

## **RELAZIONE ANNUALE**

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

(Periodo: dal 01.10.2022 al 30.09.2023)

## Centro di Referenza Nazionale (C.R.N.) Paratubercolosi Relazione sulla attività svolta dal 01.10.2022 al 30.09.2023

### Premessa

La Sede territoriale di Piacenza, Centro di Referenza Nazionale per la Paratubercolosi, ha ricevuto in data 3.11.2021 la comunicazione da WOAH di approvazione della domanda di riconoscimento come Laboratorio di Riferimento per la paratubercolosi, con il Dott. Matteo Ricchi quale esperto designato. La formalizzazione del riconoscimento del laboratorio si è conclusa in data 3.6.2022 con lettera prot. GT/SL/GP 35.574.

### Attività Diagnostica

#### **1) Standardizzazione e validazione di metodiche analitiche**

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

Nella tabella seguente sono riportati i metodi di prova, con relativi Protocolli di Studio e validazione e Report di validazione, inviati nel periodo considerato ad altri IIZZSS, a seguito di richieste specifiche.

MP	REV	Titolo	IZS richiedente	RINTRACCIABILITÀ SAQ-DOC
MP 04/022	8	METODO DI PROVA INTERNO PER LA DETERMINAZIONE DI ANTICORPI NEI CONFRONTI DI MYCOBACTERIUM AVIUM SUBSP. PARATUBERCULOSIS DA SANGUE E LATTE TRAMITE ELISA INDIRETTA – KIT ID VET	IZSUM	112E/2022
PSV 04/022	2	PROTOCOLLO DI STUDIO E VALIDAZIONE METODO DI PROVA INTERNO PER LA DETERMINAZIONE DI ANTICORPI NEI CONFRONTI DI MYCOBACTERIUM AVIUM SUBSP. PARATUBERCULOSIS DA SANGUE E LATTE TRAMITE ELISA INDIRETTA – KIT ID VET	IZSUM	112E/2022
RV 04/022	2	REPORT DI VALIDAZIONE METODO DI PROVA INTERNO PER LA DETERMINAZIONE DI ANTICORPI NEI CONFRONTI DI MYCOBACTERIUM AVIUM SUBSP. PARATUBERCULOSIS DA SANGUE E LATTE TRAMITE ELISA INDIRETTA – KIT ID VET	IZSUM	112E/2022
MP 01/207 A	3	DOCUMENTO CORRELATO AL METODO DI PROVA NORMATO PER LA RICERCA DI Mycobacterium avium subsp.	IZSLT	116E/2023

		paratuberculosis DA FECCI - ESAME COLTURALE DOPO CENTRIFUGAZIONE -		
MP 09/078	6	METODO DI PROVA INTERNO PER LA RICERCA DI MYCOBACTERIUM AVIUM SUBSP. PARATUBERCULOSIS TRAMITE REAL TIME PCR IN CAMPIONI BIOLOGICI, LATTE E FECCI	IZSLT	116E/2023
MP 09/199	2	METODO DI PROVA INTERNO PER L'IDENTIFICAZIONE DI Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis DA ISOLATI BATTERICI MEDIANTE F57-PCR REAL TIME	IZSLT	116E/2023

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

## 2) Produzione e distribuzione di reagenti

All'interno della Biobanca centralizzata IZSLER sono stoccati:

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

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

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

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

## 3) Attività analitica

La paratuberculosis non è una malattia per la quale è prevista la conferma da parte del C.R.N. Nel periodo considerato sono stati eseguiti complessivamente 45.622 esami, di cui:

	Non ufficiali	Ufficiali	Totale
Coltura	13	20	33
Sierologia	28.010	15.906	43.916
PCR	1205	468	1673
<b>Totale</b>	<b>29.228</b>	<b>16.394</b>	<b>45.622</b>

L'intera attività analitica, nel periodo di riferimento, è in aumento (16 % rispetto al medesimo periodo di riferimento dell'anno precedente 2020-2021), sia su campioni ufficiali che su campioni conferiti da privati.

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

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

E' stato organizzato dal C.R.N. un circuito inter-laboratorio per la diagnosi diretta di paratubercolosi mediante PCR e coltura su feci bovine; il pannello era costituito da 5 campioni di feci bovine (2 negativi e 3 positivi) in doppio cieco, per un totale di 10 campioni, da analizzare con le metodiche PCR e/o colturali utilizzate routinariamente per la diagnosi di paratubercolosi.

Al circuito hanno aderito 21 laboratori appartenenti ai 10 II.ZZ.SS presenti sul territorio nazionale. I campioni sono stati inviati il giorno 27 febbraio 2023, con scadenza prevista per la restituzione dei risultati fissata al giorno 2 luglio 2023.

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

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

- tabella per la decodifica dei risultati entro 7 giorni dalla scadenza del ring test, al fine di provvedere prontamente alla correzione di eventuali non conformità;
- report completo entro 30 giorni dalla scadenza.

In generale i risultati del ring test sono risultati soddisfacenti.

L'accuratezza è infatti risultata:

- molto soddisfacente per il test PCR (0,979), con ottimi risultati anche per i valori di accordanza e concordanza (0,955 e 0,956).
- soddisfacente per il test colturale (0,927), con buoni risultati anche per i valori di accordanza e concordanza (0,880 e 0,853).

I risultati complessivi di accuratezza della presente prova valutativa sono in linea, seppure in lieve diminuzione, con quelli ottenuti nelle cinque precedenti prove.

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

Il C.R.N. ha partecipato a:

- 1 prova inter-laboratorio (aprile 2023), organizzata a livello europeo, per esame sierologico su siero di sangue (8 campioni) e latte individuale bovino (8 campioni) mediante ELISA (Ente organizzatore: GD Animal Health – Deventer, NE). I risultati sono stati corretti nel 100% dei casi.

- 1 prova inter-laboratorio (febbraio 2023), organizzata a livello europeo, per coltura e PCR su feci (Ente organizzatore: QA Veterinary Laboratory Agency – UK, distribuzione 15294BA del PT0127). I risultati sono risultati conformi agli attesi nel 100% dei casi.

## **Epidemiologia**

### **1) Creazione banca dati**

Il C.R.N. ha scelto di non attivare proprie Banche Dati, e di utilizzare il Sistema informativo Veterinario Nazionale (Vetinfo) per la raccolta dei dati relativi al patrimonio delle specie suscettibili, alle qualifiche sanitarie e ai focolai di malattia segnalati dalle ASL. A tale proposito si segnala come apparentemente non vi sia congruenza, nel periodo di interesse, tra il numero di aziende con qualifica “Allevamento con casi clinici (PTC)” (n = 27) ed il numero di focolai di malattia registrati in SIMAN (n= 9).

### **2) Sviluppo e gestione di sistemi informativi**

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

- casi clinici, ai fini della certificazione per l’esportazione nei Paesi terzi che richiedono l’assenza di casi clinici;
- qualifica sanitaria assegnata all’allevamento nella Anagrafe Bovina, Ovina e Caprina in Banca Dati Nazionale (BDN).

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

#### **3.a.**

A distanza di oltre 8 anni dalla emanazione delle Linee guida nazionali per l’adozione di Piani di controllo e per l’assegnazione della qualifica sanitaria degli allevamenti nei confronti della paratubercolosi bovina, il C.R.N. ha ritenuto opportuno proporre al Ministero della Salute (ultimo invio protocollato, prot. 15580 del 12.7.2022) alcune modifiche ed integrazioni, che tengono conto, oltre alle criticità emerse, della introduzione della paratubercolosi nell’elenco delle malattie inserite in categoria e) ai sensi del Regolamento (UE) 2016/429 e relativo Regolamento di esecuzione 2018/1882 e pertanto soggette a sorveglianza.

Le modifiche alla versione originale delle Linee Guida sono state discusse e approvate da tutte le Regioni italiane, sono state restituite al Ministero della Salute per l’approvazione finale.

L’Accordo, ai sensi dell’articolo 4, comma 1, del decreto legislativo 28 agosto 1997, n. 281, tra il Governo, le regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano concernente: «*Linee guida per l’adozione dei Piani di controllo e per l’assegnazione della qualifica sanitaria agli allevamenti di specie sensibili (bovini, bufalini, ovini, caprini) nei confronti della paratubercolosi*»,

sancito dalla Conferenza Stato Regioni il 30 novembre 2022, è stato pubblicato sulla Gazzetta Ufficiale Serie Generale n.10 del 13.01.2023.

