

D.M. 4 ottobre 1999 – Centri di Referenza Nazionali nel Settore Veterinario**CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER LA LEPTOSPIROSI
Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia – Romagna “Bruno Ubertini”****RELAZIONE ANNUALE**

Il Centro di Referenza Nazionale per la Leptospirosi (CRNL) è inserito all'interno del Reparto Tecnologie Biologiche Applicate dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia – Romagna (IZSLER) e in particolare nei Laboratori di Batteriologia Specializzata e di Diagnostica Molecolare. Concorrono alle attività le altre Sedi Territoriali IZSLER e gli Osservatori Epidemiologici Veterinari della Regione Lombardia (SEL) e dell'Emilia – Romagna (SEER).

RISORSE UMANE

Le risorse umane (con impegno orario di seguito specificato in percentuale) delle strutture che hanno partecipato alle attività del CRNL, nel corso del periodo oggetto della relazione, sono di seguito elencate.

STRUTTURA	QUALIFICA	PERCENTUALE
Laboratorio Batteriologia Specializzata	Dirigente veterinario	25
	Tecnico sanitario di laboratorio biomedico	90
	Tecnico sanitario di laboratorio biomedico	70
	Assistente tecnico	50
Laboratorio Diagnostica Molecolare	Dirigente biologo	15
	Dirigente biologo	5

RISORSE STRUMENTALI

Laboratorio Batteriologia Specializzata: dispone delle attrezzature necessarie per l'attività di diagnostica sierologica, batteriologica e bio – molecolare, per la produzione e la conservazione di ceppi di riferimento e di campo e per le attività di ricerca.

Laboratorio Diagnostica Molecolare: mette a disposizione strutture, attrezzature e competenze per l'attività diagnostica e opera per lo sviluppo di metodiche innovative di biologia molecolare per la caratterizzazione (in particolare la genotipizzazione) dei ceppi isolati e per l'evidenziazione e caratterizzazione di leptospire patogene nei campioni biologici.

Sedi Territoriali IZSLER: forniscono supporto per la gestione in campo dei focolai sul territorio, svolgono attività diagnostica di primo livello con prelievo di campioni che inviano ai laboratori del CRNL.

Osservatori Epidemiologici: collaborano alla gestione di focolai.

Il piano d'attività 2024 si riferisce al periodo 01/10/2023 – 30/09/2024; il periodo di riferimento della programmazione è 01/10/2024 – 30/09/2025.

OBIETTIVI STRATEGICI

Vengono di seguito riportati i principali obiettivi nell'ambito dell'attività di laboratorio e di quella di campo: questi si collegano a quelli già riportati nelle relazioni precedenti e ne rappresentano il proseguimento.

– Attività di laboratorio

Il CRNL continuerà nell'obiettivo di migliorare e ampliare le competenze in materia di diagnosi e tipizzazione mediante tecniche bio–molecolari. In tale ambito, è attivo il servizio per il sequenziamento degli isolati mediante tecniche di ultima generazione come il Whole Genome Sequencing (WGS) che viene utilizzato, ai fini di approfondimento diagnostico, sia su isolati conferiti al CRNL nell'ambito dell'attività diagnostica ordinaria sia su ceppi prima conservati in collezione e ora entrati a far parte della biobanca. Accanto a tale metodica, sono in corso di codifica metodiche bio–molecolari per la determinazione del sierogruppo e per la caratterizzazione delle leptospire non patogene.

Sebbene le metodiche bio–molecolari rappresentino ormai, specie nel caso dello studio delle leptospirosi, degli strumenti fondamentali, l'isolamento del microrganismo deve continuare comunque a essere perseguito soprattutto perché permette la produzione di auto–vaccini che, per determinate specie animali e sierovarianti (vedi, per esempio, bovini e ovi–caprini), suppliscono alla mancanza di vaccini che non sono disponibili in commercio nel territorio nazionale. L'obiettivo è quello di migliorare le tecniche microbiologiche esistenti con particolare approfondimento non solo sulle formulazioni dei terreni colturali (alla luce, tra l'altro, di recenti

aggiornamenti presenti in letteratura), ma anche sul trattamento dei campioni in tutte le fasi, dal prelievo alla preparazione finale in laboratorio.

