il personale dipendente del Reparto BA, partecipante al CRNL, è costituito da n° 8 unità a tempo indeterminato, con impegno orario di seguito specificato in percentuale: 1 dirigente biologo 55%, 1 dirigente veterinario 10%, 2 tecnici di laboratorio biomedico, di cui 1 al 95% e 1 al 70%, e 4 operatori tecnici sanitari addetti ai servizi di laboratorio, di cui 2 all'85% e 2 al 10%. Il personale non dipendente/ a contratto del Reparto BA, partecipante al CRNL, finanziato interamente da progetti di ricerca corrente 2002, comprende n° 4 unità interamente dedicate: 1 borsista veterinario al 100%, 3 borsisti tecnici di laboratorio biomedico al 100%.

Grazie al PRC2002008 "Studio epidemiologico sulla leptospirosi suina nella Regione Lombardia" si è consolidata la collaborazione con l'OEVR, che si occupa dello studio della diffusione della patologia nei suini domestici e dei fattori di rischio individuali ed ambientali.

L'OEVR partecipa alle attività del CRNL con n° 1 unità a tempo indeterminato (dirigente veterinario al 10%) e con 1 borsista veterinario al 100%, finanziato interamente da progetto di ricerca corrente 2002.

Il Reparto di Biologia Molecolare (BM) IZSLER mette a disposizione strutture, attrezzature e competenze a supporto diagnostico ed opera, nell'ambito dei progetti di ricerca attivati, per lo sviluppo di metodiche innovative biologico-molecolari, al fine del controllo d'identità e della stabilità genetica nel tempo dei ceppi di *Leptospira* di riferimento e dell'evidenziazione e caratterizzazione di leptospire patogene nei campioni biologici.

Il Reparto BM opera a supporto del CRNL con n° 2 unità a tempo indeterminato (1 dirigente biologo al 5% e 1 tecnico di laboratorio biomedico al 5%).

Per il progetto di ricerca corrente 2003 (PRC2003022) "Aggiornamento e utilizzo di metodiche biomolecolari per la diagnosi di leptospirosi su ceppi isolati e materiale patologico" si è in attesa di personale non dipendente/ a contratto: 1 unità di borsista biologo.

2 Attività diagnostica (Reparto Batteriologia Specializzata, CdC G201)

Applicazione a sieri diagnostici della metodica di agglutinazione microscopica (MAT) (Metodo di prova IZSLER, accreditato SINAL con il n° MP04/019, validato), applicazione a campioni biologici (reni) della metodica di isolamento (Metodo di prova interno non codificato), applicazione, a ceppi isolati di *Leptospira*, della MAT finalizzata alla sierotipizzazione e della metodica di PCR/RFLP per la tipizzazione a livello di sierogruppo o sierovariante o genotipo (Metodi di prova interni).

Nel periodo di riferimento considerato (ultimo trimestre 2003 e primi 3 trimestri 2004, vedi paragrafo relativo all'analisi dei costi sostenuti durante l'anno 2004), 17.785 sieri sono stati messi a confronto con 8 antigeni appartenenti agli 8 sierogruppi più diffusi in Italia, mediante MAT (MP04/019), per un totale di 142.280 esami, di cui 1.920 positivi (Australis, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Sejroe, Grippytyphosa, Tarassovi, Canicola e Ballum, in ordine di frequenza). Nello stesso periodo, da organi e fluidi biologici, sono state eseguiti 131 esami colturali per ricerca *Leptospira* (di cui 29 in corso), con 6 risultati positivi; i 6 ceppi di *Leptospira*, isolati tutti da reni suini, sono stati identificati come Pomona.

L'attività nominale, quantificata dall'Ufficio Controllo di Gestione per il periodo di riferimento ammonta a 155.391,00 euro.