Le principali modifiche, rispetto alle precedenti Linee guida, vengono di seguito illustrate:

- il campo di applicazione del piano è stato esteso a tutte le principali specie ruminanti domestiche (bovini, bufalini, caprini, ovini);
- è stata eliminata la possibilità di utilizzare campioni di latte per l'attribuzione della qualifica sanitaria, data la minore robustezza del singolo test sul latte rispetto al test sul sangue. Il test sierologico sul latte è infatti influenzato dalla fase di lattazione, dimostrandosi meno sensibile e robusto rispetto ai dati ottenuti dalle analisi del sangue. Tuttavia, è confermata la possibilità di utilizzare il latte per l'applicazione di piani di controllo interni da parte dell'allevatore;
- è stata introdotta la raccomandazione di non eseguire i prelievi per le analisi sierologiche nei tre mesi successivi all'esecuzione della prova intradermica per la profilassi della tubercolosi, che potrebbe essere causa di reazioni falsamente positive;
- vista l'evidenza di una sotto-segnalazione dei casi clinici:
  - è stata rafforzata la raccomandazione agli operatori di comunicare al veterinario aziendale eventuali modifiche dei parametri di produzione dei propri animali e la presenza di diarree croniche e/o perdite ponderali significative;
  - è stata raccomandata la definizione da parte delle Regioni di una frequenza minima di visite periodiche di sanità animale da parte dei veterinari aziendali, tenendo conto del livello di rischio e delle altre attività pianificate negli stabilimenti;
  - è stata rafforzata la sorveglianza da parte dei veterinari incaricati attraverso visite periodiche di sanità animale negli stabilimenti da riproduzione di bovini, bufalini, ovini e caprini, di cui all'art. 25 del Reg. UE 2016/429, nonché eventuali accertamenti diagnostici in caso di sintomi compatibili con la paratubercolosi.
- relativamente ai criteri e modalità di attribuzione delle qualifiche sanitarie:
  - per l'attribuzione della qualifica si è ritenuto di sostituire il prelievo campionario (S1) con il prelievo di tutti i capi di età superiore a 36 mesi (S2). L'approccio secondo il protocollo S1 era stato introdotto inizialmente per limitare gli oneri a carico degli aderenti, ma si ritiene che, in questa fase, l'applicazione del protocollo S2, già peraltro applicato volontariamente dalla maggior parte degli allevamenti, essendo più sensibile, eviti la comparsa di positività inattese in fasi successive, che potrebbero demotivare l'allevatore, causando la perdita della qualifica e l'uscita dal piano;
  - per il mantenimento della qualifica è stato mantenuto il protocollo S1, ad eccezione degli allevamenti con qualifica PT1 per i quali è necessario applicare il protocollo S2 per una gestione più efficace degli animali infetti;
  - per tutte le qualifiche (invece che per i soli livelli PT3-PT5 come previsto da versione originale delle Linee guida) è stata prevista la possibilità per l'allevatore di richiedere una conferma diagnostica dei capi sieropositivi mediante PCR dalle feci, purché la sieroprevalenza risulti inferiore al 3%. Questo ha lo scopo di chiarire e approfondire i casi di sospette false positività dei test sierologici (comparsa di sieropositività in allevamenti ripetutamente negativi o a bassa prevalenza). La comparsa di positività

in allevamenti precedentemente ripetutamente negativi ha infatti costituito una causa di abbandono del piano da parte di alcuni allevamenti. La conferma mediante PCR di almeno un campione comporta la conferma della presenza di infezione in allevamento; in questo caso tutti i capi sieropositivi sono considerati infetti anche se negativi alla PCR. La possibilità di conferma mediante PCR è prevista solo in caso di applicazione del protocollo S2, sia per acquisizione che per mantenimento qualifica;

- è stata inserita la possibilità di vaccinazione nella specie caprina, pur con le dovute limitazioni (allevamenti caprini non in compresenza di bovini, alta prevalenza di infezione e/o ad alta incidenza annua di casi clinici), previa approvazione da parte dei Servizi Veterinari territorialmente competenti. Lo stato vaccinale del singolo capo deve essere riportato all'interno della Banca Dati Nazionale.

Le linee guida contengono due allegati portanti:

- i requisiti minimi per la stesura di un piano aziendale di controllo nei confronti della paratubercolosi negli stabilimenti infetti;
- i requisiti per l'ottenimento delle qualifiche sanitarie nei confronti della paratubercolosi.

Al momento attuale le nuove Linee guida sono state adottate da:

- Provincia autonoma di Bolzano (Bollettino Ufficiale della Regione Autonoma Trentino Alto Adige 23 febbraio 2023). Nel documento citato viene specificato che il piano di controllo nei confronti della paratubercolosi per la provincia di Bolzano si compone delle disposizioni di cui alle Linee guida e delle disposizioni di cui al decreto. Le Linee Guida vengono quindi integrate come segue:
  - Sono esclusi dall'applicazione del piano gli stabilimenti in cui vengono detenuti animali di specie sensibili alla paratubercolosi (bovini, bufalini, ovini e caprini) solo ed esclusivamente per la produzione di carne, senza che venga svolta alcuna attività di riproduzione.
  - Negli stabilimenti da riproduzione che detengono bovini, bufalini, ovini e caprini, le visite di sanità animale in regime di autocontrollo da parte del veterinario/a aziendale o da altro veterinario/a incaricato/a dall'operatore devono essere svolte con cadenza almeno annuale.
  - La macellazione di animali accertati come casi confermati o, se ritenuta necessaria, di quelli sospetti, viene disposta dal Servizio veterinario provinciale e deve essere eseguita entro 10 giorni dalla comunicazione. Per la macellazione, il proprietario o la proprietaria può richiedere l'indennizzo fissato dalla Giunta provinciale.
- Provincia autonoma di Trento (Reg. delib. n. 516, 24.03.2023). Le Linee guida sono state integrate come da Allegato A alla delibera, indicante in particolare disposizioni relative alla conduzione degli animali in alpeggio.

- Regione Emilia-Romagna, con deliberazione della Giunta Regionale 20 aprile 2023, N.592, pubblicata su BUR 10.05.2023.
- Regione Veneto, con deliberazione della Giunta Regionale N. 593 del 19 maggio 2023, pubblicata su BUR del 16 giugno 2023.
- Regione Piemonte con deliberazione della Giunta Regionale N. 5 -6591 del 13/03/2023.

Relativamente alla situazione delle qualifiche previste dalle Linee Guida, si riportano di seguito i dati relativi alle qualifiche degli **allevamenti bovini** presenti in BDN al 30.09.2023 per le singole Regioni (numero di allevamenti e relativa qualifica).

Complessivamente i dati mostrano un leggero aumento degli allevamenti con qualifica nel corso degli anni: la percentuale di allevamenti con qualifica era risultata essere 33,6% negli anni 19-20; 34,7% negli anni 20-21; 35,2% negli anni 21-22, mentre nell'anno in corso è risultata 37,2%.

Regione	ALLEVAMENTO CON CASI CLINICI	ALLEVAMENTO SENZA CASI CLINICI	ALLEVAMENTO A BASSO RISCHIO	ALLEVAMENTO NEGATIVO	ALLEVAMENTO CERTIFICATO			SENZA QUALIFICA	Totale complessivo	% CON QUALIFICA
	PTC	PT0	PT1	PT2	PT3	PT4	PT5			
ABRUZZO								4.092	4.092	0,0%
BASILICATA		26		4				2.578	2.608	1,2%
CALABRIA		3	14	13	4	2		8.190	8.226	0,4%
CAMPANIA		618		1				8.835	9.454	6,5%
EMILIA ROMAGNA	10	5.090	32	24	18	7	23	700	5.904	88,1%
FRIULI VENEZIA GIULIA				2				1.669	1.671	0,1%
LAZIO		2	13	18	1	2		10.617	10.653	0,3%
LIGURIA	1	508	4	13			1	442	969	54,4%
LOMBARDIA		4.096	967	586	143	105	223	8.610	14.730	41,5%
MARCHE	2	512	13	19	10	4	3	2.125	2.688	20,9%
MOLISE	1	263						1.765	2.029	13,0%
PIEMONTE	2	8.277	245	293	127	108	412	1.917	11.381	83,2%
PUGLIA	2	216						3.657	3.875	5,6%
SARDEGNA	5	8.203	37	2				993	9.240	89,3%
SICILIA	1	3.018		271				7.123	10.413	31,6%
TOSCANA		755	3	7				2.570	3.335	22,9%
TRENTINO - ALTO ADIGE	2	7.833						20	7.855	99,7%
TRENTINO - ALTO ADIGE (TN)		127	116	990	58	76	38	212	1.617	86,9%
UMBRIA	1			2				3.012	3.015	0,1%
VALLE D'AOSTA		1		1.426				359	1.786	79,9%
VENETO		908		432				10.370	11.710	11,4%
<b>Totale complessivo</b>	<b>27</b>	<b>40.456</b>	<b>1.444</b>	<b>4.103</b>	<b>361</b>	<b>304</b>	<b>700</b>	<b>79.856</b>	<b>127.251</b>	<b>37,2%</b>

Di seguito si riportano i dati relativi alle qualifiche degli **allevamenti bufalini** presenti in BDN al 30.09.2023 per le singole Regioni (numero di allevamenti e relativa qualifica).

Complessivamente i dati sono in lieve aumento rispetto agli anni precedenti dove la percentuale di allevamenti con qualifica era risultata essere: 6,9% nell'anno 2020-2021 e 7,05% nell'anno 2021-2022; nell'anno in corso è risultata il 7,6 %.