L'armonizzazione delle principali metodiche diagnostiche, in uso nei laboratori degli Istituti Zooprofilattici, garantisce un'eguale qualità dei servizi offerti in tutto il territorio nazionale. In particolare, la prova sierologica eseguita con la metodica della micro-agglutinazione, grazie a un controllo attuato attraverso i circuiti inter-laboratorio e ai reagenti forniti, in buona parte, dal CRNL, ha raggiunto un avanzato stadio di armonizzazione. Per quanto riguarda la ricerca di leptospire mediante prove bio-molecolari, i circuiti inter-laboratorio hanno evidenziato, nel corso degli anni, un buon allineamento degli esiti forniti dai laboratori. L'obiettivo è quello di mantenere i buoni risultati fin qui raggiunti.

– **Attività di campo**

L'attuale legislazione in materia di controllo delle infezioni animali, in particolare il Regolamento (UE) 2016/429 ("Animal Health Law"), non contempla la leptospirosi nell'elenco delle malattie né la legislazione nazionale ha nel frattempo fornito una lista di malattie diverse da quelle elencate nel succitato Regolamento.

Peraltro, la legislazione nazionale include il Decreto Legislativo 191/2006 ("Attuazione della direttiva 2003/99/CE sulle misure di sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonotici") nel quale la leptospirosi è inclusa nell'elenco "delle zoonosi e degli agenti zoonotici da sottoporre a sorveglianza in funzione della situazione epidemiologica". Inoltre il Decreto Legislativo 136/2022 chiarisce che le zoonosi contemplate dal Decreto Legislativo 191/2006, quando non elencate nelle disposizioni legislative UE, siano da considerarsi soggette a notifica. Pertanto, è indubbio che, quando viene accertata o sospettata la presenza di leptospirosi, vadano, perlomeno, attuati tutti quei provvedimenti che limitino al massimo i rischi di trasmissione dell'infezione agli individui della specie umana.

Premesso che, visti i comportamenti dei veterinari ufficiali, perlomeno per quanto concerne la notifica di leptospirosi, non sembra che, quanto riportato sopra, sia del tutto chiaro, è indubbio che vi sia la necessità di fornire, ai veterinari di campo e agli Istituti Zooprofilattici, pareri e indicazioni sul significato degli esiti delle prove diagnostiche di laboratorio e sulle modalità da seguire per affrontare i casi di infezione.

La gestione di focolai d'infezione è relativamente semplice nel caso degli animali da compagnia (quasi esclusivamente cani) dove è generalmente coinvolto un soggetto singolo (sebbene non siano mancati casi coinvolgenti più soggetti, come nel caso, per esempio, di canili). La situazione diviene più complicata nel caso degli animali da reddito (specialmente bovini e suini) per i quali le procedure da seguire richiedono maggiore attenzione e, soprattutto, tempi di esecuzione più lunghi.

Le informazioni che vengono fornite dal CRNL si basano su un protocollo operativo per la gestione dei focolai, elaborato da tempo con la collaborazione di altri Istituti Zooprofilattici e di veterinari ufficiali. Tale protocollo, nonostante sia noto a molti operatori sanitari, non ha peraltro il crisma dell'ufficialità dato che i competenti uffici ministeriali, che pure lo hanno ricevuto, non hanno mai espresso un parere circa la sua conformità. Tale protocollo risulta ormai datato (anno 2014) e necessita di un aggiornamento: per poter però giungere a una soluzione, il CRNL, come già riportato nella precedente relazione tecnica, ha la necessità di essere supportato dagli uffici ministeriali onde valutare le diverse esigenze di adeguamento agli attuali dispositivi di legge.

