

Centro di Referenza Nazionale per le Malattie Vescicolari (CERVES)
Relazione sulle attività dell'anno 2008
Decreto 4 Ottobre 1999, Art. 5

Organizzazione del CERVES

Il CERVES (Centro di Referenza per le Malattie Vescicolari) opera presso l'IZSLER dal 1968.

Nel 2008 l'IZSLER ha mantenuto l'organizzazione stabilita nel 2001, secondo la quale il CERVES è una articolazione organizzativa compresa nel Reparto di Biotecnologie, composta da **3 unità funzionali**:

- 1) Laboratorio di diagnostica**
- 2) Servizio di sorveglianza, controllo e supporto tecnico**
- 3) Ricerca e rapporti internazionali, Centro Referenza OIE per MVS**

Le funzioni/attività svolte rispettivamente dalle 3 Unità Operative sono di seguito riportate.

| | |
|--|---|
| CERVES Laboratorio di diagnostica | <ul style="list-style-type: none"> • Diagnostica virologica specializzata per le malattie vescicolari a livello nazionale, tramite isolamento e identificazione, ELISA, PCR, altri test immunologici; • Diagnostica sierologica per malattie vescicolari, a livello nazionale; • Produzione di antigeni virali per i kit diagnostici del CERVES; |
| CERVES Servizio di sorveglianza, controllo e supporto tecnico/normativo | <ul style="list-style-type: none"> • Preparazione dei Piani di emergenza e dei piani di controllo; • Preparazione e verifica dei Piani ordinari e straordinari di Sorveglianza e controllo; • Epidemiologia e coordinamento nella gestione dei focolai; • Sopralluoghi in sede di focolai; • Supporto tecnico e consulenza ai Servizi veterinari Ministeriali, Regionali, Locali; • Attività di formazione per i servizi veterinari. |
| CERVES Ricerca e rapporti internazionali, Centro Referenza OIE per MVS | <ul style="list-style-type: none"> • Caratterizzazione antigenica e molecolare dei ceppi isolati • Organizzazione e partecipazione a Progetti di Ricerca Nazionali ed Internazionali sulle Malattie Vescicolari; • Sviluppo di metodi diagnostici per le malattie vescicolari e validazione in ambito internazionale; • Organizzazione di workshop e training internazionali per conto della UE, OIE, FAO; • Consulenza tecnico-scientifica ad organismi internazionali, quali OIE, FAO, UE, IAEA, ecc.; • Partecipazione a programmi per la Qualità, tramite ring test internazionali; • Gestione del Laboratorio di referenza OIE per MVS. |

Il CERVES opera anche a **livello internazionale**, come:

- Laboratorio di Referenza OIE per la MVS
- Laboratorio di Referenza per Afta ed MVS per la Repubblica di Cipro
- Centro collaborativo/referenza FAO per Afta.

Inoltre, il CERVES si avvale dell'apporto dei seguenti **altri laboratori e servizi dell'IZSLER**, per attività tecnico-specialistiche inerenti le sue funzioni:

- Lab. Anticorpi Monoclonali, Reparto Biotecnologie
- Lab. produzione kit diagnostici, Reparto Biotecnologie
- Lab. Analisi genomiche, Reparto Biologia Molecolare
- Osservatorio Epidemiologico Veterinario della Lombardia
- Servizio di Biosicurezza

Il CERVES ha rapporti continuativi di collaborazione, anche siglati attraverso contratti stipulati nell'ambito dei Progetti di Ricerca finanziati dalla UE, con i principali Istituti e Laboratori Nazionali di Referenza della UE e con lo World Reference Laboratory per l'Afta.

Il responsabile del CERVES è membro del "Research Group" della EUFMD Commission, che rappresenta il braccio tecnico-scientifico della Commissione e propone/applica interventi, programmi e ricerche necessari per il controllo dell'afta in Europa, anche attraverso il controllo della malattia nel mondo.

Ambienti di lavoro connessi alle attività

Anche per questo aspetto della relazione non è registrata alcuna variazione rispetto agli anni precedenti, vengono quindi integralmente riportate le informazioni trasmesse con i precedenti report. L'attività del CERVES è svolta nei locali di seguito identificati:

- 1) Zona di isolamento (laboratori e stalle ad elevato contenimento, P3) ove sono espletate tutte le fasi di lavoro che prevedono la manipolazione di virus vescicolari allo stato infettante (ad esempio tutti i test virologici e di sieroneutralizzazione, produzione antigeni diagnostici, fasi di ricerca e sviluppo, ecc..)
- 2) Zona aperta (laboratori P2) costituita da laboratori ove sono espletate le attività compatibili con l'impiego di virus inattivati
- 3) Locali di servizio e uffici.

1) La zona di isolamento del CERVES è localizzata nei laboratori dell'ex impianto di produzione del vaccino dell'afta (Palazzo verde, I° piano): qui sono ad uso del CERVES 6-7 locali tra laboratori e servizi. La struttura attuale è obsoleta ed è in attesa di trasferimento nei nuovi laboratori P3, realizzati nell'edificio (Palazzo Giallo) un tempo adibito a laboratori CERVES (oltre che alla produzione del vaccino su colture a monostrato).

La nuova struttura sarà in grado di ospitare anche le risorse umane e strumentali per un incremento imponente di attività in caso di emergenza diagnostica.

La nuova struttura P3 include, oltre ai laboratori, uno stabulario attrezzato per animali da esperimento di piccola/media taglia. Sussiste inoltre una zona di volumetria importante (metri 12x12x7, ex termostato dell'impianto di bottiglie rotanti per la produzione di vaccino aftoso) ove sarebbe possibile predisporre impianti pilota di produzione (colture cellulari per infezioni su piccola/media scala, produzione di antigeni, celle di stagionatura di prodotti "contaminati" da patogeni, ecc.), oppure collocare "l'inner core" di un

laboratorio di contenimento P4 per la manipolazione di patogeni particolarmente pericolosi.

Benchè progressi sono stati fatti nel 2008, i lavori resisi necessari per la risoluzione di alcuni seri problemi strutturali (rigonfiamento e sostituzione del pavimento) e impiantistici (modifiche al nuovo impianto di decontaminazione/sterilizzazione dei reflui per renderlo operativo alla temperatura di 130°C) hanno costretto a rimandare ulteriormente il trasferimento nella nuova struttura.

2) La "Zona aperta" comprende una serie di laboratori dislocati ai piani I°, II°, III° dell'edificio denominato "Palazzo Verde"; alcuni di questi sono specificamente adibiti ad attività diagnostiche del CERVES, in particolare i laboratori adibiti ad accettazione/refertazione campioni e all'esecuzione di test sierologici con antigeni inattivati (locali 12, 13, 14); altri locali, in condivisione con diverse attività del reparto di Biotecnologie, sono utilizzati per fasi di lettura di test diagnostici molecolari, per la preparazione dei terreni e substrati cellulari, per la produzione di anticorpi monoclonali con relativa banca di ibridomi, per la preparazione di reagenti diagnostici ricombinanti, quindi "safe", e per attività di ricerca.

3) I locali di servizio e uffici sono dislocati al piano terra e al terzo piano del "Palazzo Verde".

ATTIVITA' SVOLTA NEL 2008

Attività diagnostica

Test diagnostici e Potenzialità diagnostica presso il CERVES

Il CERVES si è dotato di un Piano di emergenze di laboratorio che, benché debba essere completato in alcuni aspetti che coinvolgono organizzazioni amministrative e direzionali dell'IZSLER, contempla le informazioni richieste in questo paragrafo, che vengono quindi riportate integralmente.

Nelle tabelle 1a e 1b sono descritti i principali test utilizzati presso il CERVES a scopo diagnostico per Afta e MVS e la capacità diagnostica in condizioni di normalità o dopo attivazione di risorse supplementari in caso di iniziale emergenza.

Le valutazioni sono state effettuate considerando che l'emergenza Afta ed MVS non siano contemporanee.

Va precisato che ad oggi tutte le prove diagnostiche sono eseguite con test sviluppati e prodotti "in house", pertanto la valutazione delle potenzialità del CERVES deve obbligatoriamente tenere in considerazione anche i tempi e le risorse necessari alla produzione dei reagenti e dei kit utilizzati.

Tabella 1a: Test Virologici e Sierologici usati per l'AFTA

| Test | descrizione | Tipologia e luogo di esecuzione | OIE | S.Q* | Tempo esecuzione saggio | Tempo risposta giorni | Potenzialità saggi per Settimana ** | |
|----------------|--|------------------------------------|-----|------|-------------------------|-----------------------|-------------------------------------|---------|
| | | | | | | | Standard | Allerta |
| Ag-ELISA | Identificaz. ag aftosi (7 sierotipi) | Virologico Lab P3 | Si | Cod | 5 ore | 1 | 15 | 45 |
| Isolamento | Isolamento in colture cell. | Virologico Lab P3 | Si | Cod | 6 giorni | 8 | 15 | 45 |
| RT-PCR | Rilev. genoma (3D, pan-afta) | Virologico Lab P3 | Si | Cod | 8 ore | 2 | 60 | 100 |
| VNT | Ac neutralizzanti, test conferma (7 sierotipi) | Sierologico Lab P3 | Si | Si | 2-3 giorni | n.a. test di conferma | 100 | 300 |
| SP-ELISA | ELISA competitiva Ac tipo-sp (6 sierotipi) | Sierologico Lab P2/P3 [#] | Si | Si | 6 ore | 1 | 3000 | 15000 |
| NSP-ELISA DIVA | 3ABC-ELISA (pan-FMD) | Sierologico Lab P2/P3 [#] | Si | Si | 6 ore | 1 | 3000 | 15000 |

: campioni di sangue per esami sierologici provenienti da focolai, da casi sospetti o correlati con focolaio, Zone di Protezione devono essere esaminati in laboratori P3 (possibile viremia)

Tabella 1b: Test Virologici e Sierologici usati per la *Malattia Vescicolare del Suino*

| Test | descrizione | Tipologia e luogo di esecuzione | OIE | S.Q.* | Tempo esecuzione saggio | Tempo risposta giorni | Potenzialità saggi per Settimana ** | |
|------------|---------------------------------------|---------------------------------|-----|-------|-------------------------|-----------------------|-------------------------------------|---------|
| | | | | | | | Standard | Allerta |
| Ag-ELISA | Rilevamento dell'antigene MVS | Virologico Lab P3 | Si | Cod | 5 ore | 1 | 20 | 60 |
| Isolamento | Isolamento virus in coltura cellulare | Virologico Lab P3 | Si | Cod | 6-7 giorni | 8 | 20 | 60 |
| RT-PCR | rilevamento genoma (3D) | Virologico Lab P3 | Si | Si | 10 ore | 2 | 75 | 150 |
| VNT | Ac neutralizzanti, test di conferma | Sierologico Lab P3 | Si | Si | 2-3 giorni | n.a. test di conferma | 100 | 300 |
| 5B7 ELISA | ELISA per screening Ac | Sierologico Lab P2 | Si | Si | 6 ore | 1 | 3.000 | 15.000 |
| ELISA-IgG | Determinaz. Isotipo Ac (Ac tardivi) | Sierologico Lab P2 | No | Cod | 6 ore | n.a. eseguito su pos | 100 | 300 |
| ELISA-IgM | Determinaz. Isotipo Ac (Ac precoci) | Sierologico Lab P2 | No | Cod | 6 ore | n.a. eseguito su pos | 100 | 300 |

OIE Il saggio è eseguito in accordo all'OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines

S.Q.* Inserito nel Sistema Qualità? Si indica "prova accreditata" in accordo alla norma 17025; Cod. indica prova codificata, non accreditata, ma inserita in un laboratorio accreditato.