Regione	ALLEVAMENTO CON CASI CLINICI	ALLEVAMENTO SENZA CASI CLINICI	ALLEVAMENTO A BASSO RISCHIO	ALLEVAMENTO NEGATIVO	ALLEVAMENTO CERTIFICATO			SENZA QUALIFICA	Totale complessivo	% CON QUALIFICA
	PTC	PT0	PT1	PT2	PT3	PT4	PT5			
ABRUZZO			0					20	20	0,0%
BASILICATA		2	0					27	29	6,9%
CALABRIA			0				1	15	16	6,3%
CAMPANIA		92	0	1				1.125	1.218	7,6%
EMILIA ROMAGNA		9	0					6	15	60,0%
FRIULI VENEZIA GIULIA			0					10	10	0,0%
LAZIO			2					701	703	0,3%
LIGURIA								2	2	0,0%
LOMBARDIA		18	7	1				59	85	30,6%
MARCHE		13						47	60	21,7%
MOLISE		2						9	11	18,2%
PIEMONTE		19		1	1			13	34	61,8%
PUGLIA		1						65	66	1,5%
SARDEGNA		3							3	100,0%
SICILIA		4						10	14	28,6%
TOSCANA		2						15	17	11,8%
TRENTINO - ALTO ADIGE (BZ)		3							3	100,0%
TRENTINO - ALTO ADIGE (TN)				1					1	100,0%
UMBRIA				1				31	32	3,1%
VENETO		3						105	108	2,8%
<b>Totale complessivo</b>	<b>0</b>	<b>171</b>	<b>9</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2260</b>	<b>2447</b>	<b>7,6%</b>

Di seguito viene riportato lo stato di applicazione delle Linee Guida in Regione Lombardia, dove viene prodotto il 40% della produzione nazionale di latte.

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

La Regione Lombardia non ha ancora recepito le nuove Linee Guida del gennaio 2023.

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

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

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

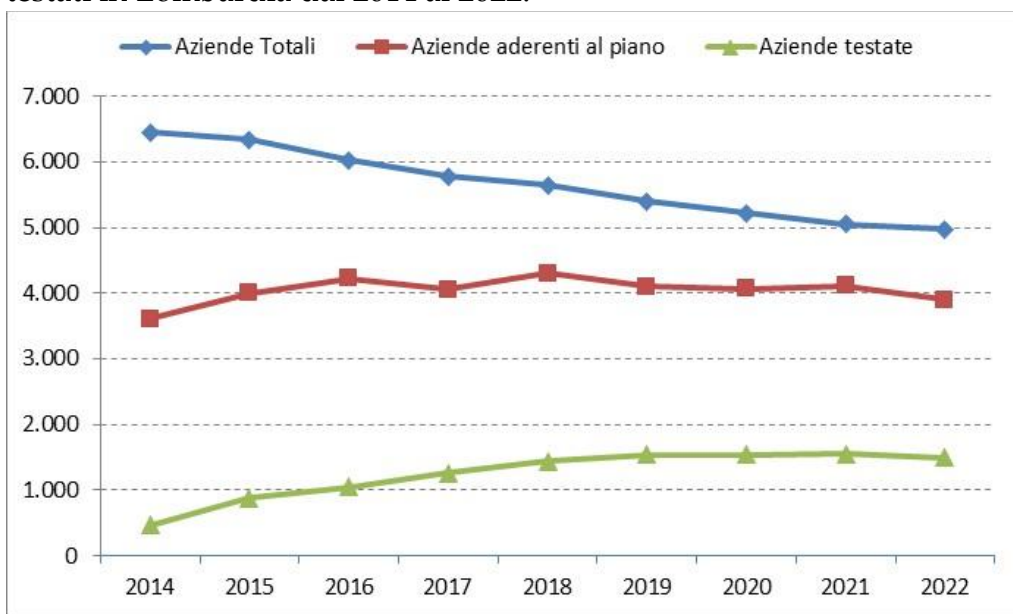
La richiesta di una qualifica sanitaria volontaria (PT1, PT2, PT3, PT4 e PT5) avviene in seguito ad un'ulteriore istanza (richiesta di qualifica).

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

Di seguito vengono riportati i dati aggiornati della situazione sanitaria di Regione Lombardia relativamente alla paratubercolosi, dopo 9 anni di applicazione delle linee guida (2014-2022).

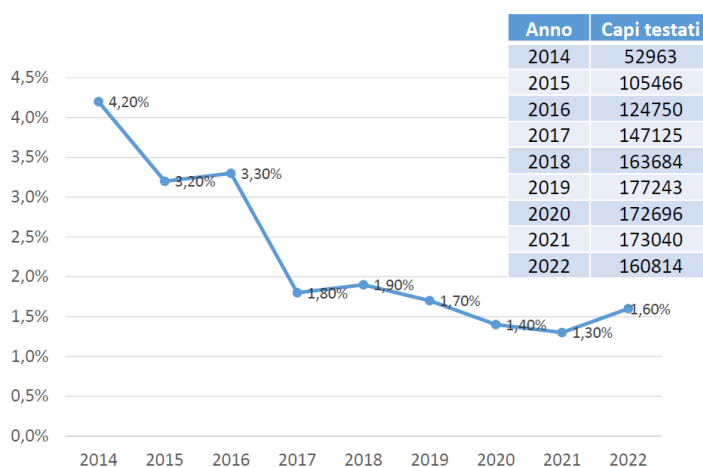
Il numero di aziende testate è aumentato nel corso degli anni (figura 1), con aumento dei capi testati (figura 2).

Figura 1: Numero di allevamenti totali, allevamenti che aderiscono al piano e allevamenti testati in Lombardia dal 2014 al 2022.



Si osserva una riduzione degli animali positivi pur con un lieve aumento tra l'anno 2021 ed il 2022: dal 4,2% nel 2014 al 1,3% delle vacche testate nel 2021, al 1,6% nel 2022 (Figura 2).

Figura 2: Percentuale di capi testati positivi in Lombardia dal 2014 al 2022



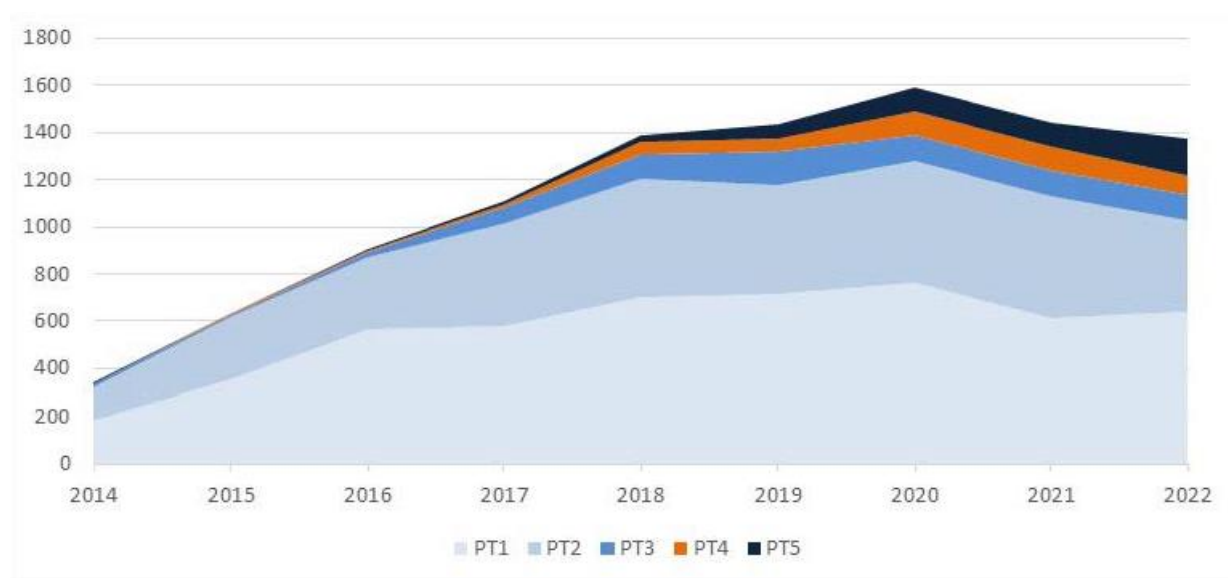
Per quanto riguarda le qualifiche sanitarie, abbiamo registrato un aumento generale del numero totale di allevamenti con qualifica da PT1 a PT5 fino al 2020, mentre nel 2021-2022 è stata osservata una leggera diminuzione del numero di allevamenti con qualifica sanitaria da PT1 a PT4. Al contrario, il numero di allevamenti PT5 ha mostrato un aumento costante (Tabella 3, figura 3).

Le possibili motivazioni dell'andamento negativo degli indicatori negli anni 2021-2022 comprendono: la mancanza di compensazioni economiche, sia per gli animali abbattuti che per i test ELISA, i cui costi sono sostenuti esclusivamente dagli allevatori, e il rallentamento delle attività di assistenza durante il periodo pandemico.

Tabella 3: Numero di allevamenti con qualifica sanitaria nel periodo 2014-2022.

Anno	Qualifica sanitaria				
	PT1	PT2	PT3	PT4	PT5
2014	187	137	10	2	4
2015	354	268	6	4	4
2016	567	303	22	5	7
2017	578	434	67	19	11
2018	700	507	102	49	31
2019	712	467	142	51	64
2020	670	518	108	106	99
2021	611	518	108	106	99
2022	638	390	106	86	156

Figura 3: Numero di allevamenti che hanno ottenuto una qualifica sanitaria nel periodo 2014-2022.