Oltre a ciò il CRNL si pone anche l'obiettivo di elaborare una linea guida, a uso dei veterinari aziendali, per il controllo dell'infezione e, eventualmente, per la definizione dello "status" degli allevamenti verso la leptospirosi. Va rimarcato infine come, negli ultimi 18 mesi, il CRNL abbia ricevuto diverse richieste di supporto, in termini di attività diagnostica di laboratorio, da parte di strutture di medicina umana, anche in casi che non coinvolgevano animali. Ciò anche in virtù del fatto che, molto spesso, la leptospirosi non è un'infezione particolarmente nota tra i medici. Emerge quindi la necessità di avere a disposizione un quadro dell'epidemiologia in ambito umano attraverso, in particolare, la conoscenza, meglio se in tempo reale, dei casi d'infezione. Per questo il CRNL ha intenzione di richiedere la possibilità di accesso ai dati dei casi umani a cominciare dalle Regioni che sono parte del territorio di competenza dell'IZS della Lombardia e dell'Emilia-Romagna.

– **Altre attività**

Biobanca: il controllo dei ceppi presenti nella biobanca IZSLER continua con la verifica delle caratteristiche dei ceppi mediante tecniche di caratterizzazione sierologica e bio-molecolare. L'impiego del sequenziamento genomico di ultima generazione è già stato in particolare applicato a oltre 20 ceppi e verrà esteso progressivamente agli altri ceppi. L'attività di mantenimento e miglioramento di tale collezione consente di rendere sempre disponibili i ceppi per fornire ai laboratori degli Istituti Zooprofilattici nonché a tutti i soggetti, anche privati, che ne facciano richiesta.

ATTIVITÀ DIAGNOSTICA

1) Standardizzazione e validazione di metodiche analitiche

Metodi di prova (MP) codificati:

- MP interno per la ricerca di anticorpi anti – *Leptospira* mediante agglutinazione microscopica (MAT) (MP 04/019, accreditato);
- MP interno per la ricerca di *Leptospira* spp. mediante esame colturale (MP 01/127);

- MP interno per la ricerca di *Leptospira spp.* mediante PCR Real Time in matrici di origine animale (MP 09/164, validato);
- MP interno per la caratterizzazione sierologica degli isolati del genere *Leptospira* (MP 01/214);
- MP interno per la genotipizzazione e verifica di identità di leptospire patogene mediante MLST (MP 09/279);
- MP interno per la messa in evidenza di antigeni, in campioni di tessuto inclusi in paraffina. Colorazione immunoistochimica (MP 07/003, accreditato).

Note ai metodi di prova codificati:

- Il saggio PCR real time permette l'identificazione e la discriminazione di leptospire patogene e non patogene.
- La genotipizzazione tramite MLST è applicabile sia ai ceppi isolati che ai campioni biologici. (caratterizzazione anche in assenza di isolamento).

Metodi di prova non codificati:

- sequenziamento gene RNA 16S: identificazione a livello di specie (qualora l'identificazione con MLST non sia possibile);
- sequenziamento di una regione del gene LIC12008: differenziazione tra i serovar Icterohaemorrhagiae e Copenhageni;
- analisi MLVA (Multi Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis);
- sequenziamento dell'intero genoma: tramite tecniche NGS e analisi del core genome MLST (identificazione di nuovi ceppi e correlazioni evolutive ed epidemiologiche dei ceppi circolanti).

È inoltre in corso la messa a punto di nuovi metodi:

- determinazione dei sierogruppi mediante tecniche bio-molecolari;
- caratterizzazione di leptospire ssapofite e a patogenicità intermedia tramite PCR Real Time.

2) Produzione e distribuzione di reagenti

Il CRNL ha mantenuto una collezione di oltre 450 ceppi, di referenza e di campo, mediante conservazione sia a temperatura ambiente sia in azoto liquido.