**Standard potenzialità diagnostica raggiungibile con le risorse attualmente assegnate al CERVES

**Allerta Numero massimo dei saggi eseguibili presso il CERVES destinando tutte le risorse (umane, strumentali, ambientali) attualmente esistenti/disponibili presso il Reparto Biotecnologie (soggette a formazione continua) e tre tecnici aggiuntivi da altri reparti per affrontare le prime settimane di emergenza. Il dato deriva dall'esperienza vissuta per fronteggiare emergenze MVS.

n.a. non applicabile

NOTA: Il CERVES si avvale delle competenze del Reparto di Biologia Molecolare per il sequenziamento di parti genomiche dei virus MVS e Afta per indagini di epidemiologia molecolare.

4) Standardizzazione e validazione di metodiche diagnostiche

Pressoché tutti i Metodi di Prova (MP) adottati dal CERVES utilizzano metodologie e reagenti sviluppati nell'ambito del Centro stesso. Alcuni di questi sono riconosciuti internazionalmente (OIE, Legislazione Europea) come test di riferimento. Ad esempio, nella nuova Edizione 2008 del Manuale OIE sono state inseriti importanti aggiornamenti al capitolo della Malattia Vescicolare del Suino: oltre al test sierologico ELISA competitiva, ora anche il test descritto nel Manuale per la dimostrazione del virus tramite RT-PCR corrisponde al MP sviluppato ed adottato dal CERVES.

I numerosi Metodi di Prova adottati dal CERVES seguono, ove esistenti, i riferimenti normativi specifici, pur con le varianti metodologiche migliorative valutate nel corso del loro sviluppo. Nei test di tipo immunologico l'apporto migliorativo deriva dall'utilizzo di anticorpi monoclonali prodotti e caratterizzati "in house", in sostituzione dei sieri policlonali immuni suggeriti nelle procedure per l'allestimento dei metodi normati.

Nel 2008 è stato attivato il programma pluriennale per la codifica, validazione ed accreditamento di tutti i MP utilizzati dal CERVES che non hanno ancora ricevuto la qualifica di metodi accreditati.

Come parte dei risultati di questa attività, sette Metodi di Prova sono passati alla definizione di Metodi Codificati, in particolare i seguenti:

- Metodo normato di prova per la ricerca di virus aftosi tramite PCR;
- Metodo interno di prova per la ricerca di anticorpi di classe IgG e IgM anti-MVS tramite ELISA trapping isotipo-specifica;
- Metodo interno di prova per la dimostrazione di virus/antigeni aftosi tramite ELISA;
- Metodo interno di prova per la dimostrazione di virus aftosi tramite isolamento in colture cellulari;
- Metodo interno di prova per la dimostrazione di virus MVS tramite ELISA;
- Metodo interno di prova per la dimostrazione di virus/antigene MVS tramite isolamento in colture cellulari.

Sempre nell'ambito del mantenimento e miglioramento del SQ, sono state emesse le revisioni di tre Metodi di Prova Accreditati (per afta e MVS), effettuate per adeguamento a riferimenti normativi, range di temperature, scadenza reagenti, ecc.

Altre attività inerenti la standardizzazione e validazione dei MP per Afta e/o MVS svolte nel 2008 sono state:

- La revisione del MP 05/006 "Metodo normato di prova per la ricerca del virus della malattia vescicolare del suino tramite PCR"; la revisione ha contemplato l'inserimento di una procedura "one step" di RT-PCR in alternativa al metodo classico a due step. La nuova procedura è stata preventivamente valutata in parallelo al metodo classico, su campioni sperimentali e su campioni di campo, dimostrando una sensibilità analitica circa 10 volte superiore.
- Il completamento delle attività sperimentali per l'accreditamento della prova di Sieroneutralizzazione per virus aftosi di tipo O, A, C, Asia 1 e inoltre della domanda per l'accreditamento.

TUTTI i Metodi di Prova utilizzati dal CERVES sono regolarmente soggetti a valutazione attraverso **ring test internazionali**, organizzati con frequenza annuale (vedi oltre paragrafo specifico).

La performance dei MP è regolarmente monitorata attraverso le carte di Controllo, che sono parte del controllo di qualità interno, e permettono l'analisi del trend delle reazioni; ad esempio, per il test sierologico ELISA competitiva per anticorpi anti-MVS, eseguito con maggiore frequenza, sono state valutate nella costruzione della rispettiva carta di controllo 2823 piastre ELISA nel 2008.

Come nella tradizione del CERVES è stata particolarmente intensa e proficua l'attività per l'aggiornamento e lo sviluppo di nuovi test diagnostici. Nella diagnostica di laboratorio delle Malattie Vescicolari sono necessari frequenti aggiornamenti dei Metodi di Prova, a causa dell'evoluzione antigenica/genetica dei virus e del potenziale rischio di introduzione di nuove varianti; questo è particolarmente importante nel caso dell'Afta Epizootica, sia per una maggiore frequenza di variazioni che per l'esistenza di sette diversi sierotipi. Coerentemente con questa esigenza, nel 2008 è stato esteso e/o modificato il pannello di anticorpi monoclonali utilizzati nel test ELISA sandwich per la identificazione e tipizzazione dei sierotipi aftosi O, A, Asia1.

Tra le attività di sviluppo e standardizzazione di nuove metodiche che hanno impegnato il CERVES nel 2008 con rilevanti output è da annoverare lo sviluppo e validazione dei metodi di prova tramite ELISA competitiva per la identificazione di anticorpi verso i sierotipi SAT 1 e SAT 2. I test, già introdotti nell'applicazione diagnostica, sfruttano l'utilizzo di anticorpi monoclonali, opportunamente selezionati, per la competizione con i sieri in esame. L'uso di anticorpi monoclonali conferisce ai test rilevanti vantaggi in termini di standardizzazione, specificità, riproducibilità.

Infine, l'obiettivo di trasformare alcune reazioni ELISA in-house in "kit pronto-uso" stabilizzati è progredito con successo: in particolare sono stati allestiti i prototipi di kit stabilizzati per tre diverse tipologie di test ELISA, che impiegano antigeni e principi differenti:

- ricerca di anticorpi marker di infezione aftosa tramite ELISA-3ABC (test DIVA);
- dimostrazione di virus/antigeni aftosi tramite ELISA sandwich;
- ricerca di anticorpi verso la Malattia Vescicolare del suino tramite ELISA competitiva

Per i tre prototipi è stato "validato" anche l'uso del substrato cromogeno TMB in sostituzione del cromogeno OPD.

Rappresenta infine una pietra miliare nella diagnostica dell'AFTA lo sviluppo, validazione ed immissione in commercio del primo test rapido "pen-side" per la diagnosi immediata sul campo. Il prodotto è nato da una fruttuosa collaborazione, con integrazione di specifiche competenze ed expertise, tra CERVES, World Reference Laboratory e Svanova e l'anno 2008 ha rappresentato la conclusione del percorso.

5) Produzione e distribuzione di reagenti

Poichè le reazioni diagnostiche in uso presso il CERVES sono state sviluppate nell'ambito del Centro stesso, coadiuvato dagli altri laboratori del Reparto Biotecnologie in cui il CERVES è integrato, tutti i reagenti diagnostici utilizzati per l'attività analitica routinaria (anticorpi monoclonali e policlonali, coniugati, antigeni inattivati e/o ricombinanti, matrici virali) sono di produzione interna.

Il test ELISA competitiva per la ricerca di anticorpi della Malattia Vescicolare del Suino (MVS), utilizzato come metodo di screening nel Piano Nazionale di sorveglianza/eradicazione, è eseguito con reagenti prodotti e distribuiti dal CERVES. L'esecuzione del test di screening è demandata agli IZZSS territorialmente competenti, ai quali nel corso del **2008, il CERVES ha distribuito** un volume di kit come registrato nell'annessa tabella; i dati presentati riportano anche il numero di sieri esaminati, estratti dai record trasmessi dagli IZZSS stessi, permettendo di evidenziare la percentuale di utilizzo dei reagenti nei laboratori: è positivo il rilievo di una percentuale di utilizzo del materiale fornito ai vari IZZSS molto migliorata rispetto al 2007; questo è indice di un uso più accorto o più corretto, può essere al consumo di scorte in giacenza da anni precedenti e, per alcune realtà (in genere coincidenti con emergenze diagnostiche), anche alla riduzione delle diluizioni esaminate dei sieri da due ad una.

| Reagenti per screening MVS distribuiti | Anno 2008 | | |
|--|--------------------------------|------------------------|-----------|
| | Campioni esaminati documentati | Numero determ. fornite | % utiliz. |
| IZS PLV, TORINO | 28292 | 25000 | >100* |
| IZS VE, PADOVA | 35434 | 43000 | 82 |
| IZS LT, ROMA | 29434 | 25000 | >100* |
| IZS UM, PERUGIA | 77070 | 36000 | >100* |
| IZS AM, TERAMO | 30608 | 40000 | 76 |
| IZS PB, FOGGIA | 20084 | 21000 | 95 |
| IZS ME, NAPOLI | 60194 | 30000 | >100* |
| IZS CATANZARO | 19016 | 24000 | 79 |
| IZS SI, PALERMO | 8910 | 15000 | 59 |
| IZS SA, SASSARI | 36091 | 30000 | >100* |
| IZSLER, BRESCIA | 271433 | non appl | |
| Totale | 616566 | 289.000 | |

* utilizzati kit in giacenza dell'anno precedente

Complessivamente, il CERVES ha **distribuito a 10 IZZSS kit per l'analisi di 289.000 campioni, circa il 50% in più rispetto all'anno precedente (194.000 analisi nel 2007)**, sia in considerazione dell'attivazione del nuovo Piano di sorveglianza nazionale implementato nel 2008, che ha comportato una intensificazione dei controlli, sia conseguentemente alle azioni straordinarie in province nelle quali è stato sospeso l'accreditamento. A questi sono da aggiungere quelli utilizzati presso il CERVES,

corrispondenti a **271.433 test ELISA** eseguiti per l'attività di sorveglianza nelle due regioni territorialmente competenti (Lombardia-Emilia Romagna) e per i test di conferma, arrivando ad una produzione totale di oltre **600.000 test**.

La "**Valorizzazione commerciale**" dell'attività di produzione e distribuzione di kit per 600.000 test, adottando un costo stimato di vendita/acquisto potenziale di 1,3 Euro/test (desunto dal costo di vendita dell'unico kit commerciale esistente), risulta in **780.000 Euro**. Un sicuro avanzamento nella tecnologia e facilitazione per gli IZZSS utenti dei reagenti forniti dal CERVES sarebbe la messa a disposizione del **kit stabilizzato per la sierologia MVS**, già collaudato nel 2007 durante l'emergenza diagnostica per MVS verificatasi in Lombardia e in occasione del ring test annuale organizzato per i 10 IZZSS. Tuttavia, questa innovazione comporterebbe risorse economiche aggiuntive a carico del CERVES e e la sua implementazione potrebbe essere considerata a fronte di un finanziamento ad hoc per la realizzazione.