In generale, i risultati del piano di controllo e certificazione della Paratubercolosi in Lombardia confermano la possibilità di migliorare lo stato sanitario degli allevamenti; tuttavia, a causa della natura cronica dell'infezione, per ottenere risultati duraturi è necessario l'impegno degli allevatori nel lungo periodo. Il mantenimento nel tempo della

motivazione degli allevatori è particolarmente difficile da ottenere, in particolare quando si raggiungono situazioni di bassa prevalenza, nelle fasi avanzate del programma di controllo. La collaborazione tra i Servizi Veterinari Ufficiali, i laboratori, gli operatori e gli allevatori, attraverso la creazione specifica di gruppi di supporto, è strategica per sostenere l'adesione e la partecipazione al programma, così come la comunicazione, l'educazione e le iniziative di sensibilizzazione delle parti interessate, attività in cui è costantemente impegnato il C.R.N.

### 3.g Manuali per il Controllo della Paratuberculosis

Sono a disposizione sul sito del C.R.N. tre *Manuali per il Controllo per la Paratuberculosis*:

1. per allevamenti di vacche e bufale da latte.

[https://gestione.izsler.it/izs\\_bs/allegati/5704/Allegato%201%20A\\_MANUALE%20bovine\\_bufale%20latte\\_Rev\\_2.pdf](https://gestione.izsler.it/izs_bs/allegati/5704/Allegato%201%20A_MANUALE%20bovine_bufale%20latte_Rev_2.pdf)

2. per allevamenti di vacche da carne.

[https://gestione.izsler.it/izs\\_bs/allegati/5704/Allegato%201\\_B\\_MANUALE\\_bovini\\_carne\\_Rev\\_2.pdf](https://gestione.izsler.it/izs_bs/allegati/5704/Allegato%201_B_MANUALE_bovini_carne_Rev_2.pdf)

3. per allevamenti di pecore e capre da latte.

[https://gestione.izsler.it/izs\\_bs/allegati/5704/Allegato%201%20C\\_MANUALE%20capre%20e%20pecore\\_latte%20Rev\\_0.pdf](https://gestione.izsler.it/izs_bs/allegati/5704/Allegato%201%20C_MANUALE%20capre%20e%20pecore_latte%20Rev_0.pdf)

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

### 4) Aggiornamenti epidemiologici sulle materie di competenza

Il nuovo Regolamento (UE) 2016/429 (“Animal Health Law”), il relativo Regolamento di Esecuzione (UE) 2018/1882, e il Decr. Lgs. 2022/136 inquadrano la Paratuberculosis tra le malattie di categoria E, per le quali è necessario da parte degli Stati Membri attivare un sistema di sorveglianza. Le nuove Linee guida sono state adeguate in tal senso.

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

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

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

Regione	Anno	Prevalenza apparente aziende	Prevalenza apparente animali	Metodologia	Riferimento bibliografico
Veneto	2002	64,6%	3,5%	ELISA individuale siero	Pozzato et al, 2011
Lazio	2002	42,0%	2,5%		Lillini et al, 2005
Umbria e Marche	2008	52,8%	4,6%		Papa et al, 2011
Piemonte	2007-2008	9,5%	N.D.	ELISA latte massa	Gennero (comunicazione personale)
Emilia-Romagna	2011-2012	14,5%	N.D.		PRC2005/003

Lombardia	2003-2005 2014 2020	43,7% 74,2% 51,0%	2,6% 4,2% 1,4%	ELISA individuale siero	Pozzato et al 2001 Arrigoni et al, 2014 Arrigoni et al, 2021
Provincia Trento	2019	18,7%	2,0%	ELISA individuale siero	Dellamaria (comunicazione personale)

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

Regione	Anno	Prevalenza apparente aziende	Prevalenza apparente animali	Test	Riferimento bibliografico
Marche	2011	73,7% ovini	6,29%	ELISA individuale siero	Attili (2011)
Sicilia	2015	64,2% ovini 56,9% caprino	3,6%	ELISA individuale siero	Fiasconaro (comunicazione personale)
Piemonte	2017	40,0% caprini	3,0%		Gennero (comunicazione personale)
Puglia	2019	Capra 82,2% Pecora 44,8% Capra-Pecora 73,9% Pecora – capra 61,2%	Capra 15,7% Pecora 2,8% Capra-Pecora 9,9% Pecora – capra 3,7%		Iarussi (2019)
Provincia Trento	2019	Caprini 19,7%	Caprini 4,0%		Dellamaria (comunicazione personale)
Piemonte, Trentino Alto Adige, Emilia Romagna, Lombardia	2019	58% capra	7,4% (0,4%-17,4%)		ELISA individuale siero

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

Relativamente al **patrimonio bufalino**, si riportano di seguito i dati che sono stati raccolti nell'ambito di un Progetto di Ricerca Corrente:

Regione	Anno	Prevalenza apparente aziende	Prevalenza apparente animali	Metodologia	Riferimento bibliografico
Campania	2016-2018	54,7%	1,8%	ELISA individuale	Martucciello (2021)

#### 4.b Dati sui focolai

Le Linee Guida nazionali hanno definito che i casi clinici di Paratubercolosi bovina debbano essere registrati in SIMAN. I dati relativi ai casi clinici registrati in SIMAN sono i seguenti:

Allevamenti con qualifica PTC assegnata nell'anno (Fonte: SIMAN: Dati aggiornati al 30/09/2023)

Regione	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	Totale
Campania										1	1
Emilia Romagna	1	1	1			2	1				6
Lazio										2	2
Lombardia									1		1
Liguria						1				2	3
Marche				2							2
Piemonte	7	7	2				3	1			20
Puglia										2	2
Sardegna	2	2	2	2			1		1	1	11
Toscana	1										1
Trento	6	4	2								12
Umbria										1	1
<b>Italia</b>	<b>17</b>	<b>14</b>	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>9</b>	<b>62</b>

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

Gli allevamenti con qualifica PTC nel periodo considerato sono 27, a fronte di 9 focolai registrato in SIMAN. Tutte le segnalazioni riguardano allevamenti bovini, mentre non si sono registrate segnalazioni per l'allevamento bufalino, ovino e caprino.

#### Ricerca e sperimentazione

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

##### *Ricerca Corrente come Capofila*

Progetto di ricerca corrente IZS LE 2020/009: "Automazione delle metodiche per la rilevazione degli acidi nucleici di *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* (MAP) in campioni diagnostici". (Responsabile scientifico M. Ricchi).

Il progetto ha avuto inizio il 31.12.2020 ed era previsto il termine il 30.12.2022 (Prorogato al 30.12.2023).

Tale progetto ha visto nel primo anno la messa a punto di un protocollo di estrazione di DNA da feci da sottoporre a metodica qPCR per la rilevazione di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP). Nell'ambito del progetto è stata messa a punto una formulazione idonea del buffer di lisi e dei buffer di lavaggio, impiegando, come reattivo chiave, il tiocianato di guanidina, composto in grado di rimuovere molte delle sostanze inibitrici la reazione di PCR. L'utilizzo di tale reattivo ha infatti permesso di eliminare molti dei composti inibitori la reazione di PCR (es acido umico, sali biliari etc etc), normalmente presenti nelle feci. Tali reattivi sono stati utilizzati per la creazione di un kit di estrazione su piattaforma Nimbus 400 (Hamilton). Repliche del DNA così estratto sono state saggiate mediante la qPCR già validata per la ricerca di MAP dalle feci. La sensibilità analitica e la ripetibilità sono risultate sovrapponibili a quelle del metodo validato non automatizzato in uso. I buffer di lisi sono ora a disposizione e possono essere montati su piattaforma Nimbus 400 in modo da consentire la fase di estrazione del DNA in maniera automatica e senza l'ausilio dell'operatore, se non per caricare i reattivi e svolgere la parte preanalitica del metodo.

Inoltre, in questo progetto sono stati inclusi lo sviluppo e la validazione della metodica digital PCR per la rilevazione di MAP dalle feci, che è stata sviluppata e validata in accordo con la ISO 20395:2019, documento dedicato a questo tipo di metodiche. Tale metodica è stata altresì inserita nel sistema qualità IZSLER e l'analisi è stata messa a disposizione dei richiedenti. La metodica e la sua validazione sono state altresì pubblicate su rivista scientifica con impact factor (vedi parte relativa alle pubblicazioni). Nell'alveo di questo progetto è stata inoltre terminata la validazione e pubblicazione su rivista scientifica con impact factor della metodica di rilevazione del DNA di MAP a partire da feci bovine, validata in accordo con la procedura descritta nel capitolo 1.1.6 "Principles and methods of validation of diagnostic assays for infectious diseases" del manuale WOAHA dedicato agli animali terrestri (Edizione 2021).

### ***Ricerca Corrente come Unità Operativa***

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

- Progetto di ricerca corrente IZS 2019/101 (UM): "Studio dei pathways immunopatogenetici del bovino in corso di infezione da *Mycobacterium avium* subsp.*paratuberculosis* per comprendere i meccanismi di resistenza alla Paratubercolosi bovina". (Responsabile scientifico P. Mazzone) Il progetto è iniziato il 16.12.2019 ed è terminato il 16.05.2023.
- Progetto di ricerca corrente IZS LE PRC 2021/110 (UM): "Valutazione dei livelli di espressione dei microRNA e il loro impiego come biomarkers nella Paratubercolosi bovina (MycomiRNA)" (Responsabile scientifico P. Mazzone). Il progetto è iniziato 16.12.2021 e terminerà il 16.12.2023.
- Progetto di Ricerca corrente IZS ME PRC 2022/108 (IZSM)"Valutazione di differenti biomarkers d'infezione da micobatteri nella bufala mediterranea (*Bubalus bubalis*) e

nel bovino (*Bos taurus*)” (Responsabile scientifico A. Martucciello). Il progetto è iniziato il 30.12.2022 e terminerà 30.12.2024.