3 Partecipazione a proficiency test internazionale (Reparto Batteriologia Specializzata, CdC G201)

Nel corso dell'anno 2004 il CRNL ha partecipato, insieme con altri 74 laboratori, all'”*International Proficiency Testing Scheme for the Leptospirosis MAT –Round 3*” sulla prova di agglutinazione microscopica (MAT), organizzato da Roderick Chappel del National Serology Reference Laboratory australiano (NRL), coadiuvato da Rudy A. Hartskeerl e Marga Goris del Leptospirosis Reference Centre, Royal Tropical Institute (KIT) di Amsterdam, Olanda, e da Martin F. Palmer del Leptospirosis Reference Unit, Public Health Laboratory Service (PHLS) di Hereford, 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 (prot. 14373 del 13/05/2004). Dai risultati si conferma la validità delle procedure e dei controlli applicati agli antigeni diagnostici presso il nostro Centro (e-mail del 09/07/04, risultati preliminari, e-mail del 12/11/04 e prot. 35020 del 24/11/04, risultati definitivi). Dalla data di attivazione del CRNL, si è partecipato alle due precedenti edizioni (*Round 1* prot. 15313 del 18/06/2002; *Round 2* prot. 20319 del 09/09/2003).

4 Attività di produzione (Reparto Batteriologia Specializzata, CdC G201)

Il CRNL produce, si rifornisce e detiene i reagenti di referenza, quali antigeni e antisieri (secondo l'art. 2 del D.M. 4 ottobre 1999, comma *d*): nel periodo di riferimento considerato ha mantenuto una collezione di ceppi di referenza e di campo, conservati a temperatura ambiente per passaggi seriali e in azoto liquido; ha inoltre conservato e controllato, con sieri di riferimento di provenienza Royal Tropical Institute (KIT) di Amsterdam (Laboratorio di Referenza OIE, FAO, OMS per la leptospirosi), sieri di riferimento secondari verso gli 8 sierogruppi più diffusi in Italia e ricercati nella metodica MAT per la sierodiagnosi.

5 Attività di coordinamento con altri Istituti Zooprofilattici (Reparto Batteriologia Specializzata, CdC G201)

In base ai compiti richiamati dall'articolo 2 del D.M. 4 ottobre 1999 “Centri di Referenza Nazionali nel Settore Veterinario”, nel periodo di riferimento considerato, sono state svolte le seguenti attività. Conferma di diagnosi di altri Istituti Zooprofilattici (secondo l'**art. 2 comma a**): 1 ceppo di campo per tipizzazione *Leptospira* dell'IZS Sicilia (prot. 23318 del 20/08/04). Dalla data di attivazione del CRNL è stata effettuata diagnosi sierologica per l'IZS del Mezzogiorno per 8 sieri (4 sieri prot. 26809 del 06/11/02; 4 sieri prot. 28202 del 18/11/02). Sempre dalla data di attivazione del CRNL è stata controllata l'identità di 27 ceppi, utilizzati come antigeni MAT, dell'IZS delle Venezie (16 ceppi prot. 27491 del 17/10/2000) e del Lazio e Toscana (9 ceppi prot. 18662 del 26/07/02; 2 ceppi prot. 24614 del 15/10/04).

Richiesta di dati relativi agli esiti delle prove di agglutinazione microscopica (MAT) condotte negli Istituti Zooprofilattici, destinati alla stesura del report dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) (vedi punto 8): elaborazione dati, con la finalità di attuare la standardizzazione delle metodiche di analisi (secondo l'**art. 2 comma b**). Dalla data di attivazione del CRNL, secondo il compito di avviare in collaborazione con l'ISS idonei *ring test* (secondo l'**art. 2 comma c**), in previsione dell'organizzazione del primo circuito interlaboratori del CRNL, è stata avviata una collaborazione con il Dr. Franco Ciuchini, esperto designato dal Responsabile del Laboratorio di Medicina

Veterinaria dell'ISS alla collaborazione nella realizzazione di *ring test* con l'IZSLER (prot. 1686 del 12/01/01, prot. 9085 del 16/03/01, prot. 10135 del 23/03/01), che ha portato alla stesura di un verbale di riunione sull'organizzazione dei *ring test* riguardanti il CRN Leptosirosi e il CRN Tubercolosi (fax del 11/05/01). Ne è seguita l'organizzazione di un *ring test* conoscitivo, che ha permesso l'avvio di una rete informativa tra il CRNL e gli altri IIZZSS (prot. 12574 del 20/04/01: lettera di invito; prot. 37722 del 17/12/01: relazione finale; prot. 10971 del 30/04/02 considerazioni relative all'IZS delle Venezia).