Nell'ambito delle sue funzioni come Laboratorio di referenza OIE per la MVS, il Centro ha fornito nel 2008 reagenti per la diagnosi sierologia di Malattia Vesicolare del Suino al Belgio e alla Polonia. Campioni e reagenti sono stati forniti anche alla Germania, come materiali di riferimento per la validazione dei rispettivi metodi di prova interni per MVS; il materiale fornito include 14 campioni di feci positive in PCR e/o isolamento virale, 25 sieri positivi, un campione del kit ELISA sierologico stabilizzato e il pannello di 25 sieri codificati utilizzati per il ring test nazionale.

Nell'ambito di collaborazioni internazionali, il CERVES ha fornito anche nel 2008 anticorpi monoclonali a svariati Partner Europei (Spagna, Francia, Olanda, UK, ecc..) ed extra-Europei (ad es. Ondesterpoort, Sud Africa, Lanzhou Veterinary Research Institute – China), mantenendo una leadership riconosciuta internazionalmente per le capacità produttive e per disponibilità di una Banca per questa tipologia unica di reagenti.

6) Attività analitica routinaria

Il volume di attività diagnostica richiesta al CERVES non è costante, ma soggetto a variazioni conseguenti alla situazione epidemiologica e alla attuazione di piani di sorveglianza.

Nel 2008 la casistica di "sospetti clinici" di forme vescicolari, sottoposti a diagnosi differenziale di laboratorio, è stata limitata a pochi casi, confermando il trend tipico degli anni precedenti (fatta eccezione per il periodo epidemico di MVS in Lombardia nel 2006-2007). Complessivamente, sono pervenuti al CERVES:

- campioni da forme cliniche in due allevamenti ovin, province di Brescia e Parma rispettivamente, risultati positivi per parapoxvirus;
- campioni di tessuto epiteliale da una forma clinica in un allevamento bovino, provincia di Parma, risultato negativo;
- campioni di epitelio suino da un caso in provincia di Brescia, risultato negativo;
- campioni di epitelio suino da un caso in provincia di Arezzo, risultato positivo per MVS;

A questi andrebbero aggiunti i numerosi casi di miocardite nei suini, conferiti al CERVES da alcune sezioni diagnostiche dell'IZSLER per la diagnosi di laboratorio di **Encefalomiocardite virale del Suino (EMC)**. Pur non causando una sintomatologia vescicolare, l'infezione può manifestarsi con sintomi e lesioni prodotti in alcune circostanze dal virus aftoso (morte improvvisa dei suinetti sotto scrofa, lesioni cardiache di aspetto necrotico o "cuore tigrato"); in questi casi è consigliata una diagnosi differenziale. L'attività diagnostica sui campioni esaminati nel 2008 ha individuato il virus ECM come causa della malattia in 22 casi su 62 sospetti conferiti, confermando la presenza dell'infezione da cardiovirus. Il riscontro di sieropositività rilevato attraverso il monitoraggio sierologico per EMCV su cinghiali catturati ha confermato la circolazione del cardiovirus anche in specie selvatiche.

Nei confronti dell'**afta epizootica** non è in vigore un piano di siero sorveglianza attivo, per cui la richiesta diagnostica per Afta in Italia si è mantenuta nei livelli standard degli anni "di pace". Le ragioni per le quali viene richiesto l'esame sierologico per Afta comprendono import/export, esposizioni, fiere, ecc., per un numero approssimativo di 2000 campioni nel 2008, che sono stati esaminati verso tre sierotipi virali (totale circa 6000 esami).

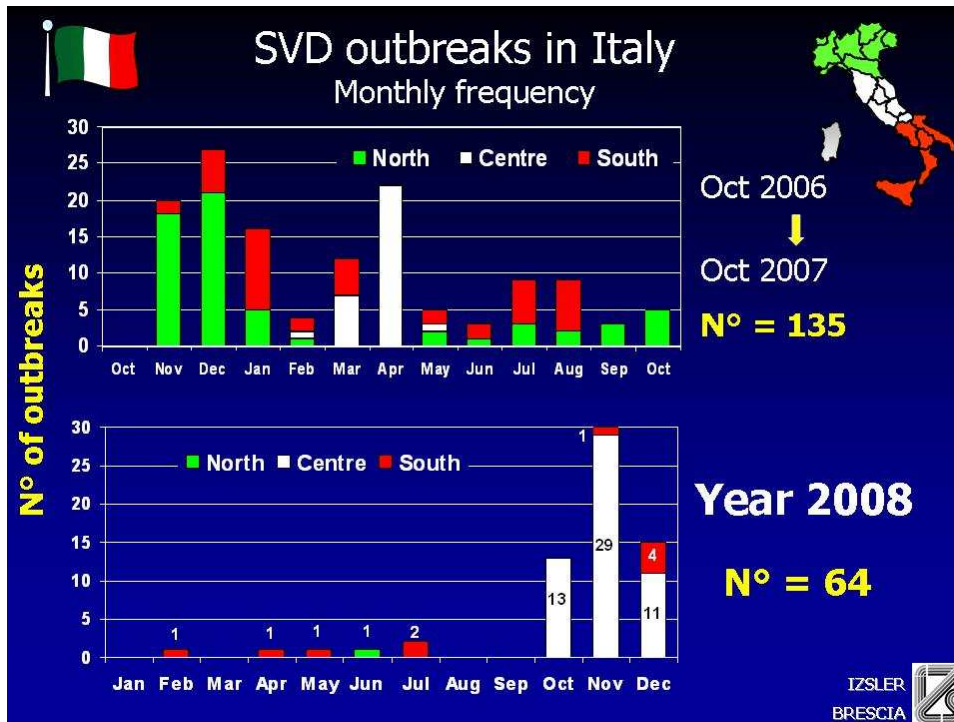
Nei riguardi della **MVS**, l'attività diagnostica si è mantenuta a livelli elevati.

Situazione epidemiologica. Durante il 2008 è stato attivato il nuovo revisionato Piano di sorveglianza che comporta una intensificazione dei controlli sierologici e virologici, reintroducendo il monitoraggio negli allevamenti da ingrasso.

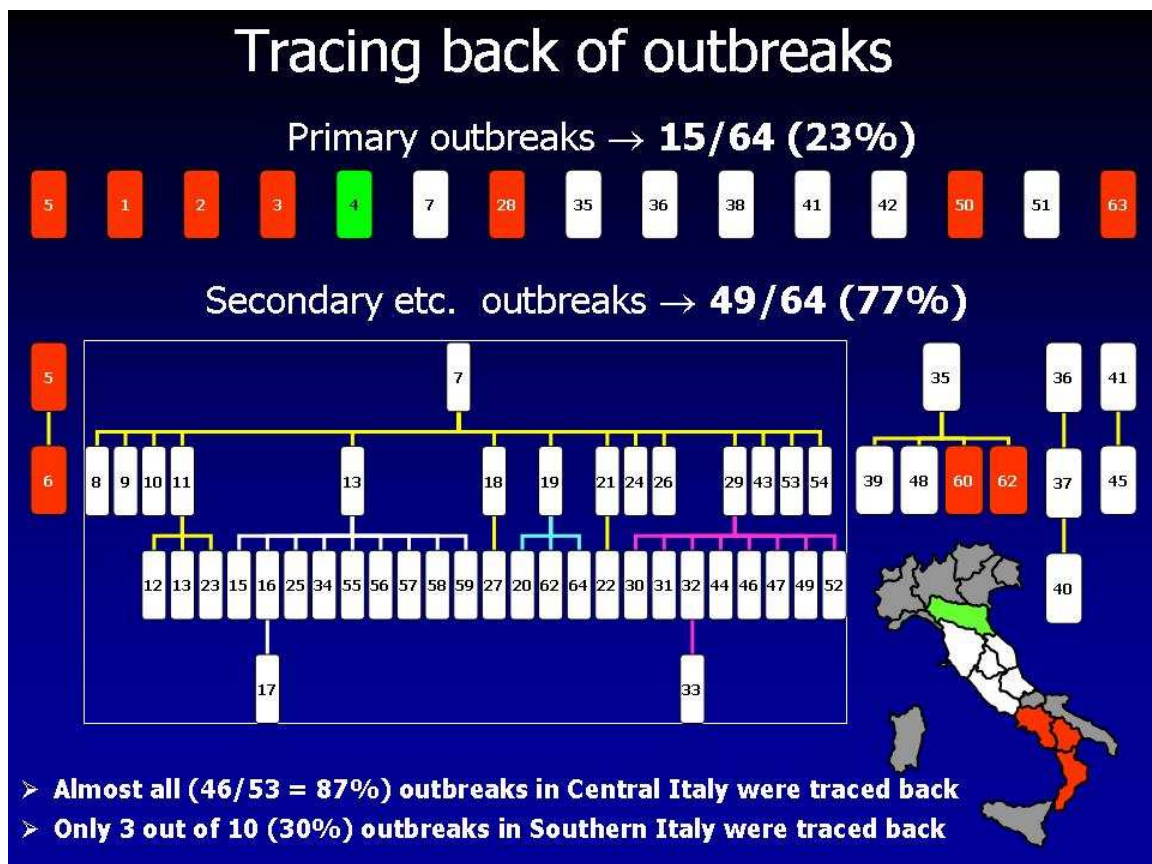
Sulla base della dimostrazione diretta del virus in campioni di feci ambientali o di correlazioni con focolai accertati supportata da evidenza di sieropositività, sono stati dichiarati 64 focolai di MVS, distribuiti per tipologia di aziende interessate, cronologia e geografia come illustrato nella tabella e nel grafico che seguono. Rapportata alla situazione epidemiologica del 2007, le principali considerazioni sono l'estinzione dei focolai nelle regioni settentrionali e una nuova recrudescenza dell'infezione nelle regioni centrali. E' rimasta invariata la situazione nelle regioni meridionali non accreditate (Campania, Calabria), con sporadici ma continui focolai.