### **Ricerca Finalizzata**

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

Nulla da segnalare.

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

- Ricerca autofinanziata, Codice del Progetto COMM\_MYCO\_PARA. “Quantificazione assoluta delle cellule di *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* in campioni fecali bovini mediante lo sviluppo di un saggio digital PCR” (Responsabile scientifico C. Garbarino; data avvio 01.03.2023; data di scadenza 01.03.2025).

Il Progetto si propone, tramite la quantificazione di MAP eliminato attraverso le feci dagli animali infetti, di definire le priorità degli interventi in allevamento (rimozione dei super-shedders), gestendo gli animali in relazione al loro potenziale di biocontaminazione ambientale ed evitando la riforma di possibili passive-shedders. A tale scopo viene proposto l’utilizzo della metodica digital PCR (dPCR), che consente in tempi rapidi la quantificazione diretta del numero di cellule batteriche presenti nelle feci, fornendo informazioni utili all’applicazione di piani di gestione sanitaria efficaci e sostenibili negli allevamenti bovini da latte, e riducendo nel contempo la contaminazione della catena alimentare. Dopo la validazione della metodica, si è dato avvio alle attività di campo e di laboratorio, e sulla base dei risultati sono state fornite indicazioni gestionali. E’ in previsione per metà novembre il secondo campionamento per una prima verifica dell’efficacia delle indicazioni fornite.

- Accordo di collaborazione scientifica (data avvio 05.08.2022; data scadenza 04.08.2027) con Università degli Studi della Tuscia, Dipartimento per l’innovazione dei Sistemi Biologici, agroalimentari e forestali, Viterbo, per una ricerca sull’epidemiologia e sull’evoluzione dei ceppi di *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* e Micobatteri appartenenti al gruppo MAC, isolati da diverse fonti e specie animali, attraverso analisi di dati ottenuti mediante sequenziamento di nuova generazione.
- Accordo di collaborazione scientifica (data avvio 26.04.2023; data scadenza 25.04.2028) con Consiglio Regionale per la ricerca in agricoltura e l’analisi dell’economia agricola (CREA), per una ricerca sull’epidemiologia e sull’evoluzione dei ceppi di *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* isolati da diverse fonti e specie animali, attraverso analisi di dati ottenuti mediante sequenziamento di nuova generazione.
- Accordo di collaborazione scientifica (data avvio 28.08.2023; data scadenza 28.08.2025) con Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Medicina



Veterinaria e Scienze Animali, per effettuare le attività di monitoraggio dello stato sanitario nei confronti della Paratubercolosi della popolazione di cervi a vita libera nel Parco Nazionale dello Stelvio e in aree limitrofe.

- Material Transfer Agreement con “National Service of Animal Health and Agrifood Quality, Buenos Aires, Argentina” (data avvio 19.06.2023; data scadenza 18.06.2028). L’obiettivo del MTA è scambiare materiale di riferimento per la diagnostica della paratubercolosi.
- Material Transfer Agreement con “Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l’Alimentation, de l’Environnement et du Travail - Laboratoire de Ploufragan-Plouzanet-Niorte Francia” (data avvio 12.06.2023; data scadenza 11.06.2028). L’obiettivo del MTA è scambiare materiale di riferimento per la diagnostica della paratubercolosi.

### **Aggiornamento e formazione professionale**

#### **• Corsi che il C.R.N. ha organizzato o a cui ha partecipato**

Nulla da segnalare.

#### **• Convegni/congressi che il C.R.N. ha organizzato o a cui ha partecipato**

- Il C.R.N. ha organizzato il “IX “Congresso nazionale sulla paratubercolosi”, in collaborazione con il Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Animali, Università degli Studi di Milano, in data 27.01.2023. (Evento ECM in presenza. Responsabile scientifico: N.Arrigoni)

Programma:

- 8:30: Saluti e introduzione al Convegno (Ministero, CRN, Unimi)
  - 9:00: Piani per la paratubercolosi nel mondo, punti di forza e criticità (D.Kelton/University of Guelph, Canada)
  - 10:00: Linee guida Nazionali: novità alla luce di AHL e decreti attuativi (CA Garbarino, CRN Paratubercolosi).
  - 10:40: Paratubercolosi in Lombardia: facciamo il punto (M.Boldini, IZSLER)
  - 11:10: Paratubercolosi, benessere e biosicurezza nella capra da latte: indagine in allevamenti del Nord Italia (A. Gaffuri, IZSLER)
  - 11:40: Paratubercolosi nella fauna selvatica: l’esperienza nel Parco dello Stelvio (C.Luzzago, UNIMI)
  - 12:10: MAP e Sicurezza Alimentare: focus (M.Ricchi, CRN Paratubercolosi)
  - 12:40: Ruolo del veterinario aziendale nella gestione della paratbc (D.Kelton/University of Guelph, Canada)
  - 13:10: Discussione, compilazione dei questionari e chiusura dei lavori
- Il C.R.N. ha partecipato a:
    - 30° Conferenza della Commissione Regionale WOAHA per l’Europa, Catania, dal 3 al 7.10.2022 (G.Merialdi), con la presentazione di un poster dal titolo: “Paratuberculosis: building infrastructures for an effective control and risk assessment in Italy”. (Autori: Ricchi M, Garbarino C, Massella E, Arrigoni N)

- XXIV Congresso Nazionale SIPAOC (Società Italiana patologia ed allevamento ovino e caprino) (C.Garbarino), tenutosi a Viterbo il 22-23 febbraio 2023, con una relazione dal titolo: “Linee guida per la paratubercolosi e Piano di gestione sanitaria negli ovi-caprini” (C.Garbarino, A.Gaffuri, F.Barsi, E.Massella, M.Ricchi, N. Arrigoni).
- 40èmes Rencontres de Groupe d’Etudes sur l’Eco-pathologie de la Faune Sauvage de Montagne, (A.Filippi, C.Garbarino), tenutosi a Saluzzo, 21-24 settembre 2023. Filippi ha esposto la comunicazione orale dal titolo: “Sorveglianza attiva nei confronti della paratubercolosi nel cervo (*Cervus elaphus*) nel Parco Nazionale dello Stelvio”. (Filippi A., Garbarino C., Nava M., Russo S., Filipe J., Bianchi A., Corlatti L., Gugliatti A., Buccheri Pederzoli C., Pigoli C., Pedrotti L., Arrigoni N., Ricchi M., Bertoletti I., Luzzago C.)

### **3. Comitati scientifici e gruppi di lavoro a cui ha partecipato il personale del C.R.N.**

- Il C.R.N. ha partecipato ai seguenti gruppi di lavoro:
  - Gruppo di lavoro con Ministero della Salute, Regioni e IZZSS per il coordinamento del piano di intervento nazionale nei confronti della Paratubercolosi (N.Arrigoni, C.Garbarino);
  - Board of Directors, International Association of Paratuberculosis (Rappresentante italiano: Dr. M.Ricchi).
- Il C.R.N. ha organizzato in data 15.12.2022 una riunione dei referenti degli Istituti Zooprofilattici, con il seguente programma:
  - 8.30: Introduzione lavori (N. Arrigoni)
  - 9.00: Novità relative alle linee guida nazionali (C. Garbarino)
  - 10.00: Diagnostica (Risultati dei ring test sierologico) (N.Arrigoni)
  - 10.30: Diagnostica (Nuove attività del C.R.N: la Digital PCR) (C.Cortimiglia)
  - 11.00: Diagnostica (Nuove attività del C.R.N: Validazione metodiche PCR) (M.Ricchi)
  - 11.30-12.30: Discussione e presentazione contributi

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

#### **1) Consulenze richieste ad esterni**

Nulla da segnalare

#### **2) Consulenze e pareri tecnici forniti ad esterni**

Nel periodo considerato sono stati formulati dal C.N.R i seguenti pareri:

- A seguito di richiesta ricevuta il 23.2.2023 via PEO dal Ministero della Salute, nella persona del dott. Roberto Lomolino, relativa al Decreto del Direttore del Servizio veterinario della provincia di Bolzano, dott. Paolo Zambotto, N. 2802 del 17.2.2023, avente per oggetto: “Paratubercolosi: piano di controllo nella Provincia di Bolzano – Abrogazione del decreto n. 31.12/514378 del 15.09.2014”, e alla Circolare 5 del

23.2.2023 del Servizio veterinario della provincia di Bolzano avente per oggetto "Paratubercolosi: piano di controllo nella provincia di Bolzano", è stato formulato ed inviato parere favorevole (Protocollo IZSLER N. 0005064) in data 01/03/2023, in considerazione del fatto che le disposizioni contenute nei documenti pervenuti soddisfano i criteri minimi previsti dalle "Linee guida per la sorveglianza, l'adozione dei piani di controllo e l'assegnazione della qualifica sanitaria agli stabilimenti di specie sensibili (bovini, bufalini, ovini, caprini) nei confronti della paratubercolosi" (G.U. 13 gennaio 2023, n. 10) e le disposizioni integrative non risultano in contrasto con quanto disposto dalle suddette Linee Guida Nazionali.