Nel periodo considerato sono state effettuate sei forniture agli Istituti Zooprofilattici per un totale di 30 colture controllate, da impiegarsi come antigeni MAT, e di un siero. È stata inoltre effettuata la fornitura di una coltura alla Fondazione IRCCS Policlinico S. Matteo di Pavia.

IZS DESTINATARIO	FORNITURA	N° PROTOCOLLO IZSLER	DATA
PLV	4 colture	23946/2023	20/10/2023
PLV	2 colture	28949/2023	22/12/2023
LT	3 colture	1423/2024	22/01/2024
PB	9 colture	8100/2024	08/04/2024
LT	12 colture	14694/2024	25/06/2024
LT	1 siero	15109/2024	01/07/2024

ALTRI DESTINATARI	FORNITURA	N° PROTOCOLLO IZSLER	DATA
IRCCS S. Matteo, Pavia	1 coltura	13175/2024	06/06/2024

3) Attività analitica

L'attività sui campioni biologici è rivolta alle richieste provenienti dalle Sedi Territoriali dell'IZSLER e, per conferma diagnostica, a quelle provenienti dagli Istituti Zooprofilattici.

Il CRNL assicura inoltre, su richiesta, il controllo d'identità dei ceppi, in uso come antigeni MAT, presso i laboratori degli Istituti Zooprofilattici.

CAMPIONI CONFERITI DA SEDI TERRITORIALI IZSLER				
TIPO PROVA	TECNICA	N° PROVE	N° POSITIVITÀ	NOTE
Esame sierologico	MAT	53.816	673 ^(A)	Prove su 6.727 campioni
Esame colturale	Microbiologica	10	1	
Caratterizzazione serovar	Sierologica	1		
Esame bio – molecolare	Real Time PCR	324	24	Ricerca di <i>Leptospira spp.</i>

CAMPIONI CONFERITI DA SEDI TERRITORIALI IZSLER				
TIPO PROVA	TECNICA	N° PROVE	N° POSITIVITÀ	NOTE
Esame bio–molecolare	Genotipizzazione–MLST	10		Un campione non amplificabile
(A) Ordine di prevalenza tra i sierogruppi: Australis, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Sejroe, Tarassovi, Canicola, Pomona, Ballum				

CAMPIONI CONFERITI DA ISTITUTI ZOOPROFILATTICI				
TIPO PROVA	TECNICA	N° PROVE	N° POSITIVITÀ	NOTE
Esame sierologico	MAT	520	47	Prove su 65 campioni
Caratterizzazione serovar	Sierologica	23		
Esame bio–molecolare	Real Time PCR	7	4	Ricerca di <i>Leptospira spp.</i>
Esame bio–molecolare	Genotipizzazione–MLST	80		Due campioni non amplificabili

Nota: due Istituti Zooprofilattici (Abruzzo–Molise e Mezzogiorno), per scelta organizzativa, non eseguono l'esame sierologico e inviano i campioni, per le relative indagini, al CRNL.

4) Circuiti interlaboratorio organizzati dal CRNL

Ricerca leptospire patogene in campioni biologici mediante PCR: hanno aderito 17 laboratori (16 appartenenti agli Istituti Zooprofilattici e un laboratorio universitario). I campioni sono stati inviati il giorno 11/03/2024. Ciascun laboratorio partecipante ha ricevuto 12 campioni da analizzare con metodiche PCR. Il termine per l'invio dei risultati, da inserire direttamente sul sito IZSLER, utilizzando i dati di accesso forniti in fase di registrazione, è stato fissato al 30/04/2024. Il report finale è stato inviato ai partecipanti il 25/06/2024. Complessivamente la prova valutativa ha mostrato un risultato soddisfacente e omogeneo tra i partecipanti: i risultati qualitativi ottenuti si sono rivelati, ad eccezione di un caso, conformi per tutti i laboratori e i valori Ct delle prove in Real Time PCR sono risultati omogenei mostrando una sostanziale uniformità nella capacità di rilevamento e di diagnosi.