Focolai di MVS registrati nel 2008

| Regione | Ingrasso | Riproduz. | St. sosta | Altro | N. focolai | N. animali |
|-------------------|-----------|-----------|-----------|----------|------------|--------------|
| EMILIA R. | | | | 1 | 1 | 29 |
| TOSCANA | 2 | | | | 2 | 2362 |
| LAZIO | 4 | 2 | 2 | | 8 | 2520 |
| UMBRIA | 26 | 1 | 3 | | 30 | 6611 |
| MARCHE | 6 | | | | 6 | 70 |
| ABRUZZO | 6 | 1 | | | 7 | 305 |
| CAMPANIA | 2 | 1 | | | 3 | 129 |
| CALABRIA | | 2 | 2 | | 4 | 1651 |
| BASILICATA | 2 | 1 | | | 3 | 2871 |
| TOTALE | 48 | 8 | 7 | 1 | 64 | 16548 |

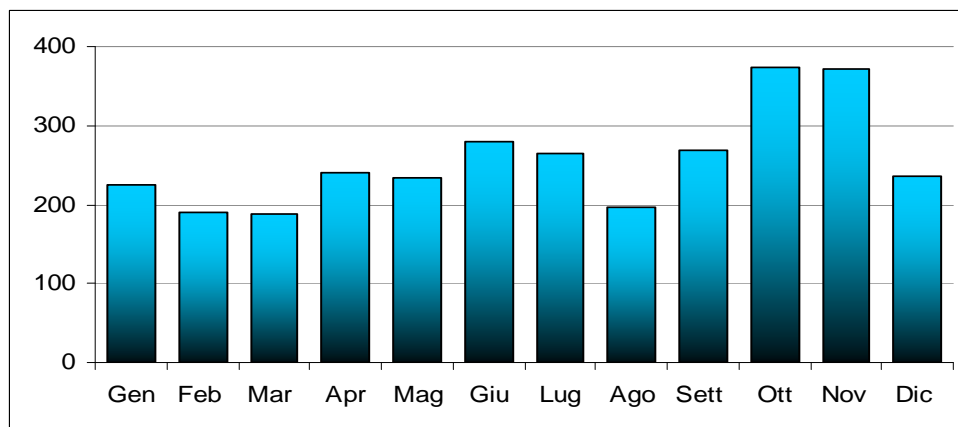


Lo schema successivo evidenzia come la maggior parte dei focolai registrati nelle regioni centrali sono secondari (o terziari, ecc) identificati in seguito ad indagini di rintraccio, mentre permane sconosciuta l'origine dei focolai, quasi tutti primari, nelle regioni meridionali non accreditate.



Test virologici MVS. Dal punto di vista del volume diagnostico, i test virologici in PCR, effettuati per l'intero territorio nazionale, hanno mantenuto il trend degli anni precedenti (circa 3.000 campioni), poiché la sorveglianza virologica riguarda prevalentemente il controllo mensile nelle stalle di sosta e la casistica di controlli virologici effettuati per sospetto e/o rintraccio dei numerosi focolai verificatisi nel 2008 in Italia centrale non ha inciso significativamente sul numero complessivo degli esami. La figura allegata illustra la frequenza mensile del test di screening virologico per MVS.

Frequenza dei *test virologici per MVS* nel 2008
 Test di screening (*PCR*) per la ricerca del virus
 3.016 test



La tabella seguente estende il dettaglio dei controlli virologici eseguiti nel 2008, dividendoli per regione, motivo del prelievo e identificandone il risultato.

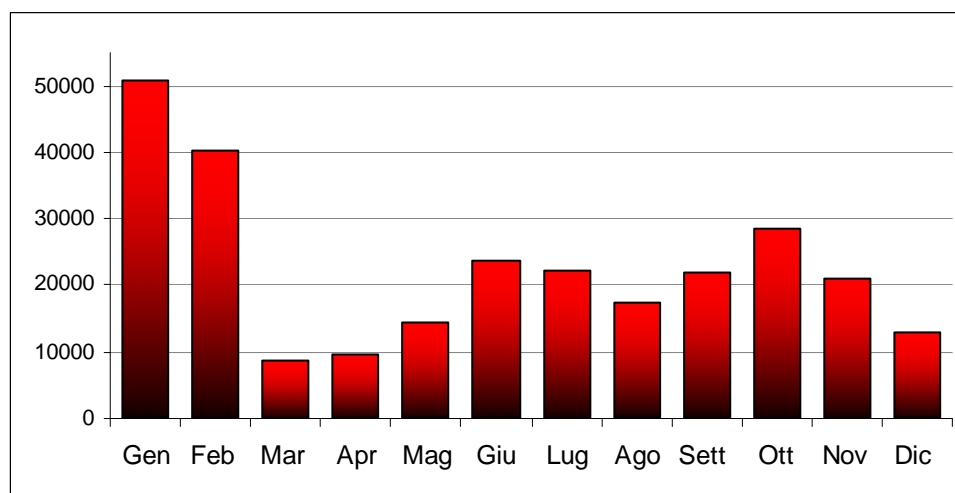
| REGION | DELEARS' PREMISES | | IMPORT | Suspect (Seropos herds) | Epidem. connec. with outbreak | various | POSITIVE SAMPLINGS |
|--------------|-------------------|--------------|-----------|-------------------------|-------------------------------|------------|--------------------|
| | n° DP controlled | n° samplings | | | | | |
| PIEMONTE | 6 | 28 | 3 | 2 | 5 | 0 | |
| LOMBARDIA | 9 | 28 | 0 | 23 | 4 | 26 | 26 |
| TRENTINO | 7 | 25 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| VENETO | 21 | 110 | 0 | 0 | 9 | 4 | |
| FRIULI | 6 | 29 | 0 | 0 | 0 | 1 | |
| E.ROMAGNA | 5 | 56 | 1 | 3 | 7 | 29 | |
| TOSCANA | 17 | 88 | 1 | 2 | 1 | 29 | |
| UMBRIA | 7 | 39 | 0 | 1 | 3 | 0 | |
| MARCHE | 11 | 57 | 2 | 0 | 1 | 6 | 1 |
| LAZIO | 56 | 167 | 0 | 9 | 179 | 94 | 19 |
| ABRUZZO | 25 | 75 | 0 | 4 | 14 | 12 | 2 |
| MOLISE | 13 | 72 | 1 | 2 | 9 | 5 | 4 |
| CAMPANIA | 46 | 123 | 7 | 67 | 1 | 204 | 6 |
| BASILICATA | 7 | 45 | 1 | 5 | 1 | 0 | |
| PUGLIA | 8 | 32 | 0 | 1 | 1 | 1 | |
| CALABRIA | 74 | 178 | 11 | 42 | 0 | 36 | 4 |
| SICILIA | 17 | 47 | 4 | 2 | 0 | 4 | |
| SARDEGNA | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | |
| Total | 335 | 1199 | 33 | 163 | 235 | 452 | 62 |

Monitoraggio sierologico. L'esecuzione del test sierologico di screening è demandato agli IZZSS territorialmente competenti, quindi il CERVES esegue i test per le regioni Lombardia ed Emilia Romagna, oltre ai test di conferma in Sieroneutralizzazione e di caratterizzazione dell'isotipo IgG e IgM per tutti i campioni dubbi e positivi a livello nazionale. Desto preoccupazione la estesa distribuzione di sieropositività, con circa 250 aziende sieropositive alcune delle quali individuate in regioni non interessate da focolai ed accreditate (es. Sardegna e Puglia).

Quasi il 50% dei test per il monitoraggio sierologico nazionale è stato effettuato dal CERVES per le regioni Lombardia ed Emilia Romagna; la figura seguente illustra la frequenza mensile delle analisi sierologiche (test di screening). Il 30% dei test eseguiti dal CERVES è concentrato in un picco all'inizio del 2008 (gennaio e febbraio) dovuto ai controlli sierologici eseguiti per il riaccreditamento e ripopolamento dell'area più colpita della Lombardia nell'anno precedente; successivamente la frequenza è stata mediamente costante nell'anno. Pur non raggiungendo il massimo picco di analisi del 2007, il numero di sieri esaminati nel 2008 si è avvicinato a 300.000, che corrisponde mediamente a 5 volte l'attività degli anni precedenti il 2006.

Sono stati nella media i test sierologici di conferma in Sieroneutralizzazione e i test addizionali per IgG e IgM, effettuati per caratterizzare i sieri positivi allo screening al fine di stabilire se l'esposizione all'infezione degli animali sieropositivi è recente o pregressa.

Frequenza dei test sierologici per MVS nel 2008
Test di screening (ELISA competitiva) per la ricerca di anticorpi anti-MVS
271.433 esami



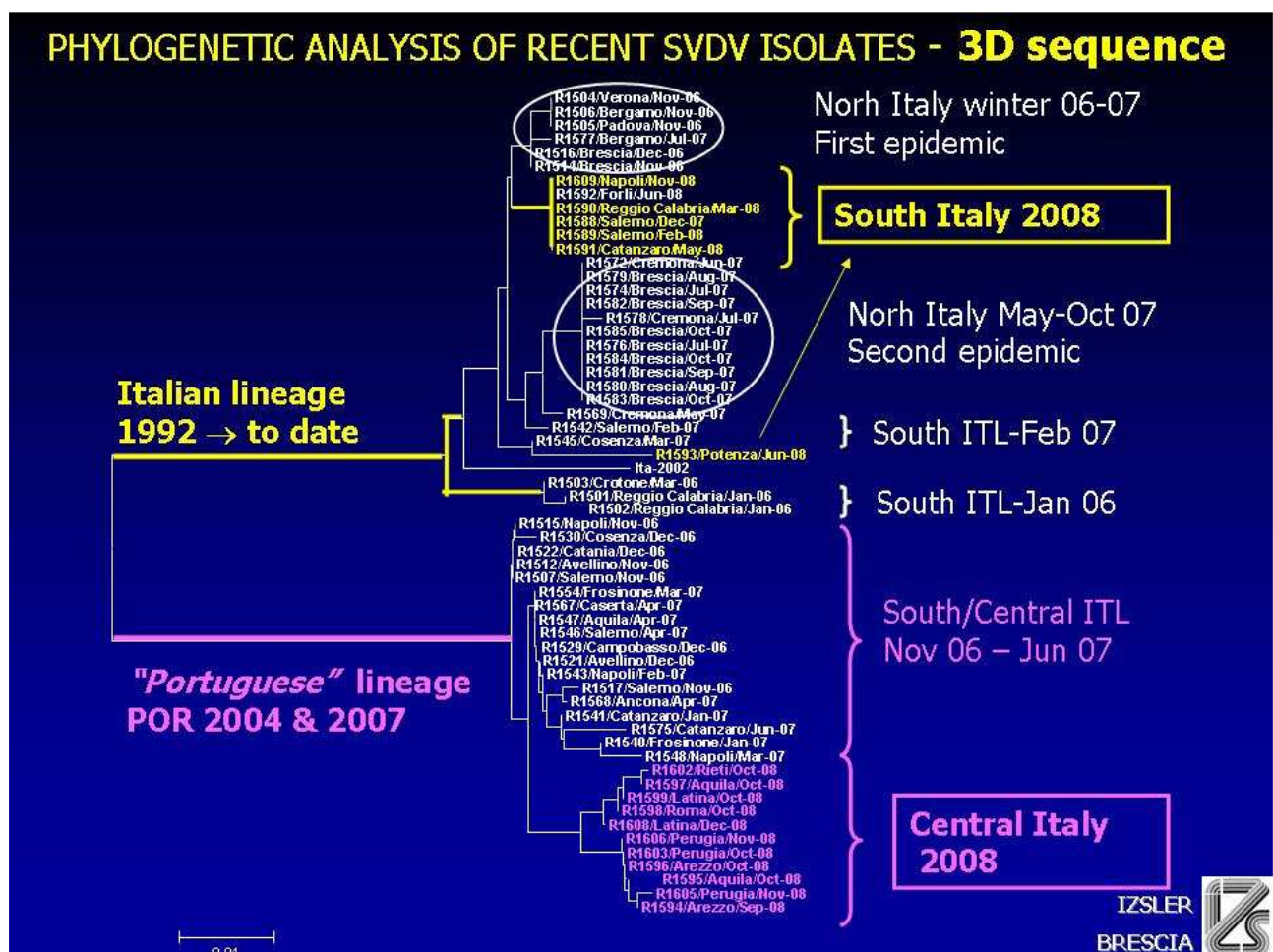
Analisi filogenetiche. E' da segnalare come avanzamento e miglioramento del servizio diagnostico l'esecuzione sistematica della caratterizzazione genomica tramite sequenziamento di tutti i virus MVS identificati nell'anno. La sequenziamento permette di definire similitudini, uguaglianze, correlazioni tra ceppi sulla base del confronto delle sequenze delle basi nucleotidiche del tratto genomico esaminato, e può essere utilizzata come strumento per l'epidemiologia molecolare.