Fornitura di colture di *Leptospira* e relativi antisieri ad altri Istituti Zooprofilattici (secondo l'**art. 2 comma d**): nel periodo considerato sono state effettuate 8 forniture a 6 IIZZSS (IZS Sicilia prot. 30793 del 05/12/03; IZS Mezzogiorno, prot. 8068 del 10/03/04; IZS Umbria e Marche, prot. 9177 del 19/03/04; IZS Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, prot. 10338 del 01/04/04 e prot. 13381 del 03/05/04; IZS Venezia, prot. 14193 del 11/05/04 e 32161 02/11/04; IZS Sardegna, prot. 32162 del 02/11/04) per un totale di 23 colture controllate, da impiegarsi come antigeni MAT, e 17 sieri di riferimento secondario liofilizzati e controllati, da impiegarsi come sieri positivi di controllo MAT, tutti di produzione interna. Dalla data di attivazione del CRNL, sono stati effettuati altri 10 invii di ceppi e sieri a 6 IIZZSS: IZS Mezzogiorno prot. 16012 del 16/06/2000, prot. 3589 del 29/01/01, prot. 28701 del 21/11/02 e prot. 13619 del 10/06/03; IZS Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta prot. 20635 del 04/08/2000; IZS Lazio e Toscana prot. 6929 del 23/02/01 e prot. 10630 del 23/04/02; all'IZS dell'Umbria e Marche e-mail del 8-9/02/2000; all'IZS Sicilia prot. 5683 del 01/03/02; IZS Venezia prot. 14729 del 24/06/03, per un totale di 52 colture controllate, da impiegarsi come antigeni MAT, 15 sieri di riferimento secondario liofilizzati e controllati, da impiegarsi come sieri positivi di controllo MAT, tutti di produzione interna e 8 provette di terreno colturale EMJH pronto per l'uso. In occasione del *ring test* conoscitivo, sono inoltre state inviate agli 8 IIZZSS partecipanti (tutti tranne IZS Abruzzo e Molise, prot. 15644 del 28/05/04) e all'Università di Pisa, le 8 colture utilizzate come antigeni presso il CRNL (prot. 17804 del 14/06/01), per un totale di altri 72 ceppi, 8 sieri positivi di controllo e 4 sieri da provare, per un totale di 108 sieri liofilizzati. E' stato inoltre fornito arricchimento per il terreno colturale EMJH, di produzione interna e di difficile e laboriosa preparazione dato il contenuto in oligoelementi e la necessità di filtrazione, all'IZS Umbria e Marche (consegna del 25/05/01 e prot 18716 del 22/06/01) e all'IZS Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta (con i reagenti del ring test, prot. 17804 del 14/06/01), per indisponibilità del prodotto commerciale Difco dovuta al cambio della linea di produzione, causa problemi di contaminazione.

Nel periodo considerato, in osservanza al compito di invio di metodi ufficiali di analisi (secondo l'**art. 2 comma e**) è stato inviato il metodo interno non codificato di isolamento per leptospire, unitamente alle schede con composizione, preparazione e controlli dei terreni colturali necessari, all'IZS della Puglia e Basilicata (prot. 25855 del 03/11/03). Dalla data di attivazione del CRNL sono state inoltre inviate, su richiesta, copie non controllate del MP04/019 IZSLER, accreditato SINAL, all'IZS del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta (13/03/03) e all'IZS della Sicilia (14/05/03), per l'armonizzazione dell'attività diagnostica leptosirosi mediante MAT e la standardizzazione della metodica.