- A seguito di richiesta ricevuta il 13.3.2023 dal Ministero della Salute con Prot. S128/2023/22.17.3-2023-1/VD-MGR (Prot. IZSLER n.0006210 del 13/03/2023), relativa alla proposta di deliberazione della Giunta provinciale di Trento "Accordo ai sensi dell'articolo 4, comma 1, del decreto legislativo 28 agosto 1997, n.281 tra il Governo, le Regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano concernente le Linee guida per l'adozione dei Piani di controllo e per l'assegnazione della qualifica sanitaria agli allevamenti di specie sensibili (bovini, bufalini, ovini, caprini) nei confronti della paratubercolosi" (Repertorio atti n. 230/CSR del 30 novembre 2022) – Recepimento e pianificazione delle attività sul territorio provinciale", è stato formulato ed inviato parere favorevole (Protocollo IZSLER N. 6504 del 15.03.2023), in considerazione del fatto che le disposizioni contenute nei documenti pervenuti soddisfano i criteri minimi previsti dalle "Linee guida per la sorveglianza, l'adozione dei piani di controllo e l'assegnazione della qualifica sanitaria agli stabilimenti di specie sensibili (bovini, bufalini, ovini, caprini) nei confronti della paratubercolosi" (G.U. 13 gennaio 2023, n. 10) e che le disposizioni integrative non risultano in contrasto con quanto disposto dalle suddette Linee Guida Nazionali. Il Centro di referenza nazionale per la Paratubercolosi, ha suggerito tuttavia di sostituire nell' Allegato A, punto 1, riga 4, la dicitura "capre e pecore da latte" con "capre e pecore da riproduzione".

### **Attività di docenza**

- In data 4.11.2022 il C.R.N. (N.Arrigoni) ha effettuato attività di docenza nell'ambito del Corso di Laurea Magistrale in Scienze delle Tecnologie delle Produzioni Animali, gestione dei Piani di Profilassi, presso la Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano, con una relazione dal titolo: "Paratubercolosi: linee guida per l'adozione di piani di controllo e assegnazione della qualifica sanitaria agli allevamenti e piano di gestione sanitaria".
- In data 01.12.2022 il C.R.N. (C. Garbarino) ha effettuato una docenza in modalità webinar, al Corso di Laurea Magistrale in Scienze delle Tecnologie delle Produzioni Animali, Corso di gestione dei Piani di Profilassi, presso la Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano, con una relazione dal titolo: "Paratubercolosi: linee guida per l'adozione di piani di controllo e assegnazione della qualifica sanitaria agli allevamenti e piano di gestione sanitaria".

### Consulenze e collaborazioni europee

- E' attivo un accordo di collaborazione scientifica con il Centro di Referenza OIE Veterinary Research Institut di Brno (CZ), referente Dr. Petr Kralik, della durata di 5 anni (data di avvio: 25.6.2019; data di scadenza: 24.6.2024), che prevede lo scambio di materiali e conoscenze tecniche, attraverso reciproci stage formativi, per la realizzazione di ricerche e pubblicazioni congiunte.

### Consulenze e collaborazioni internazionali

- Visita di funzionari dell'Agenzia KFVA (Kosovo) presso il C.R.N. in data 14.03.2023. In tale occasione sono state presentate le Linee guida nazionali per la paratubercolosi ed i pilastri del controllo della malattia:
  - "Guidelines for paratuberculosis control and for assessing the health ranking to the herds: the Italian experience" (N.Arrigoni)
  - "Biosecurity and diagnosis: key elements for an effective paratuberculosis control" (C.Garbarino)
  - "Introduction to the farm visit and to the risk assessment" (C.Garbarino)

La formazione si è conclusa con una visita presso un allevamento di vacche da latte, dove, attraverso la compilazione della check-list per la valutazione del rischio, è stato redatto il Piano di Gestione sanitaria dell'allevamento (C. Garbarino, N.Arrigoni).

### Pubblicazioni scientifiche e divulgative

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

#### **Su riviste con Impact factor:**

1. Gaffuri A, Barsi F\*, Magni E, Bergagna S, Dellamaria D, Ricchi M\*, De Paolis L, Galletti G, Arrigoni N\*, Lorenzi V, Fusi F, Prosperi A, Garbarino C\*. "Paratuberculosis, animal welfare and biosecurity: a survey in 33 Northern Italy dairy goat farms". *Animals* (Basel). 2023 Jul 18;13(14):2346.
2. Barsi F\*, Dalzini E, Russo S\*, Cosciani-Cunico E, Monastero P, Arrigoni N\*, Garbarino CA\*, Cortimiglia C\*, Losio MN, Ricchi M\*. "Isothermal inactivation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in curd simulating the stretching phase in pasta-filata cheese process". *Front Microbiol.* 2022 Dec 1;13:1052222.
3. Russo S\*, Galletti G\*, Leo S\*, Arrigoni N\*, Garbarino C\*, Ricchi M\*. "Validation of IS900-qPCR assay to assess the presence of *Mycobacterium avium* subs. *paratuberculosis* in faecal samples according to the OIE procedure". *Prev Vet Med.* 2022 Nov; 208:105732.
4. Scarpellini R, Giacometti F, Savini F, Arrigoni N\*, Garbarino CA\*, Carnevale G, Mondo E, Piva S. "Bovine paratuberculosis: results of a control plan in 64 dairy farms in a 4-year period". *Prev Vet Med.* 2023 Jun; 215:105923.

### **Su atti di congressi o riviste senza Impact Factor:**

1. Arrigoni N.\*, Cerioli M., Nassuato C., Farioli M., Boldini M., Gradassi M., Ventura G., Paterlini F., Rosignoli C., Vezzoli F., Garbarino CA.\*, Bellini S., Santi A., Ruocco L., Lomolino R., Tamba M. "Bovine paratuberculosis in Italy: review of the national guidelines after eight years of their application." Bull Int Dairy Fed - Vol. 523 (2023). - p 22-32. - 9 bib ref . <https://doi.org/10.56169/UEAO1249> [Nr. Estr. 9210].
2. Garbarino C.\*, Gaffuri A., Barsi F.\*, Massella E.\*, Ricchi M.\*, Arrigoni N.\* "Linee guida per la paratuberculosis e Piano di gestione sanitaria negli ovini e caprini". Atti XXIV Congresso Nazionale SIPAOC (Società Italiana patologia ed allevamento ovino e caprino), Viterbo, 22-23 febbraio 2023.
3. Gaffuri A., Garbarino C.\*, Bergagna S., Dellamaria D., Tranquillo V., Magni E., De Paolis L., Lorenzi V., Fusi F. "La check list ClassyFarm di valutazione della biosicurezza come strumento di prevenzione delle principali malattie infettive nella capra da latte". Atti XXIV Congresso Nazionale SIPAOC (Società Italiana patologia ed allevamento ovino e caprino), Viterbo, 22-23 febbraio 2023.
4. Dellamaria D., Paiusco MC., Garbarino C.\*, Bergagna S., Magni E., Lorenzi V., Fusi F., Gaffuri A. "Welfare and biosecurity evaluation in dairy goat farms". International Sheep Veterinary Congress (ISVC) (10<sup>th</sup>: Seville, Spain: 6<sup>th</sup>-10<sup>th</sup> March 2023). AnimSci Proc. -Vol.14 1 (2023) – p 213-214 (P- 009) [Htttts://doi.org./10.1016/j.anscip.2023.01.287](https://doi.org/10.1016/j.anscip.2023.01.287).
5. Filippi A\*, Garbarino C.\*, Nava M., Russo S., Filipe J., Bianchi A., Corlatti L., Gugiatti A., Buccheri Pederzoli C., Pigoli C., Pedrotti L., Arrigoni N.\*, Ricchi M.\*, Bertoletti I., Luzzago C. "Sorveglianza attiva nei confronti della paratuberculosis nel cervo (*Cervus elaphus*) nel Parco Nazionale dello Stelvio". Atti del 40<sup>èmes</sup> Rencontres de Groupe d'Etudes sur l'Eco-pathologie de la Faune Sauvage de Montagne, Saluzzo, 21-24 settembre 2023.

### **Attività di referaggio:**

Nel periodo considerato sono stati effettuati:

- 3 referaggi (C.Garbarino) sulle materie di interesse del Centro di Referenza per rivista impattata (Animals).
- 4 referaggi (M.Ricchi) sulle materie di interesse del Centro di Referenza per riviste impattate (Brazilian journal of microbiology, Veterinary Medicine and Science, Infection and Drug Resistance, Epidemiology and Infection).