L'analisi filogenetica dei virus MVS isolati in Italia a partire dal 2006 ad oggi ha messo in evidenza la presenza contemporanea di due sotto-gruppi.

Uno, definito **“linea portoghese”**, comprende un cluster di isolati tra loro geneticamente correlati, isolati da novembre 2006 a giugno 2007 esclusivamente in regioni centro-meridionali. La definizione di **“linea portoghese”** deriva dalla omologia che questi virus hanno con i ceppi identificati in Portogallo nel 2004 e nel 2007. **Questo virus è riemerso come responsabile di tutti i focolai in Italia centrale nell’anno 2008**, pur con minime variazioni genomiche che rendono gli isolati 2008 distinguibili da quelli precedenti.

Tutti gli isolati dell’altro cluster, definito **“linea italiana”**, appartengono ad un gruppo genetico già presente in Italia in anni precedenti (introdotto dall’Olanda nel 1992) e tipicamente evoluto in Italia. Questo gruppo è meno omogeneo del precedente e a sua volta differenziabile in diverse sub-linee, plausibilmente evolute cronologicamente. Appartengono a questo sotto-gruppo tutti gli isolati della prima e seconda ondata epidemica verificatesi nel nord Italia rispettivamente nel periodo temporale novembre 2006-gennaio 2007 e maggio-ottobre 2007, che sono geneticamente correlati ai virus isolati in focolai del Sud fino all’inizio del 2006; nello stesso sottogruppo rientrano anche i virus responsabili di focolai nel 2008 in regioni meridionali (pur appartenendo a questo cluster, il virus isolato nel focolaio di Piperno, Potenza, alla fine di giugno 2008 è distinguibile dagli altri) e il virus isolato nell’azienda di Bertinoro, Forlì in maggio 2008.

L’analisi dei risultati di sequenziazione ha dimostrato come l’epidemiologia molecolare possa essere utilizzata come strumento per rintracciare l’origine delle infezioni, affiancando e spesso integrando l’indagine epidemiologica classica.



L'accertamento di **Stomatite Vescicolare** è come sempre di scarsa consistenza numerica: esso non è mai stato richiesto come accertamento virologico ed è limitato alla sierologia connessa all'import-export o al controllo di animali sperimentali.

L'attività analitica routinaria, registrata nel dettaglio per Afta (FMD), Malattia Vescicolare del Suino (MVS), Stomatite Vescicolare (VS) ed Encefalomiocardite (EMC), è riportata nella tabella seguente.

Numero e tipologia di esami diagnostici (ufficiali) richiesti al CERVES nel 2008

| MALATTIA | RICERCA | REAZIONI (N°) | | | | TOTALE |
|-------------|-------------------|------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|----------------|
| AFTA | Esami sierologici | ELISA O (1892) | ELISA A (1976) | ELISA Asia (1892) | ELISA 3ABC (n.a.) | 5760 |
| | Esami virologici | Isol. virale (32) | ELISA (n.a.) | PCR (26) | | 58 |
| MVS | Esami sierologici | ELISA scr. (271.433) | ELISA IgG (3.016) | ELISA IgM (3.016) | | 277.465 |
| | | Siero Neutralizzazione | | | | 3.067 |
| | Esami virologici | Isol. virale (125) | ELISA (60) | PCR (3.068) | | 3.253 |
| | Esami genomici | Sequenza gene 3D | | | | 25 |
| SV | Esami sierologici | Siero Neutralizzazione | | | | 236 |
| EMC | Esami sierologici | ELISA | | | | 2.200 |
| | Esami virologici | Isol. virale (1) | ELISA (4) | PCR (65) | | 70 |

Non sono elencati nell'attività analitica routinaria i test che il CERVES ha eseguito, finalizzati ad escludere la presenza di virus aftosi, MVS ed EMCV in prodotti farmaceutici ad uso umano di origine suina. Nel 2008, sono stati controllati n. 70 lotti.

Oltre all'attività eseguita nell'ambito della Sanità Animale con finalità di diagnostica e/o sorveglianza, viene regolarmente eseguito un esteso numero di esami, che non sono registrati nell'attività routinaria analitica, necessari ad esempio alla preparazione ed esecuzione di ring test nazionali e/o internazionali, a verifiche e controlli di qualità interni, verifica dei batch di produzione dei reagenti in-house, programmi di ricerca e soprattutto allo sviluppo e validazione continua di nuovi saggi diagnostici.

Infine, nell'ambito del servizio diagnostico e del supporto erogato alla FAO, si segnala l'analisi con titolazione di circa 400 sieri, selezionati come sub-set da un più ampio

pannello campionato per sierosorveglianza post-vaccinazione in aree tampone sottoposte a vaccinazione antiaftosa dell'Armenia e Georgia (quelle confinanti con la Turchia), con l'obiettivo di valutare l'immunità vaccinale raggiunta dopo la campagna di vaccinazione primaverile 2008 (programma di vaccinazione finanziato dalla Commissione Europea). I campioni sono stati analizzati con 4 test diversi, in particolare per la determinazione (titolo) di anticorpi specifici per i sierotipi vaccinali O Manisa, A Iran 96, Asia1 e per la proteina non strutturale 3ABC, marker di differenziazione tra animali vaccinati e infetti (DIVA). La collaborazione con FAO ha un rilievo internazionale, oltre ad utili ricadute interne, quali l'accesso a campioni positivi di campo, preziosi ed utili ai fini della validazione continua dei MP, da perseguire anche attraverso l'applicazione e la verifica dei test in situazioni di campo.

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

Un Ring Test Nazionale relativo alla prova ELISA competitiva per la ricerca di anticorpi verso la Malattia Vescicolare del Suino, routinariamente eseguita da tutti gli IZZSS con reagenti prodotti e distribuiti dal CERVES viene organizzato mediamente ogni due anni. Nell'anno di riferimento non è stato organizzato un ring test nazionale, ma sono stati raccolti ed elaborati i risultati del ring test organizzato nel 2007. Questo contemplava non solo il metodo di screening per anticorpi anti-MVS, ma anche due test sierologici per Afta. Il ring test per la sierologia dell'Afta è stato organizzato come integrazione del *Laboratory Contingency Plan* del CERVES, al fine di mantenere la capacità e verificare la performance dei laboratori italiani chiamati a coadiuvare il CERVES nell'eventualità di un'epidemia aftosa. Le prove sierologiche scelte per il ring test corrispondono ai metodi trasferibili ad altri laboratori, poiché basati sull'utilizzo di virus inattivati e di antigeni ricombinanti; in particolare esse consistono in:

- un test ELISA competitivo per la ricerca di anticorpi verso proteine virali strutturali, tipo-specifiche; è stato scelto come modello il test per gli anticorpi anti-FMDV, tipo Asia 1;
- un test ELISA indiretta per la ricerca di anticorpi anti-3ABC, marker di infezione con qualunque sierotipo aftoso (test DIVA).

I suddetti metodi che sfruttano le potenzialità e caratteristiche degli anticorpi monoclonali, sono stati sviluppati dal CERVES e soggetti a processo di validazione riconosciuto a livello internazionale; il CERVES mantiene anche le capacità di produzione dei kit.

5) Circuiti interlaboratorio a cui ha partecipato il personale del C.d.R.

Come di consueto, anche nel 2008 il CERVES ha partecipato ai proficiency test internazionali, organizzati con frequenza annuale dal Community Reference Laboratory. Il responsabile del CERVES (Brocchi Emiliana) è stato membro di un "advisory board" composto da quattro esperti con la funzione di fornire consigli sugli scopi e sul disegno dello studio, costituito in attuazione delle linee guida internazionali per l'organizzazione dei ring test.

Nel 2008 il ring test internazionale per afta e MVS è stato organizzato in modo congiunto, simulando diversi possibili “casi” individuali e d’allevamento. Questo ha contemplato una diagnosi differenziale, con interpretazione finale sul risultato sia dei singoli campioni che complessivamente sui vari casi. Nell’esercizio sono state contemplate/simulate tutte le varie casistiche, compresa la sorveglianza post-focolaio aftoso, condotta sia in caso di vaccinazione che in assenza di vaccinazione.

Il proficiency test ha permesso di verificare la performance e l’affidabilità diagnostica del CERVES sull’intero pannello di test diagnostici per Afta e MVS. Sono state sottoposte a verifica nell’ambito del proficiency test congiunto per afta e MVS le seguenti prove diagnostiche:

- Test sierologici per Afta: 1) ELISA e 2) Sieroneutralizzazione per anticorpi tipo specifici, 3) 3ABC-ELISA per anticorpi verso proteine non strutturali marker di infezione;
- Test virologici per Afta: 1) Isolamento, 2) ELISA e 3) PCR
- Test sierologici per MVS: 1) ELISA competitiva e 2) Sieroneutralizzazione;
- Test virologici per MVS: 1) Isolamento, 2) ELISA e 3) PCR

E’ opportuno sottolineare che questo esercizio è particolarmente impegnativo, sia per la numerosità e complessità delle prove che comprendono tutte le metodologie e le finalità diagnostiche per MVS e Afta epizootica, sia perché nel caso dell’Afta le prove riguardano potenzialmente tutti i diversi sierotipi di virus, con la messa in opera di una batteria di reagenti e prove per sette sierotipi.

Il report ufficiale non è stato ancora distribuito, tuttavia i risultati dei due circuiti sono stati presentati e discussi ai meeting annuali dei “EU FMD/SVD National Reference Laboratories”: le performance delle prove effettuate dal CERVES sono state soddisfacenti e conformi confermando l’attendibilità degli esiti prodotti dal CERVES.

Inoltre, il CERVES è stato uno dei pochi laboratori europei in grado di dare risposta a tutte le prove del ring test.

Epidemiologia

1) Creazione Banca dati

Il sistema informativo per la gestione delle attività di sorveglianza per le malattie vescicolari, accessibile attraverso il sito www//cerves.it, costituisce di per se una Banca dati: si rimanda al paragrafo successivo per quanto concerne questo servizio.

E’ stata aggiornata presso il laboratorio la Banca dati con la raccolta delle sequenze della regione genomica 3D, ottenute da tutti gli isolati di virus MVS del 2008.

2) Sviluppo e Gestione di Sistemi Informativi

E’ stato sviluppato un sistema informativo per la gestione delle attività di sorveglianza per le malattie vescicolari, accessibile attraverso il sito www//cerves.it.