Formazione per il personale di altri Istituti Zooprofilattici (secondo l'**art. 2 comma f**): visita formativa di 2 giorni per due operatori dell'IZS del Mezzogiorno (prot. 23402 del 15/10/03), finalizzata all'apprendimento di tecniche di coltura e di conservazione di ceppi di *Leptospira*, di tecniche di microscopia per l'osservazione di colture di *Leptospira*, della MAT per la diagnosi sierologica di leptosirosi. Dalla data di attivazione del CRNL, sono state curate in tutto 6 visite formative per il personale di 6 diversi IIZZSS (Umbria e Marche prot. 5176 del 23/02/2000, Sicilia prot. 7153 del 13/03/02, Abruzzo e Molise prot. 9978 del 16/04/02, Lazio e Toscana prot. 18662 del 26/07/02, Venezia prot. 9702 del 18/04/03, Mezzogiorno prot. 23402 del 15/10/03) (oltre a uno *stage* per una laureata in Veterinaria dell'Università di Ioannina, Grecia, prot.14780 del 24/06/03).

Fornitura di informazioni relative alle novità nel settore specialistico (secondo l'**art. 2 comma g**): all'IZS Abruzzo e Molise, nell'ambito di assistenza e supporto forniti per l'avvio dell'attività di diagnostica sierologica, su preparazione del terreno colturale per *Leptospira* EMJH (e-mail

13/10/04) e tecniche di microscopia (27/10/04), e all'IZS della Sardegna sul vaccino leptospirosi suina (presidio immunizzante Izovac leptospirosi 3) (e-mail 15/11/04).

6 Assistenza e informazioni specialistiche al Ministero della Salute (Reparto Batteriologia Specializzata)

E' stato espresso parere, su richiesta, (secondo l'**art. 2 comma 1**) sul rilievo di anticorpi anti-*Leptospira* al fine dell'importazione di camelidi (e-mail 13/10/03).

Per meglio adempiere ai compiti richiamati dal Decreto, dalla data di attivazione del CRNL si è avviata la collaborazione con il Prof. Ernesto Andreani, Istituto Malattie Infettive, Dipartimento Alimenti, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria, Università degli Studi di Pisa (prot.15068 del 21/05/01).

Più recentemente, nel periodo di riferimento considerato, sono stati allacciati rapporti più stretti con Roderick Chappel del National Serology Reference Laboratory australiano (NRL) (e-mail del 28/04/04 e del 04/05/04) e con Rudy A. Hartskeerl del Leptospirosis Reference Centre, Royal Tropical Institute (KIT) di Amsterdam, Laboratorio di Referenza OIE, FAO, OMS per la leptospirosi (prot. 17739 del 11/06/04).

7 Assistenza e informazioni specialistiche ad altri Enti (Reparto Batteriologia Specializzata)

Dalla data di attivazione del CRNL sono stati inviati dati riguardanti positività sierologiche di sieri di nutria al Servizio Territorio e Ambiente Rurale Regione Emilia Romagna (prot. 13172 del 18/05/2000) e informazioni riguardanti il rischio sanitario nutrie al Movimento Ecologico Nazionale Uomo/Natura/Animali di CR (prot. 28927 del 24/09/01).

Sono stati inoltre trasmessi i risultati dell'attività di sierodiagnosi 1995-1999 al Prof. Andreani Università di Pisa per il convegno sulle leptospirosi dell'ISS svoltosi a Messina nell'ottobre 2000 (prot. 18036 del 06/07/2000).

Si è sempre provveduto, annualmente, a rendere disponibili i risultati della sierodiagnosi di leptospirosi della fauna selvatica, destinati alla reportistica malattie di lista B OIE, Parigi.

8 Pubblicazioni su riviste (Reparto Batteriologia Specializzata in collaborazione con OEVR)

Report sulle zoonosi Istituto Superiore di Sanità: capitolo relativo alla leptospirosi a cura di S. Tagliabue *et al.* per la parte veterinaria e L. Ciceroni *et al.* per la parte umana.