### **Sito Web**

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

Sul sito sono disponibili:

- una brochure informativa/divulgativa dal titolo “Paratubercolosi nell’allevamento della bovina da latte”, destinato ad allevatori e veterinari, aggiornata con i criteri delle Linee guida nazionali.  
([http://www.izsler.it/izs\\_bs/allegati/450/brochure17\\_12\\_13B.pdf](http://www.izsler.it/izs_bs/allegati/450/brochure17_12_13B.pdf)).
- una brochure informativa/divulgativa dal titolo “Paratubercolosi nell’allevamento della capra da latte”, destinato ad allevatori e veterinari.  
[http://archive.izsler.it/pls/izs\\_bs/v3\\_s2ew\\_consultazione.mostra\\_pagina?id\\_pagina=5710](http://archive.izsler.it/pls/izs_bs/v3_s2ew_consultazione.mostra_pagina?id_pagina=5710)
- la versione italiana di un filmato divulgativo per allevatori, in cui sono illustrate le modalità di diffusione e di controllo dell’infezione. Il filmato è disponibile al link <https://www.youtube.com/watch?v=PNWmho9XMxQ>, come “*tutorial paratubercolosi*”.
- una App per la valutazione del rischio in allevamento (iRAMP, Italian Risk Assessment and Management Planning), per tablet (Android, iOS, Windows), realizzata dal C.R.N. per la valutazione del rischio di ingresso e diffusione della paratubercolosi nelle aziende bovine e per l’individuazione delle misure gestionali idonee a ridurre i fattori di rischio, a disposizione dei veterinari pubblici e liberi professionisti. Lo schema di valutazione è stato ripreso dal “Manuale per il controllo della paratubercolosi negli allevamenti di bovine da latte”, rielaborato ed adattato allo strumento informatico, in modo da renderlo facilmente leggibile e compilabile su tablet, direttamente in azienda.

## **Centro di Referenza Nazionale (C.R.N.) Paratubercolosi** **Programmazione attività per il periodo 1.10.2023 – 30.09.2024**

### **Obiettivi strategici**

Sviluppare maggiormente i rapporti nazionali ed internazionali.

#### **A livello nazionale:**

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

##### ***INDICATORI***

- Realizzazione di un ring test per la diagnosi indiretta (sierologia mediante metodica ELISA) che coinvolgerà i laboratori di tutti gli Istituti Zooprofilattici Sperimentali;
- Partecipazione del Centro di Referenza a Progetti di Ricerca Corrente e/o Finalizzata, anche in collaborazione con altri IZZSS;
- Organizzazione di una riunione con i referenti dei vari IZZSS;
- Realizzazione di accordi di collaborazione scientifica e/o Material Transfer Agreement con vari IZZSS.

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

##### ***INDICATORI***

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

#### **A livello internazionale:**

- Acquisire maggiore visibilità in campo internazionale.

##### ***INDICATORI***

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

### **Attività diagnostica**

#### **1. Standardizzazione e validazione di metodiche analitiche**

Invio dei MMPP disponibili agli IZZSS che ne faranno richiesta.

#### **2. Produzione e distribuzione di reagenti**

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

### 3. Attività analitica

La previsione è che l'attività diagnostica routinaria possa subire un aumento, a seguito dell'applicazione delle modifiche previste alle *“Linee guida nazionali per l'adozione di piani di controllo e l'assegnazione della qualifica sanitaria nei confronti della Paratubercolosi”*, con introduzione della PCR di conferma sugli animali sieropositivi, in allevamenti a bassa prevalenza ed estensione alle altre specie sensibili (bufalo, ovino, caprino).

L'aumento di attività analitica potrebbe inoltre far seguito all'inserimento della paratubercolosi nella lista delle malattie previste dal Regolamento (UE) 2016/429, all'interno della categoria e) da sottoporre a sorveglianza.

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

E' in previsione, per il 2024, la realizzazione di un *ring test* per la diagnosi indiretta mediante metodica ELISA.

Al precedente ring test per la diagnosi indiretta avevano aderito 22 laboratori appartenenti a 10 IZZSS.

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

E' in previsione:

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

### 6. Altre attività

E' in previsione la stesura, già prevista per l'anno precedente ma non realizzata, di due brochure informative/divulgative, la prima destinata ad allevatori e veterinari:

- *“Paratubercolosi nella bufala: conoscerla per combatterla”*
- *“Paratubercolosi nei cervidi”*.

## Epidemiologia

### 1. Creazione banca dati

Verrà mantenuto il presidio del sistema Vetinfo relativamente ai casi clinici segnalati e alla qualifica sanitaria degli allevamenti, a supporto del sistema di certificazione per l'esportazione. Tali adempimenti sono previsti dalle *«Linee guida per l'adozione dei Piani di controllo e per l'assegnazione della qualifica sanitaria agli allevamenti di specie sensibili (bovini, bufalini, ovini, caprini) nei confronti della paratubercolosi»* per rispondere alle richieste provenienti da paesi terzi in merito alla garanzia che il latte esportato non provenga da allevamenti in cui si siano manifestati casi clinici di Paratubercolosi.



## **2. Sviluppo e gestione di sistemi informativi**

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

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

A seguito della introduzione della paratubercolosi nell'elenco delle malattie di categoria e) ai sensi del Regolamento (UE) 2016/429 e relativo Regolamento di esecuzione 2018/1882 e delle criticità rilevate negli 8 anni di applicazione, le Linee guida per la paratubercolosi sono state revisionate: è stato pubblicato sulla Gazzetta Ufficiale Serie Generale n.10 del 13-01-2023 l'«Accordo, ai sensi dell'articolo 4, comma 1, del decreto legislativo 28 agosto 1997, n. 281, tra il Governo, le regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano concernente: «Linee guida per l'adozione dei Piani di controllo e per l'assegnazione della qualifica sanitaria agli allevamenti di specie sensibili (bovini, bufalini, ovini, caprini) nei confronti della paratubercolosi»» sancito dalla Conferenza Stato Regioni il 30 novembre 2022.

## **Aggiornamenti epidemiologici sulle materie di competenza**

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

## **Ricerca e sperimentazione**

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

#### *Ricerca Corrente come Capofila*

Progetto di ricerca corrente IZS LE 2020/009: “Automazione delle metodiche per la rilevazione degli acidi nucleici di *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* (MAP) in campioni diagnostici. (Responsabile scientifico M. Ricchi).

Il progetto ha avuto inizio il 31.12.2020 il termine è stato Prorogato al 30.12.2023.

#### *Ricerca Corrente come Unità Operativa*

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

- Progetto di Ricerca Corrente IZSLER: Indagine sulla presenza e circolazione dei micobatteri non tubercolari (NTM) negli allevamenti bovini in relazione al problema delle false positività sierologiche alla paratubercolosi bovina.

MICOCROSSREA, approvato 2023 (Responsabile scientifico F.Parolini, data inizio prevista: 30.12.2023)

- Progetto di ricerca corrente IZS LE PRC 2021/110 (UM): “Valutazione dei livelli di espressione dei microRNA e il loro impiego come biomarkers nella Paratuberculosis bovina (MycomiRNA)” (Responsabile scientifico P.Mazzone). Il progetto è iniziato 16.12.2021 e terminerà il 16.12.2023.
- Progetto di Ricerca corrente IZS ME PRC 2022/108 (IZSM)(Valutazione di differenti biomarkers d’infezione da micobatteri nella bufala mediterranea (*Bubalus bubalis*) e nel bovino (*Bos taurus*)” (Responsabile scientifico Alessandra Martucciello). Il progetto è iniziato il 30.12.2022 e terminerà 30.12.2024.

### ***Ricerca finalizzata***

Nulla da segnalare.

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

Nulla da segnalare.

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

- Ricerca autofinanziata (Codice del Progetto: COMM\_MYCO\_PARA). “Quantificazione assoluta delle cellule di *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* in campioni fecali bovini mediante lo sviluppo di un saggio digital PCR” (Responsabile scientifico: C.Garbarino; data avvio 01.03.2023; data di scadenza 01.03.2025).
- Accordo di collaborazione scientifica (data avvio 05.08.2022; data scadenza 04.08.2027) con Università degli Studi della Tuscia, Dipartimento per l’innovazione dei Sistemi Biologici, agroalimentari e forestali, Viterbo, per una ricerca sull’epidemiologia e sull’evoluzione dei ceppi di *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* e Micobatteri appartenenti al gruppo MAC, isolati da diverse fonti e specie animali, attraverso analisi di dati ottenuti mediante sequenziamento di nuova generazione.
- Accordo di collaborazione scientifica (data avvio 26.04.2023; data scadenza 25.04.2028) con Consiglio Regionale per la ricerca in agricoltura e l’analisi dell’economia agricola (CREA), per una ricerca sull’epidemiologia e sull’evoluzione dei ceppi di *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* isolati da diverse fonti e specie animali, attraverso analisi di dati ottenuti mediante sequenziamento di nuova generazione.
- Accordo di collaborazione scientifica (data avvio 28.08.2023; data scadenza 28.08.2025) con Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Animali, per effettuare le attività di monitoraggio dello stato sanitario nei confronti della Paratuberculosis della popolazione di cervi a vita libera nel Parco Nazionale dello Stelvio e in aree limitrofe.

- Material Transfer Agreement (data avvio 19.06.2023; data scadenza 18.06.2028) con National Service of Animal Health and Agrifood Quality, Buenos Aires, Argentina. L'obiettivo del MTA è scambiare materiale di riferimento per la diagnostica della paratubercolosi.
- Material Transfer Agreement (data avvio 12.06.2023; data scadenza 11.06.2028) con Agencie Nationale de Securità Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail - Laboratoire de Ploufragan-Plouzanet-Niorte, Francia. L'obiettivo del MTA è scambiare materiale di riferimento per la diagnostica della paratubercolosi.