Il sistema è costituito da:

- una parte statica di consultazione (legislazione, informazioni sulla malattia, note del Ministero della Salute, modulistica, manuale emergenza, pubblicazioni);
- una parte dinamica predisposta per la gestione delle attività di eradicazione del Piano Nazionale MVS. In questa parte del sistema confluiscono: 1) gli esiti dei controlli diagnostici previsti dal piano nazionale (sierologici e virologici), 2) alcuni dati anagrafici relativi alle aziende suinicole registrati in Banca Dati Nazionale, 3) informazioni sui focolai notificati di malattia. L'accesso della parte dinamica è differenziato e regolato da password. Accedono a questa parte del sistema: Ministero della Salute, Servizi Veterinari Regionali, Osservatori Epidemiologici Regionali e Centro Nazionale di Referenza per le Malattie Vescicolari.

Il Sistema consente sia un'interrogazione puntuale sulla base di queries impostate in accordo con le attività previste dal Piano Nazionale MVS, che l'elaborazione dei dati secondo i formati necessari: 1) a soddisfare i fabbisogni informativi sia a livello nazionale che EU, 2) a verificare le attività svolte in condizioni ordinarie e di emergenza.

Il sistema è in continua evoluzione per migliorare le possibilità di verifica e controllo da parte delle Autorità Competenti e per adeguarsi ai cambiamenti previsti nelle attività di sorveglianza per la malattia.

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

Le attività svolte inerenti questo capitolo hanno compreso:

- Analisi della funzionalità del sistema informativo per predisporre i miglioramenti tecnici del sistema stesso, ed i collegamenti con altre Banche Dati (Darwin, BDN);
- Sviluppo delle funzionalità del sistema per adeguarlo alle richieste degli utenti e ai cambiamenti nelle attività di controllo;
- Supporto tecnico agli utenti del sistema;
- Verifica alimentazione sistema e congruenza dati;
- Analisi e valutazione dei dati nazionali per la realizzazione di attività ordinarie (predisposizione Piani nazionali o regionali, verifica, rendicontazioni) o di emergenza (in caso di epidemie o situazioni a rischio);
- Analisi e valutazione dei dati nazionali per la predisposizione di azioni di prevenzione.

4) Aggiornamenti epidemiologici sulle materie di competenza (diffusione dell'informazione)

La situazione epidemiologica nazionale è costantemente aggiornata sul sistema informativo (cerves.it) a cui accedono tutti gli utenti del SSN coinvolti nelle attività di eradicazione per la MVS.

Analisi puntuali della situazione epidemiologica vengono realizzate alle scadenze istituzionali per la verifica e predisposizione dei Piani e ogni qual volta si verifica una situazione a rischio per la diffusione dell'infezione.

Il Centro di Referenza fornisce supporto tecnico al Ministero ogni qual volta c'è da rappresentare la situazione nazionale a livello EU e ai meeting annuali dei Laboratori Nazionali di Referenza nella EU.

Il CERVES è costantemente informato sulla situazione epidemiologica e sui programmi internazionali di controllo dell'afta, attraverso il Research Group della EUFMD Commission e gli strumenti informatici di diffusione dell'informazione.

Ricerca e Sperimentazione

Premessa

Il CERVES è storicamente coinvolto in attività di ricerca, sia nell'ambito di progetti nazionali che internazionali, in collaborazione con i Laboratori di Referenza degli Stati Membri della UE, dello World Reference laboratory e dei Laboratori di Referenza OIE. Nel 2008 è proseguito l'impegno nei progetti di ricerca di seguito citati.

1) Progetti di Ricerca finanziati dal Ministero della Salute

Progetti specifici CERVES

1. E' stato attivato alla fine dell'anno 2008 il nuovo Progetto di ricerca **corrente** 2007 che avrà durata biennale "Mantenimento degli standard diagnostici per l'Afta in funzione dell'evoluzione dell'epidemiologia e delle strategie di controllo", IZSLER 04/07, 3/11/2008-2/11/2010, *Responsabile scientifico Emiliana Brocchi*. Gli obiettivi della presente ricerca riguardano sia il miglioramento degli standard diagnostici per Afta, che lo sviluppo di strumenti in vitro di elevate performance per l'applicazione di una strategia di controllo basata su vaccinazione d'emergenza. In particolare essi comprendono:
 - Approfondita conoscenza dell'antigenicità dei ceppi aftosi circolanti e miglioramento della selezione dei ceppi vaccinali, attraverso il confronto dei profili antigenici dei ceppi vaccinali e dei virus circolanti;
 - Studio della correlazione tra protezione e titoli anticorpali, determinati tramite Sieroneutralizzazione ed ELISA;
 - Aggiornamento del repertorio di reagenti e tests diagnostici per afta, basati sull'utilizzo di anticorpi monoclonali, per il riconoscimento dei nuovi virus emergenti;
 - Implementazione del test RealTime PCR "pan-afta", più idoneo all'automazione in una situazione di emergenza.

Tali conoscenze sono essenziali per i "decision makers" responsabili delle Banche di antigeni aftosi per vaccinazioni d'emergenza e sono di immediata ricaduta pratica per l'Italia che si appronta a costituire e mantenere una propria Banca Nazionale.

Inoltre, il miglioramento degli standard diagnostici ed il loro adeguamento all'evolversi della situazione epidemiologica permetterà di disporre di aggiornati ed

affidabili sistemi di epidemiosorveglianza, indispensabili a livello nazionale per fronteggiare eventuali emergenze e a livello internazionale per conoscere la reale condizione corrente in riferimento all'afta.

2. E' stato attivato l'1/9/2008 il progetto biennale di Ricerca corrente 2007, codice IZSLER2007/006: Biosicurezza in aziende suinicole. Il progetto prevede la collaborazione fra CERVES (Silvia Bellini) e Sezione Diagnostica Brescia (Giovanni Alborali). *Responsabile del progetto: Prof. Stefano Cinotti.*

Inoltre, nell'ambito del programma per la ricerca corrente 2008, è stato predisposto e proposto per il finanziamento un nuovo progetto, avente come argomento "Sviluppo e sperimentazione di metodi in RealTime PCR e amplificazioni isoterme per la diagnosi virologica della Malattia Vescicolare del Suino" . E' prevista l'attivazione del nuovo progetto durante il 2009.

Progetti che coinvolgono il CERVES

1. E' terminato in marzo 2008 il Progetto di ricerca **corrente** 2004 "Valorizzazione di Sistemi diagnostici di Laboratorio sviluppati presso l'IZS di Brescia attraverso la conversione in kit stabilizzati e standardizzati", IZSLER 09/04, 01/10/2005-31/03/2008, *Responsabile scientifico Emiliana Brocchi.*

L'obiettivo della ricerca consisteva nella trasformazione in kit "pronto uso" dei sistemi diagnostici sviluppati nel corso di due decenni di ricerche nel Reparto di biotecnologie dell'IZSLER. L'attinenza alle attività del CERVES è legata all'inclusione dei test ELISA per MVS e Afta Epizootica tra i kit proposti come modello per la stabilizzazione. Il programma è stato regolarmente condotto ed i risultati sono stati applicati in tempo reale: l'emergenza diagnostica MVS del 2007 è stata infatti l'occasione per introdurre nella pratica corrente i kit MVS stabilizzati; anche le prove di stabilizzazione per due tipologie di kit diagnostici per Afta hanno fornito risultati soddisfacenti ed avuto come output applicativo la messa a disposizione dei kit prodotti dal CERVES per cinque paesi beneficiari del progetto FAO, finanziato dal Ministero Affari esteri, GTFS/INT/907/ITA (Pakistan, Afghanistan, Uzbekistan, Tajikistan, Turkmenistan). I kit CERVES saranno distribuiti nel 2009.

2. Progetto di ricerca **corrente** 2006 "Sviluppo di tecniche di epidemiosorveglianza; valutazione e gestione del rischio nelle produzioni tradizionali del territorio; messa a punto di nuovi metodi di analisi su base biotecnologia", IZSLER 06/01, 01/07/2007-30/06/2009.

Il progetto, presentato come progetto IZSLER unificato, è articolato in vari sottoprogetti ed ha come fine ultimo quello di porre a disposizione degli organi di controllo gli strumenti e metodiche tecnologicamente evolute per controllare le modalità di gestione dei rischi sanitari a livello di produzione primaria e verificare le prassi di garanzia della sicurezza alimentare da parte degli stabilimenti di trasformazione. Il progetto prevede una parte dedicata alla MVS, per la quale sono state individuate varie priorità conseguenti alla recrudescenza della malattia verificatasi nel 2006-2007 in aree ad alta densità di popolazione e fortemente

coinvolte nella produzione di prodotti tipici. Durante la conduzione della ricerca nel 2008 è stato ottimizzato il test PCR per MVS sia dal punto di vista procedurale, migliorandone ulteriormente la sensibilità, sia attraverso la modifica dei primers per permettere un più vasto riconoscimento di eventuali varianti; inoltre è stata eseguita l'analisi filogenetica dei virus isolati nei focolai del 2008; è continuato lo studio per la verifica in campo delle misure di biosicurezza applicate nelle aziende.

3. Progetto di ricerca **finalizzata** 2006 "Tecnologie Innovative applicate alla diagnostica delle malattie trasmissibili degli animali (Diag-nova)", PRF2006/302, coordinato dall'IZS di Sassari, di durata biennale ed intrapreso l'1/2/2008. Il progetto è multifattoriale e coinvolge vari IIZZSS con l'obiettivo principale di migliorare le modalità di prevenzione e di controllo sanitario attraverso lo sviluppo e l'utilizzo di tecniche rapide, di facile utilizzo e al tempo stesso sensibili. Anche il CERVES è coinvolto nel progetto con lo specifico obiettivo di approfondire lo studio dei test DIVA per AFTA, con particolare riferimento ai test ELISA competitivi, applicabili indipendentemente dalla specie animale in esame.

2) Progetti di Ricerca finanziati da altri Enti (EU)

1. Ricerca finalizzata VI Programma Quadro Europeo (STREP-FP6) "*Improvement of Foot and Mouth disease control by ethically acceptable methods based on scientifically validated assays and new knowledge on FMD vaccines, including the impact of vaccination*", *FMD_ImproCon*, 2004-2008, Responsabile Scientifico Italiano: Emiliana Brocchi. Il progetto che ha coinvolto 10 Partners europei ed extra-europei si è concluso il 31/12/2008; reports scientifici annuali e finale sono stati regolarmente prodotti e forniti al coordinatore.
2. Ricerca finalizzata VI Programma Quadro Europeo (STREP-FP6) "*New and emerging technologies: improved laboratory and on-site detection of OIE list A viruses in animals and animal products*", *LAB-ON-SITE*; Novembre 2004 - Giugno 2008, Responsabile Scientifico Italiano: Emiliana Brocchi. Il progetto che ha coinvolto 9 Partners europei si è concluso il 30 giugno 2008; reports scientifici annuali e finale sono stati regolarmente prodotti e forniti al coordinatore. Lo sviluppo, in collaborazione con IAH, Pirbright e Svanova, del primo test rapido eseguibile on-site per la diagnosi di afta, basato sull'uso di un anticorpo monoclonale prodotto e caratterizzato nei laboratori del CERVES, è stato uno degli output più significativi di questo progetto.
3. Network of Excellence (VI programma quadro europeo) in the field of epizootic diseases, acronimo **EPIZONE**, Responsabile Scientifico Italiano: Silvia Bellini. Nel progetto EPIZONE, iniziato di fatto nel 2006 il CERVES partecipa con aspetti di ricerca relativi alla epidemiologia molecolare e sperimentale dei virus MVS e all'implementazione dei test DIVA per Afta Epizootica.