9 Attività di ricerca

Relazione sullo stato dei lavori al 30/09/2004 del PRC2002008 (02/02/04-01/02/06)- "Studio epidemiologico sulla leptospirosi suina nella Regione Lombardia" (Responsabile Progetto S.Tagliabue; U.O.2: Responsabile V.Tranquillo U.O.3: Responsabile M.Pacciarini;)

La popolazione di studio è costituita dagli allevamenti suini da riproduzione della regione Lombardia. Ai fini del campionamento ci si è avvalsi del database degli allevamenti suini sottoposti al piano di monitoraggio per la malattia vescicolare dell'anno 2003. In base a considerazioni sulla epidemiologia della leptospirosi suina si è proceduto ad effettuare un campionamento stratificato proporzionale per provincia, per tipologia di allevamento e per consistenza numerica dei riproduttori presenti in allevamento.

Non essendo a conoscenza del livello reale di prevalenza della leptospirosi nella popolazione suina lombarda, il numero di campioni da prelevare è stato calcolato ipotizzando una prevalenza attesa pari al 50% con intervallo di confidenza del 95% e precisione del 5%.

I sieri da sottoporre ad esame provengono dall'attività corrente di prelievo finalizzata al monitoraggio della MVS e pertanto sottostanno ai criteri di raccolta previsti dal piano.

L'elaborazione dei dati dovrebbe portare a classificare con una sensibilità del 95% tutti gli allevamenti con una sieroprevalenza intra-allevamento superiore o uguale al 25% e ad identificare eventuali fattori e/o determinanti di rischio associati alla presenza e diffusione delle leptospire.

Sulla base dei riscontri derivanti dallo studio dei dati bibliografici raccolti, di informazioni specialistiche acquisite presso esperti nazionali ed internazionali, della valutazione degli isolamenti colturali effettuati da mammiferi domestici e selvatici e considerati i risultati di alcune prove di sensibilità con sieri di riferimento internazionali e di campo, si è proceduto alla selezione ed al reperimento degli antigeni da utilizzare nell'applicazione del metodo sierologico di riferimento

MAT. Tali antigeni (vedi tab. n°1) costituiscono una selezione allargata di sierovarianti e ceppi rispetto al metodo di prova applicato nella routine diagnostica (MP 04/019 accreditato SINAL).

Gli antigeni ad oggi reperiti sono stati preventivamente controllati mediante prove di tipizzazione sierologica e tecniche di biologia molecolare; stessa procedura sarà seguita per quelli ora in fase di acquisto (Hurstbridge Hurstbridge But 6 / WKID, Hebdomadis Hebdomadis Hebdomadis).

Tabella n° 1: dettaglio antigeni selezionati

Nr. Prog.	Nr. collezione	antigene			Note
		Sierogruppo	Sierovariante	ceppo	
1	1	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	Wijnberg	MP 04/019
2	2	Canicola	Canicola	Alarik	MP 04/019
3	6	Tarassovi	Tarassovi	Mitis Johnson	MP 04/019
4	22	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	Bianchi 1	
5	35	Javanica	Javanica	Veldrat bataviae	
6	36	Cynopteri	Cynopteri	3522 C	
7	41	Sejroe	Sejroe	Topo 1	
8	54	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva V	MP 04/019
9	61	Sejroe	Saxkoebing	Mus 24	
10	181	Australis	Bratislava	Jez bratislava	
11	182	Autumnalis	Autumnalis	Akiyami A	
12	218	Bataviae	Bataviae	Swart	
13	222	Pomona	Pomona	Pomona	MP 04/019
14	224	Sejroe	Hardjo	Hardjoprajitno	MP 04/019
15	255	Australis	Jalna	Jalna	
16	256	Ballum	Arborea	Arborea	
17	Acquisto in corso	Hurstbridge	Hurstbridge	But 6 / WKID	
18	Acquisto in corso	Hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis	

Con cadenza bisettimanale si provvede alla raccolta di tutti i sieri idonei, provenienti dalle aziende selezionate secondo i parametri prima descritti. Tali sieri, in attesa di essere sottoposti alle prove sierologiche, vengono stoccati in congelatore a -20°C.

In tabella n° 2 è riportato lo stato del lavoro di raccolta e selezione dei sieri al 30/09/2004 (Reparto Batteriologia Specializzata, CdC G201).