## **Aggiornamento e formazione professionale**

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

E' prevista la partecipazione in data 2.10.2023, del C.R.N. (docenti C.Garbarino e M.Ricchi rispettivamente delle relazioni seguenti "*Paratubercolosi: non abbassiamo la guardia!*" e "*MAP e sicurezza alimentare*") nell'ambito del corso ECM "*Professione Veterinaria e One Health: aggiornamenti su Condizionalità, Classyfarm, Biosicurezza e controllo malattie infettive negli allevamenti*", organizzato dall'Ordine dei Medici Veterinari di Lodi.

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

E' in previsione la partecipazione del C.R.N. (M.Ricchi, S.Russo) al XXII Congresso Nazionale della Società di Diagnostica di laboratorio Veterinaria (SIDILV), a Brescia, 11-13 ottobre 2023. Verrà presentato il seguente lavoro scientifico: "*Riduzione logaritmica di Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis durante la produzione di mozzarella: confronto tra dato predetto e osservato*" (E. Cosciani-Cunico, Dalzini E., Barsi F.\*, Ducoli S., Russo S.\*, Monastero P., Abdul ME., Arnaboldi S., Losio M.N., Ricchi M.\*

Nell'ambito del medesimo Congresso è in previsione che il C.R.N. (M.Ricchi) partecipi all'organizzazione del Corso ECM per tecnici "*Tubercolosi e paratubercolosi: diagnosi di laboratorio*" con le seguenti relazioni:

- Paratubercolosi: eziopatogenesi, epidemiologia e test disponibili (C. Garbarino)
- Test diretti: coltura e PCR (M. Ricchi)
- Test indiretti: ELISA (M. Ricchi)
- Parte interattiva pratica (A. Filippi, S. Russo).

E' prevista la partecipazione del C.R.N. (Filippi A.) alla Giornata delle ricerche organizzata da IZSLER il 07.12.2023, con una comunicazione orale dal titolo: "*Rischio di infezione da paratubercolosi al pascolo: contributo di ruminanti domestici e selvatici*".

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

- Nel mese di ottobre 2023 è prevista la partecipazione del C.R.N. (Ricchi M.) al Comitato Organizzatore del XXII congresso Nazionale della Società di Diagnostica di laboratorio Veterinaria (SIDILV).
- Nel mese di dicembre 2023 il C.R.N. organizzerà una riunione dei referenti degli

Istituti Zooprofilattici, con il seguente programma:

- 8.30: Introduzione ai lavori (C. Garbarino)
- 9.00: Diagnostica (Risultati dei ring test di diagnosi diretta) (M.Ricchi)
- 9.30: Anatomia di una gara per la fornitura di kit sierologici (C.Garbarino)
- 10.00: Diagnostica - Nuove attività del C.R.N: applicazione della Digital PCR, utilizzo in campo, risultati preliminari (C.Garbarino)
- 10.30: Diagnostica - Attività del C.R.N: Sorveglianza attiva nei confronti della paratubercolosi nel cervo (*Cervus elaphus*) nel Parco Nazionale dello Stelvio. (A.Filippi)
- 11.00-12.00: Discussione e presentazione di contributi da parte dei referenti degli altri Istituti Zooprofilattici

E' in programma che il C.R.N. partecipi ai seguenti gruppi di lavoro:

- Board of Directors, dell'International Association of Paratuberculosis (Rappresentante italiano: Dr. M.Ricchi).

E' in programma che il C.R.N. partecipi ai seguenti congressi internazionali:

- International Colloquium on Paratuberculosis – 2024, October, Mathura (India). ([www.gla.ac.in/icpindia](http://www.gla.ac.in/icpindia))

E' in programma infine che il C.R.N. (C.Garbarino), in collaborazione con IZS Piemonte Liguria e Val d'Aosta, partecipi in ottobre 2023 alla commissione di gara nazionale per la fornitura di kit ELISA per la ricerca di anticorpi nei confronti di *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* ed all'allestimento delle prove previste dal capitolato (sensibilità diagnostica, specificità diagnostica, sensibilità analitica, prove di ripetibilità e riproducibilità).

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

### **1. Consulenze richieste ad esterni**

Nulla da segnalare.

### **2. Consulenze e pareri tecnici forniti ad esterni**

- Il C.R.N. continuerà a rispondere alle richieste di consulenza, aggiornamento, sopralluoghi, valutazione di metodiche analitiche, provenienti da IIZZSS, Veterinari appartenenti alle AUSL e liberi professionisti, allevatori.
- E' in programma la realizzazione di stage formativi e tirocini curricolari ed extra-curricolari per ricercatori dei vari Istituti Zooprofilattici, neolaureati e studenti di Medicina Veterinaria, Scienze Biologiche e Biotecnologie, per l'approfondimento delle metodiche diagnostiche sulla Paratubercolosi. Sono in programma:
  - tirocinio di A.Giuliani nell'ambito della Scuola di Specializzazione in sanità animale, allevamento, produzioni zootecniche (inizio tirocinio 01.10.2023, fine 31.05.2024. Tutor Accademico A.Mannelli, Scuola di Agraria e Medicina Veterinaria, Università di Torino; tutor C.R.N. C. Garbarino).

- tirocinio di R.Frontoni nell'ambito del Corso di Laurea in Medicina Veterinaria (inizio tirocinio 11.10.2023, fine 30.09.2023. Tutor Accademico F.Ostanello, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bologna; tutor C.R.N. C.Garbarino).

### **3. Attività di docenza**

- Il personale del C.R.N. parteciperà in qualità di docente a giornate di aggiornamento per allevatori e veterinari in varie province italiane, organizzati da Facoltà Universitarie, ASL, Ordini professionali. In particolare:
  - E' in previsione per il giorno 15.11.2023 una visita presso il C.R.N. di un gruppo di studenti del corso di Laurea Magistrale in Scienze e Tecnologie delle Produzioni Animali, Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Animali dell'Università degli studi di Milano, accompagnati dalla Professoressa R.Piccinini, per la presentazione delle attività del C.R.N. inerenti l'attività diagnostica sulla fauna selvatica.
  - E' in previsione per il giorno 23.11.2022 una docenza del C.R.N. (C. Garbarino) al Corso di Laurea Magistrale in Scienze delle Tecnologie delle Produzioni Animali, Corso di gestione dei Piani di Profilassi, presso la Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano, con una relazione dal titolo: *"Paratubercolosi: linee guida per l'adozione di piani di controllo e assegnazione della qualifica sanitaria agli allevamenti e piano di gestione sanitaria"*.
  - E' in previsione nei primi mesi dell'anno 2024 un corso per medici veterinari organizzato in collaborazione con l'Ordine dei Medici Veterinari di Piacenza con due interventi dal titolo: *"Paratubercolosi: non abbassiamo la guardia!"* (docente: C. Garbarino) e *"MAP e sicurezza alimentare"* (docente: M. Ricchi).

### **Consulenze e collaborazioni europee**

Nulla da segnalare.

### **Consulenze e collaborazioni internazionali**

Nulla da segnalare

### **Pubblicazioni scientifiche e divulgative**

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

### **Su riviste con Impact factor:**

E' in previsione la pubblicazione su riviste internazionali dei seguenti lavori scientifici:

- Russo S\*, Cortimiglia C\*, Filippi A\*, Palladini G\*, Garbarino C\*, Massella E\*, Ricchi M\*. *"Validation of digital PCR assay for the quantification of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in bovine faeces according to the ISO 20395:2019"*. J Microbiol Methods. 2023 Oct; 213:106825.

- Filippi A.\*, Garbarino C. \*, Nava M., Russo S.\*, Filipe J., Bianchi A., Corlatti L., Gugiatti A., Buccheri Pederzoli C., Pigoli C., Pedrotti L., Arrigoni N.\*, Ricchi M. \*, Bertoletti I. , Luzzago C.."Active surveillance of paratuberculosis in Alpine-dwelling red deer" (under consideration for publication, sulla rivista *Frontiers in Veterinary Science*).
- Turco S., Russo S\*, Pietrucci D., Filippi A\*, Milanese M., Luzzago C., Garbarino C\*, Palladini G\*, Chillemi G., Ricchi M.\* "High clonality of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* field isolates from red deer revealed by two different methodological approaches of comparative genomic analysis" (under consideration for publication, sulla rivista *Frontiers in Veterinary Science*).

### **Su atti di congressi o riviste senza Impact factor**

E' in previsione la pubblicazione del seguente contributo:

- E. Cosciani-Cunico, Dalzini E., Barsi F.\*, Ducoli S., Russo S.\*, Monastero P., Abdul ME., Arnaboldi S., Losio M.N., Ricchi M\*. "Riduzione logaritmica di *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* durante la produzione di mozzarella: confronto tra dato predetto e osservato". Atti del XXII congresso Nazionale della Società di Diagnostica di laboratorio Veterinaria (SIDILV), Brescia, 11-13 ottobre 2023.

### **Sito Web**

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

Verranno pubblicate una brochure sulla paratubercolosi nell'allevamento bufalino e una scheda informativa sulla paratubercolosi nei cervi.

Verrà arricchita la sezione relativa alla documentazione fotografica.

Il Responsabile del Centro di Referenza Nazionale per la Paratubercolosi

Dott. Chiara Garbarino