Oltre all'attività svolta per l'esecuzione dei progetti europei in atto, nel 2008 il CERVES ha operato per quanto di sua competenza, in collaborazione con gli altri partner europei ed extraeuropei, per la predisposizione di un nuovo progetto europeo nell'ambito del settimo

programma quadro. Nel 2008 il progetto ha passato positivamente la fase di selezione ed è entrato nella fase di negoziazione.

Aggiornamento e formazione professionale

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

Nel 2008 il CERVES è stato coinvolto nella organizzazione e/o docenza di due corsi inerenti la Malattia Vescicolare del Suino:

5. Malattia Vescicolare del Suino – Attivita' di prevenzione e controllo.
Corso di formazione per dirigenti veterinari dei dipartimenti di prevenzione veterinari delle ASL della Lombardia. Corso organizzato in 3 moduli nelle province di Brescia, Cremona e Milano.
5. Biosicurezza ed emergenza malattia vescicolare del suino in Italia settentrionale.
Giornata di studio su: La biosicurezza come strumento di rinnovamento e sviluppo del comparto suinicolo italiano. Organizzato da Università degli studi di Torino, Scuola di Specializzazione in Patologia Suina. Moretta (CN) 21 Novembre 2008
5. Inoltre, nell'ambito di una collaborazione alla FAO il CERVES ha organizzato e tenuto un **corso pratico di 10 giorni** sulle metodiche diagnostiche per Afta, destinato ai **rappresentanti dei Paesi Asiatici** beneficiari del progetto FAO GTFS/INT/907/ITA, con presentazione ed uso dei kit stabilizzati prodotti dal CERVES.

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

Organizzazione Congressi

Nel 2008 il CERVES è stato attivamente coinvolto nella **organizzazione di due congressi internazionali** di grande risonanza.

Il Congresso annuale del Network of Excellence EPIZONE è stato organizzato in Italia in giugno, ed ha visto la partecipazione di circa 300 iscritti. Il network riguarda numerose malattie trasmissibili, tra cui afta e MVS; l'organizzazione scientifica e logistica del Convegno realizzato a Brescia ha impegnato il CERVES come principale coordinatore, essendo un dirigente del CERVES (dott.ssa Bellini) il responsabile scientifico per l'IZSLER in ambito EPIZONE.

E' rientrata integralmente nell'ambito scientifico del CERVES l'organizzazione, con il patrocinio del Ministero, del Congresso internazionale sull'afta, corrispondente alla Open Session della EUFMD Commission che ricorre ogni due anni. Il congresso ha avuto come tema guida "The global control of FMD: tools, ideas and ideals", è stato realizzato a Erice in ottobre con la collaborazione logistica dell'IZS della Sicilia, ed è stata l'Open Session più frequentata nella storia di questi eventi, avendo riunito tutto il mondo scientifico dell'afta con circa 200 esperti da oltre 40 diversi paesi del mondo, uscendo dai confini della EUFMD Commission e rivestendo il carattere di un vero evento globale.

Partecipazione a meeting di progetti di ricerca EU

- Giugno 2008, partecipazione di tre dirigenti dello staff CERVES al meeting annuale del Network of Excellence EPIZONE, organizzato dall'IZSLER a Brescia.
- Luglio 2008, partecipazione al meeting finale del progetto europeo LAB-ON-SITE organizzato presso la sede dell'OIE, Parigi. Al meeting sono stati presentati i risultati dell'ultimo periodo, riassunti e discussi i risultati complessivi del progetto, discussione dei risultati con i membri dell'ad hoc group on epidemiology.
- Dicembre 2008, partecipazione al meeting finale del progetto europeo FMD_ImproCon, Bruxelles, con presentazione dello stato avanzamento e dei risultati della ricerca. Sono state inoltre concordate le modalità di stesura e presentazione dei report finali.

Partecipazione a Workshop, Meeting scientifici, Congressi

- Marzo 2008: partecipazione della dott.ssa Brocchi al "Chief Veterinary Officers (CVOs) Regional Annual Meeting" Under FAO Project "Controlling Transboundary Animal Diseases in Central Asian Countries" (GTFS/INT/907ITA), Ankara, (Turkey), con presentazione di un a relazione ad invito sui test immunologici per la diagnosi e sorveglianza dell'Afta.
- Giugno 2008: partecipazione di tre dirigenti del CERVES al Congresso annuale di EPIZONE con presentazione di lavori scientifici inerenti l'afta e la MVS, Brescia-Italy.
- Luglio 2008: partecipazione della dott.ssa Bellini in qualità di esperto e delegato EU al Workshop Research in Swine Viral Diseases "Building Bridges". Organizzato da: Epizone, European Commission, Shanghai Veterinary Research Institute. Shanghai 7-9 July 2008.
- Ottobre 2008: partecipazione di tre dirigenti del CERVES alla Open Session della EUFMD "The global control of FMD: tools, ideas and ideals", Erice -Italy, con presentazione di quattro contributi scientifici.
- Novembre 2008: partecipazione della dott.ssa Bellini alla "European Veterinary Week 2008: One Health. Healthy Animals = Healthy people. Organizzata da DGSANCO, Bruxelles 10 Novembre 2008.

Sono stati posticipati a gennaio 2009 i meeting annuali dei laboratori di referenza nazionali della EU per Afta e per MVS.

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

- Gennaio 2008: la dott.ssa Bellini ha partecipato in qualità di esperto e delegato della Direzione Generale dei Servizi Veterinari del Ministero della Sanità alla riunione del gruppo di lavoro sulla compartimentalizzazione.

- Aprile 2008: la dott.ssa Bellini ha partecipato alla riunione del gruppo di esperti OIE per la revisione del Capitolo MVS del Codice Zoosanitario OIE e la predisposizione delle linee guida di sorveglianza.
- Ottobre 2008, partecipazione della dott.ssa Brocchi (membro RG) alla Closed Session del Research Group della EUFMD Commission, Erice - Italy.

Consulenze, attività di docenza, collaborazioni nazionali

1) Consulenze richieste ad esterni

Nulla da segnalare

2) Consulenze e pareri tecnici forniti ad esterni

Le sotto-elencate attività fanno parte del servizio di consulenza e supporto regolarmente erogato dal CERVES. Nello specifico del 2008 è stata fornita consulenza agli organi e per gli aspetti di seguito elencati.

- Al Ministero della Salute per: la predisposizione del piano di sorveglianza ed eradicazione nazionale della malattia vescicolare del suino e dei relativi sistemi informativi, la gestione delle attività ordinarie e straordinarie connesse con la realizzazione dei piani, la revisione dei piani straordinari regionali, valutazione dell'andamento dei piani ordinari e straordinari, predisposizione piani EU, rendicontazione economica dei piani alla EU, predisposizione di materiale informativo per la divulgazione della situazione epidemiologica della MVS sia a livello nazionale che internazionale, ispezioni presso i servizi veterinari regionali e ASL sulla implementazione delle misure di sorveglianza e controllo previste per la malattia vescicolare del suino. Revisione di normativa nazionale e comunitaria per le malattie vescicolari, per la gestione delle situazioni di emergenza. Supporto tecnico scientifico nel corso delle visite ispettive per MVS da parte di Paesi Terzi (visita ispettiva FVO) e dei NAS. Supporto tecnico scientifico nel recepimento della normativa di riferimento per le malattie vescicolari. Predisposizione misure di biosicurezza per gli allevamenti suinicoli. Analisi e valutazione delle criticità presenti nel settore suinicolo (registrazione BDN, gestione dei flussi commerciali del settore, gestione delle attività di verifica e controllo).

Sempre al Ministero della Salute sono stati forniti nel 2008:

- report e/o pareri relativi alla problematica e frequenza di singleton reactor per la MVS;
- report sulla epidemiologia molecolare della MVS nel 2008 basata su analisi filogenetiche;
- analisi e valutazione delle criticità esistenti nella registrazione delle aziende suinicole e nella gestione del relativo comparto, al fine della gestione delle attività di eradicazione delle malattie dei suini.
- è stata predisposta la gara ed il capitolato tecnico per la costituzione di una Banca Nazionale di antigeni aftosi per vaccini d'emergenza.

- Ai **servizi veterinari regionali** per: la predisposizione dei piani straordinari per la malattia vescicolare, la gestione delle attività connesse alla realizzazione del piano di sorveglianza/eradicatione della MVS, la gestione dei focolai MVS.
- Ai **servizi veterinari ASL** per: la gestione dei casi sospetti o confermati di malattia vescicolare del suino, le misure di profilassi e di controllo da intraprendere nei casi sospetti/confermati di malattia, l'interpretazione di provvedimenti legislativi.

3) attività di docenza

La dott.ssa Bellini è stata relattrice in due corsi inerenti la Malattia Vescicolare del Suino:

- **Malattia Vescicolare del Suino – Attivita' di prevenzione e controllo.**
Corso di formazione per dirigenti veterinari dei dipartimenti di prevenzione veterinari delle ASL della Lombardia. Corso organizzato in 3 moduli nelle province di Brescia, Cremona e Milano.
- **Biosicurezza ed emergenza malattia vescicolare del suino in Italia settentrionale.**
Giornata di studio su: La biosicurezza come strumento di rinnovamento e sviluppo del comparto suinicolo italiano. Organizzato da Università degli studi di Torino, Scuola di Specializzazione in Patologia Suina. Moretta (CN) 21 Novembre 2008.

La dott.ssa Brocchi è stata relattrice al "Chief Veterinary Officers (CVOs) Regional Annual Meeting" Under FAO Project "Controlling Transboundary Animal Diseases in Central Asian Countries" (GTFS/INT/907ITA), tenuto ad Ankara, (Turkey), 31 March - 01 April 2008 sull'argomento: Immunological assays for FMD diagnosis and surveillance.

Consulenze e collaborazioni europee

Collaborazioni nell'ambito della ricerca scientifica sono state mantenute con pressoché tutti i Centri di Referenza Nazionali e/o Istituti Veterinari di Ricerca dei Paesi dell'Europa Occidentale.

Attività di consulenza erogata

La dott.ssa Bellini, incaricata dal Ministero, ha partecipato in qualità di esperto a tutte le riunioni del Comitato Veterinario Permanente a Bruxelles, aventi come argomento all'ordine del giorno la Malattia Vescicolare del Suino, per riferire ed aggiornare sulla situazione epidemiologica e sulle misure adottate o da adottare per il controllo dei focolai.