Tabella n° 2: Fase di raccolta e prelievo dei campioni. Dati al 30/09/2004.

Nr. Aziende censite	Nr. Sieri prelevati
223/403	3525

Quotidianamente, a partire dal 01/08/04, si provvede all'applicazione della tecnica sierologica di riferimento MAT su circa n° 40 dei sieri precedentemente prelevati e stoccati, utilizzando la gamma di antigeni opportunamente scelti e controllati.

In tabella n° 3 è riportato lo stato delle prove di laboratorio eseguite al 30/09/2004 (Reparto Batteriologia Specializzata, CdC G201).

I risultati ottenuti vengono sistematicamente inseriti su supporto informatico, da utilizzarsi poi per la successiva fase di gestione ed elaborazione dei dati a cura dell'OEVRL.

Tabella n° 3: Prove sierologiche. Dati al 30/09/2004.

Nr. Aziende testate	Nr. Sieri testati
81	1272

**Relazione sullo stato dei lavori al 30/09/2004 del PRC2002102 (01/09/03-31/08/05)–
 “Monitoraggio della presenza di tubercolosi e leptospirosi nel cinghiale e tubercolosi nei cervidi” (Responsabile Progetto: R.Orusa IZS PLV 02/02; Responsabile U.O.2 IZSLER: A.Gaffuri; collaborazione S. Tagliabue e M. Pacciarini)**

Sono stati esaminati, mediante l’applicazione della metodica di agglutinazione microscopica (MAT) (Metodo di prova IZSLER n° MP04/019, accreditato SINAL), sieri di cinghiale abbattuti nel corso delle campagne venatorie autunnali dell’anno 2002-2003 e dell’anno in corso, per la ricerca di anticorpi anti-*Leptospira*.

In tabella n° 4 è riportato lo stato delle prove sierologiche di laboratorio eseguite al 30/09/2004 (Reparto Batteriologia Specializzata, CdC G201).

Tabella n° 4: Ricerca di anticorpi anti-*Leptospira* in sieri di cinghiale. Dati al 30/09/2004.

ANNO	NR.SIERI ESAMINATI	NR. POSITIVI	DETTAGLIO POSITIVITA’		
			SIEROGRUPPO	SIEROVARIANTE	NR.
2002	231	39	Australis	Bratislava	36
			Grippotyphosa	Grippotyphosa	3
			Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	3
			Pomona	Pomona	7
2003	218	20	SIEROGRUPPO	SIEROVARIANTE	NR.
			Australis	Bratislava	9
			Grippotyphosa	Grippotyphosa	6
			Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	2
			Pomona	Pomona	9
2004	14	0	/	/	/
TOTALE	463	59			75

Nello stesso periodo di riferimento sono stati effettuati n° 16 isolamenti (alcuni dei quali da materiale fresco, altri da congelato a -20°C) in collaborazione con la Sezione di Bergamo dell’IZSLER, tutti negativi.

Nel corso degli anni 2002-2003 sono stati conservati gli organi (reni, testicoli e uteri) di animali positivi sierologicamente per successive prove di biologia molecolare.

**Relazione sullo stato dei lavori al 30/09/2004 del PRC2003022 (26/04/04-25/04/06) –
 “Aggiornamento e utilizzo di metodiche biomolecolari per la diagnosi di leptospirosi su ceppi isolati e materiale patologico” (Responsabile Progetto: S.Tagliabue IZSLER; Responsabile U.O.2: M.Pacciarini)**

In attesa dell’arrivo di personale non dipendente/a contratto, necessario allo svolgimento del progetto, si è provveduto ad aggiornamenti bibliografici e alla selezione, con avvio della procedura di acquisto dal KIT di Amsterdam, di ceppi di referenza di *Leptospira* rappresentanti di diverse genospecie, a completamento della collezione esistente. In merito all’importazione di ceppi e antisieri *Leptospira* è stata richiesta una autorizzazione permanente all’Ufficio 3 del Ministero della Salute (prot. 22186 del 30/07/04): il CRNL è stato quindi autorizzato ad importare da qualsiasi provenienza reagenti biologici per le attività diagnostiche relative alle funzioni di competenza, nonché materiale patologico per la conferma diagnostica (prot. 28792 del 12/10/04).

PIANO DI ATTIVITA’ PER L’ANNO 2005

Partecipazione alla quarta edizione del proficiency test internazionale (Reparto Batteriologia Specializzata, CdC G201): il CRNL intende partecipare all’”International Proficiency Testing Scheme for the Leptospirosis MAT –Round 4” sulla prova di agglutinazione microscopica (MAT),

che è stato programmato per il mese di febbraio 2005 da Roderick Chappel del National Serology Reference Laboratory australiano (NRL), in collaborazione con gli altri due laboratori indicati al punto 3, 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 (e-mail del 23/11/2004).

Ring test tra Istituti Zooprofilattici, in collaborazione con l'ISS (secondo l'art. 2 comma c): a seguito del precedente ring test conoscitivo organizzato nel 2001, sollecitati da altro IZS (Liguria, Piemonte e Valle d'Aosta), si intende organizzare un ring test tra Istituti Zooprofilattici.

Continuazione dei **progetti di ricerca attivi:**

PRC2002008 “Studio epidemiologico sulla leptospirosi suina nella Regione Lombardia” e PRC2002102 “Monitoraggio della presenza di tubercolosi e leptospirosi nel cinghiale e tubercolosi nei cervidi”, con l'obiettivo di standardizzare e diffondere metodi ufficiali di analisi (secondo l'art. 2 comma b ed e): proposta agli altri Istituti Zooprofilattici delle sierovarianti di *Leptospira* da ricercare, degli antigeni da impiegare e della soglia di positività da considerare nel metodo MAT (previsione per l'anno 2006).

PRC 2003022 Aggiornamento e utilizzo di metodiche biomolecolari per la diagnosi di leptospirosi su ceppi isolati e materiale patologico, con l'obiettivo di standardizzare e diffondere metodi ufficiali di analisi (secondo l'art. 2 comma b ed e): stesura e diffusione del metodo di prova per l'isolamento di *Leptospira* e di protocolli di biologia molecolare per l'identificazione di isolati di *Leptospira* e per l'evidenziazione diretta dell'acido nucleico nel campione biologico (previsione tra gli anni 2006 e 2007).

Indagine sieroepidemiologica sulla diffusione della leptospirosi nel cane, da programmare con l'Associazione Nazionale Medici Veterinari Italiani (A.N.M.V.I.), su sollecitazione dei Medici Veterinari liberi professionisti operanti nel settore degli animali da compagnia (prot. 32490 del 04/11/04). Tale indagine viene considerata di estrema utilità, vista l'esigenza di conoscere più approfonditamente la situazione epidemiologica della diffusione dei ceppi di *Leptospira* nei cani, anche in relazione ad aggiornamenti vaccinali. Per questo l'A.N.M.V.I. si adopererebbe per favorire un collegamento fra IZSLER e i Colleghi liberi professionisti che si occupano di animali da compagnia.

Realizzazione di una pagina WEB dedicata al CRNL da inserire sul sito istituzionale dell'IZSLER, comprendente una presentazione del Centro con *link* ai diversi settori in cui si articola il CRNL, le attività in corso e programmate, le pubblicazioni ed aggiornamenti provenienti dalla rete degli Istituti Zooprofilattici e da letteratura scientifica.

ANALISI DEI COSTI SOSTENUTI DURANTE L'ANNO 2004 (periodo di riferimento 01/10/2003- 30/09/2004)

La scelta del periodo di riferimento 01/10/2003- 30/09/2004, relativo ad un intero anno, dipende dalla disponibilità di dati definitivi di controllo di gestione fino al trimestre precedente rispetto alla data di rendicontazione (30/11/04).

In riferimento alla stima dei costi anno 2004 di euro 250.000,00 per il CRNL (e-mail “Stima Costi Centri di Referenza Nazionali IZSLER” del 30/04/04 a firma Direzione Sanitaria IZSLER), si comunicano, come segue, i costi realmente sostenuti nel periodo di riferimento.