Consulenze e collaborazioni internazionali

- IL CERVES, per tramite dell'IZSLER, ha stipulato nel 2008 un accordo di collaborazione con FAO nell'ambito del progetto **FAO GTFS/INT/907/ITA**, con il quale il CERVES si impegna a fornire training pratico sui test diagnostici per afta e kit diagnostici di produzione interna (Antigen detection ELISA e test sierologico DIVA 3ABC-trapping ELISA) a cinque Paesi beneficiari del progetto (Pakistan, Afghanistan, Uzbekistan, Tajikistan, Turkmenistan). L'attività prevista dall'accordo è stata intrapresa nel 2008, con l'erogazione di un training pratico di 8 giorni e fasi preparatorie della produzione di kit diagnostici.

- È continuata la consulenza alla FAO, in qualità di centro collaborativo FAO per Afta, anche attraverso l'esecuzione di test diagnostici di verifica su subset di campioni, volta a verificare la validità dei risultati ottenuti nei laboratori nazionali in Armenia e Georgia per la sierosorveglianza per AFTA pianificata nel 2008.
- Partecipazione in qualità di membro del Research Group of the EUFMD Commission alla "Closed Session" annuale del Gruppo e partecipazione al programma annuale di lavoro del Research Group.

Publicazioni scientifiche e divulgazioni

N° 7 Pubblicazioni su riviste internazionali con impact factor :

1. Nordengrahn A, Gustafsdottir SM, Ebert K, Reid SM, King DP, Ferris NP, **Brocchi E, Grazioli S**, Landegren U, Merza M. Evaluation of a novel proximity ligation assay for the sensitive and rapid detection of foot-and-mouth disease virus. *Vet Microbiol.* 2008 Mar 18;127(3-4):227-36
2. Martín-Acebes MA, González-Magaldi M, Rosas MF, Borrego B, **Brocchi E**, Armas-Portela R, Sobrino F. Subcellular distribution of swine vesicular disease virus proteins and alterations induced in infected cells: A comparative study with foot-and-mouth disease virus and vesicular stomatitis virus. *Virology.* 2008 May 10;374(2):432-43
3. Campos Rde M, Malirat V, Neitzert E, **Grazioli S, Brocchi E**, Sanchez C, Falczuk AJ, Ortiz S, Rebello MA, Bergmann I. Development and characterization of a bovine serum evaluation panel as a standard for immunoassays based on detection of antibodies against foot-and-mouth disease viral non-capsid proteins. *J Virol Methods.* 2008 Jul;151(1):15-23.
4. Engel B, Buist W, Orsel K, Dekker A, de Clercq K, **Grazioli S**, van Roermund H. A Bayesian evaluation of six diagnostic tests for foot-and-mouth disease for vaccinated and non-vaccinated cattle. *Prev Vet Med.* 2008 Aug 15;86(1-2):124-38.
5. Dekker A, Sammin D, Greiner M, Bergmann I, Paton D, **Grazioli S**, de Clercq K, **Brocchi E**. Use of continuous results to compare ELISAs for the detection of antibodies to non-structural proteins of foot-and-mouth disease virus. *Vaccine.* 2008 May 23;26(22):2723-32.
6. Ferris NP, Nordengrahn A, Hutchings GH, Reid SM, King DP, Ebert K, Paton DJ, Kristersson T, **Brocchi E, Grazioli S**, Merza M. Development and laboratory validation of a lateral flow device for the detection of foot-and-mouth disease virus in clinical samples. *J Virol Methods.* 2009 Jan;155(1):10-7.
7. Rodriguez-Sanchez B, Sanchez-Vizcaino JM, Uttenthal A, Rasmussen TB, Hakhverdyan M, King DP, Ferris NP, Ebert K, Reid SM, Kiss I, **Brocchi E, Cordioli P**, Hjerner B, McMenamy M, McKillen J, Ahmed JS, Belak S. Improved diagnosis for nine viral diseases considered as notifiable by the world organization for animal health. *Transbound Emerg Dis.* 2008 Aug;55(5-6):215-25

N° 5 Presentazioni a congressi nazionali con pubblicazione di atti convegno :

1. Alborali L. , Abrami S., Zanardi G., Avisani D., **Bellini S**. Malattia vescicolare e misure di bio-sicurezza: fattori di rischio evidenziati nei focolai lombardi nel 2006-2007. Atti della Società Italiana di Patologia ed Allevamento dei Suini (SIPAS), XXXIV Meeting Annuale, pp 115 – 124.
2. **Bellini S**. Malattia vescicolare del suino: situazione nazionale della malattia e prospettive per le nuove strategie di controllo. Atti della Società Italiana di Patologia ed Allevamento dei Suini (SIPAS), XXXIV Meeting Annuale, pp 83 – 89.
3. Giorgio Zanardi, Loris Alborali, **Silvia Bellini**, Dominga Avisani. La malattia vescicolare del suino in Lombardia: epidemie a confronto dal 1998 al 2007. Atti della Società Italiana di Patologia ed Allevamento dei Suini (SIPAS), XXXIV Meeting Annuale, pp 91 – 102.

4. Sozzi E., Luppi A., Lelli D., Moreno A., Canelli E., Cordioli P., **Brocchi E., Bugnetti M.** Identificazione molecolare di porcine teschovirus e enterovirus tramite RT-PCR. Atti della Società Italiana di Patologia ed Allevamento dei Suini (SIPAS), XXXIV Meeting Annuale, pp. 247-252.
5. Sozzi E., Barbieri I., Lavazza A., Moreno A., Lelli D., Luppi A., Canelli E., **Bugnetti M.,** Cordioli P. Caratterizzazione genetica di porcine enterovirus e teschovirus isolati in Italia nel 2006-2007. X Congresso Nazionale SIDILV, Alghero 22-24 ottobre 2008, p. 67-68.

N° 7 Presentazioni a congressi internazionali con pubblicazione dell'abstract book e/o proceedings (dove indicato) :

1. **Silvia Bellini,** Loris Alborali, Vittorio Bonazza, Dominga Avisani, Giorgio Zanardi. Swine vesicular disease in Lombardy region: diffusion in densely populated pig area. Second Annual Meeting Network of Excellence for Epizootica Disease Diagnosis and Control, p. 79. June 4 – 6 2008, Brescia, Italy.
2. Loris Alborali, Claudia Nassuato, Matteo Gradassi, Roberta Pavesi, Vito Massimo Tranquillo, **Silvia Bellini.** Swine vesicular disease in Lombardia: case control study to determine the role of risk factors in disease diffusion. Second Annual Meeting Network of Excellence for Epizootica Disease Diagnosis and Control, p. 83. June 4 – 6 2008, Brescia, Italy.
3. **Brocchi Emiliana, Grazioli Santina, Pezzoni Giulia,** Borrè Aldo. Confirmatory tests for Foot-and-Mouth Disease DIVA serology based on profiling of antibodies to non structural proteins. Second Annual Meeting Network of Excellence for Epizootica Disease Diagnosis and Control, p. 125. June 4 – 6 2008, Brescia, Italy.
4. **Santina Grazioli, Emiliana Brocchi,** Vito Tranquillo, Satya Parida, David Paton. Development of solid phase competitive ELISAs based on monoclonal antibodies for the serology of FMDV serotypes SAT1 and SAT2. Open Session of the EUFMD Commission "The global control of FMD: Tools, Ideas and Ideals", Erice, Italy, 13-17 ottobre 2008. Proceedings in press.
5. **Emiliana Brocchi, Santina Grazioli, Giulia Pezzoni.** Evaluation of profiling ELISA for antibodies to the non structural proteins 3A, 3B, 3D and 3ABC of foot-and-mouth disease virus for DIVA-serology. Open Session of the EUFMD Commission "The global control of FMD: Tools, Ideas and Ideals", Erice, Italy, 13-17 ottobre 2008. Proceedings in press.
6. **Santina Grazioli, Emiliana Brocchi.** Mapping of immunodominant regions of the non structural protein 3D of foot-and-mouth disease virus, relevant for the recognition of an infection status. Open Session of the EUFMD Commission "The global control of FMD: Tools, Ideas and Ideals", Erice, Italy, 13-17 ottobre 2008. Proceedings in press.
7. **Emiliana Brocchi,** Maria Luisa Crosatti, **Santina Grazioli, Marco Bugnetti.** Evaluation of monoclonal antibodies against five foot-and-mouth disease viruses of type A for antigenic profiling and vaccine matching of field isolates. Open Session of the EUFMD Commission "The global control of FMD: Tools, Ideas and Ideals", Erice, Italy, 13-17 ottobre 2008. Proceedings in press.

N° 2 Presentazione ad workshop/meeting internazionali:

1. **Silvia Bellini, Marco Bugnetti, Santina Grazioli and Emiliana Brocchi.** Swine Vesicular Disease (SVD): disease situation, epidemiology, diagnosis, prevention and control measures. Workshop: Research in Swine Viral Diseases "Building Bridges". Pp. 53. Organized by: Epizone, European Commission, Shanghai Veterinary Research Institute. Shanghai 7-9 July 2008.
2. **Silvia Bellini,** Loris Alborali, Vittorio Bonazza, Dominga Avisani, Giorgio Zanardi. Swine vesicular disease in Lombardy region: pattern of spread in a high density pig area. International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance (IMED 2009). Vienna, 13-16 Febbraio 2009.
3. **Emiliana Brocchi.** SVD national disease and surveillance in 2008. European Annual meeting of the National Reference Laboratories for SVD, Brussels 14 January 2009.

N° 2 Pubblicazioni su riviste nazionali :

1. G. Zanardi, M. Astuti, D. Avisani, L. Alborali, **S. Bellini**. Analisi delle epidemie di malattia vescicolare del suino in Lombardia, con particolare riferimento al 2006 – 2007. L'Osservatorio, 11, n. 2, pp 3 – 15 , Aprile 2008.
2. **Silvia Bellini**. Concetti generali di biosicurezza negli allevamenti e fattori di rischio. In corso di pubblicazione in: MANUALE DI BIOSICUREZZA VETERINARIA. Collana dei quaderni della Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche.

Sito WEB

Nel sito dell'OEVER della Regione Lombardia (<http://www.oever.org/>) è stata mantenuta aggiornata la pagina, collegata al sito IZSLER: <http://www.bs.izs.it/>, relativa alle Malattie Vescicolari.

In anni precedenti è stato realizzato un sistema WEB-GIS (<http://www.cerves.it>) per la gestione e la consultazione in tempo reale del sistema informativo che gestisce il Piano della Malattia Vescicolare del Suino.

Nella parte statica di consultazione del sistema vengono mantenuti aggiornati i dati per afta e MVS relativi a legislazione, informazioni sulla malattia, note del Ministero, modulistica, manuale emergenza, pubblicazioni; la parte dinamica, predisposta per la gestione delle attività di eradicazione del Piano Nazionale MVS è in continua evoluzione per migliorare le possibilità di verifica e controllo da parte delle Autorità Competenti e per adeguarsi ai cambiamenti previsti nelle attività di sorveglianza per la malattia.

Nel 2008 il sistema è stato ulteriormente perfezionato per fornire ai SV regionali una pagina di interrogazione che consenta loro di verificare l'andamento del piano nazionale effettuando anche un confronto con i dati presenti in BDN (Anagrafe nazionale suina).

Il responsabile del CERVES
Dott.ssa Emiliana Brocchi