I dati dettagliati, contenuti nella tabella n° 5, comprendono la totalità di costi diretti del CRNL, compresi i Progetti di Ricerca, e l'ammontare dell'ammortamento apparecchiature 2004, limitatamente al Reparto Batteriologia Specializzata CdC G201, per un totale di 211.579,00 euro.

Mancano nel computo i costi indiretti riferiti al Centro di Costi comuni del Reparto Batteriologia Specializzata (CdC G299), che vengono ripartiti fra i vari CdC del Reparto (CdC G201, G202, G203) alla fine dell'anno solare. Tali costi, rilevati a fine 2003, ammontavano per il CdC G201 a 66.606,00 euro, escluso l'ammortamento delle apparecchiature 2003. Anche l'ammontare dell'ammortamento apparecchiature va incrementato di 2.125,00 euro, equivalente a 1/3

dell'ammortamento apparecchiature del CdC comuni (G299) 2004, che comprende la strumentazione utilizzata nell'ambito dei tre CdC del Reparto.

Si stima pertanto che nel 2004 il totale dei costi "industriali" per il CRNL risulti superiore a 280.310,00 euro.

Tale valore non comprende i costi generali dell'Ente (i costi totali 2003 per il solo CdC G201 ammontano a 318.690,00 euro).

Tabella n° 5- Costi diretti e ammortamento apparecchiature 2004 CRNL

Classi, Descrizione	Struttura	Categorie, Descrizione	euro	euro	euro
Personale	BA CdC G201	Personale dipendente	152.689,00	180.873,00	200.764
		Personale non dipendente/Personale a contratto	28.184,00		
	OEVRL CdC M001	Personale dipendente	4.896,00	13.229,00	
		Personale non dipendente/Personale a contratto	8.333,00		
	BM CdC H203	Personale dipendente		6.662,00	
Materiale di laboratorio	BA CdC G201				7.831,00
Strumentazione	BA CdC G201	Riparazione e manutenzione	913,00	1.036,00	
	BA CdC G201	Attrezzature	72,00		
	BA CdC G201	Apparecchiature di laboratorio	51,00		
Prodotti IZSLER	BA CdC G201				504,00
Prevenzione e sicurezza	BA CdC G201				383,00
Vari	BA CdC G201	Altri servizi	199,00	258,00	
	BA CdC G201	Articoli pulizia	21,00		
	BA CdC G201	Materiale da ufficio	19,00		
	BA CdC G201	Vestiario	11,00		
	BA CdC G201	Vari	8,00		
Ammortamento apparecchiature	BA CdC G201				803,00
Totale costi diretti e ammortamento	CRNL				211.579,00
Stima costi industriali	CRNL				> 280.310,00

ANALISI DEI COSTI PRESUNTI PER L'ANNO 2005

La stima dei costi del CRNL per l'anno 2005 è di euro 320.000,00.

Per il prossimo anno si prevede un consistente aumento di costi per il materiale di laboratorio, in quanto si tratterà di incentivare il settore della biologia molecolare, in parte finanziato nell'ambito dei tre progetti Ministeriali attivi nel settore leptospirosi.

I costi delle attività di sierologia, legati più al personale che al materiale di laboratorio, dovrebbero rimanere pressochè costanti.

Si ravvede la necessità di incrementare le risorse umane con una figura di veterinario, dedicato all'organizzazione delle attività legate al CRNL, che assicuri continuità nell'ambito dei seguenti compiti: costante aggiornamento bibliografico, utile agli scambi tra il Ministero della Salute, gli

IIZZSS ed altri Enti di Ricerca; rapporti di stretta collaborazione con l'OEVRIL al fine della sorveglianza epidemiologica della zoonosi; attuazione e coordinamento delle attività specialistiche di laboratorio.

Data
26/11/2004

Il Direttore del CRNL
(Reparto Batteriologia Specializzata)
Tagliabue Dr.ssa Silvia