5) Ring test a cui ha partecipato il personale del CRNL

International Proficiency Testing Scheme for the Leptospirosis MAT, Round 20 (organizzato da International Leptospirosis Society) riservato ai laboratori che eseguono il test di agglutinazione microscopica (MAT) per la diagnosi in campo umano o veterinario. L'esito è stato favorevole.

6) Altre attività

Tutti i sieri di campo risultati positivi e gli isolati vengono regolarmente conservati. Quando possibile vengono conservati anche gli organi risultati positivi alle prove bio–molecolari.

Su tutti i ceppi isolati viene eseguita la caratterizzazione sierologica; sugli isolati, sui campioni di DNA e sui campioni biologici positivi viene eseguita, ove applicabile, l'identificazione tramite tecniche bio–molecolari.

EPIDEMIOLOGIA

1) Creazione di banca dati

La raccolta dei dati di laboratorio degli Istituti Zooprofilattici (principalmente relativi alle prove sierologiche e alla ricerca dell'agente eziologico mediante isolamento e metodi bio–molecolari) avviene su base volontaria attraverso un sistema informatizzato di raccolta messo a disposizione dal CRNL. Il sistema, attivo dall'anno 2014, ha visto progressivamente ridurre l'apporto in termini di dati caricati rendendo lacunosa l'informazione nel suo complesso. L'obiettivo è, a questo punto, quello di recuperare i dati mancanti, tramite i referenti per la materia, al fine di stendere un report riepilogativo da pubblicare su rivista e, contemporaneamente, sul sito web del CRNL.

2) Sviluppo e gestione di sistemi informativi

Oltre al sistema di raccolta dati citato al punto precedente, ulteriori informazioni si possono ricavare dal Sistema Informativo Malattie Animali (SIMAN) all'interno del Sistema Informativo Veterinario (<https://www.vetinfo.it>) dove sono riportate le registrazioni dei focolai. Come riportato oltre, i dati contenuti nel Sistema sono, con ogni probabilità, lacunosi dato che, a situazioni in cui è stata riscontrata positività diagnostica e di cui il CRNL è a conoscenza, non ha fatto seguito la registrazione del dato.

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

Come riportato sopra, nella sezione “Obiettivi strategici” il protocollo operativo per la gestione dei focolai, sebbene sia noto a molti operatori sanitari, è privo del crisma dell’ufficialità da parte del Ministero. A parte ciò, il documento risulta ormai datato e necessita di un aggiornamento per essere adeguato alle attuali norme. In aggiunta a tale protocollo, risulterebbe utile una linea guida, a uso dei veterinari aziendali, per il controllo dell’infezione e per la definizione dello “status” degli allevamenti nei confronti della leptospirosi.

La stesura di tali documenti dovrà avvenire, principalmente ma non esclusivamente, con la collaborazione dei referenti per la materia degli Istituti Zooprofilattici. Per tale motivo, durante l’incontro di formazione, organizzato dal CRNL nei giorni 23 e 24 settembre 2024, è stata proposta ai presenti la costituzione di gruppi di lavoro per l’elaborazione dei contenuti dei suddetti documenti.

4) Aggiornamenti epidemiologici sulle materie di competenza

Il nuovo Regolamento (UE) 2016/429 (“Animal Health Law”) e le norme comunitarie a esso collegate non contemplano la leptospirosi. L’infezione, in quanto zoonosi, è comunque, secondo la legislazione nazionale, soggetta a notifica, ma non sempre ciò si traduce in una registrazione dei casi accertati. Alle attuali carenze legislative si aggiunge la storica mancanza di piani di controllo a cui si associa il fatto che, nell’ambito degli allevamenti di animali da reddito, la leptospirosi non viene inclusa tra le infezioni da sottoporre a monitoraggio sistematico né, spesso, viene considerata tra le infezioni da monitorare in caso di acquisto.

Pertanto, in tema di animali da reddito (segnatamente bovini e suini) i dati epidemiologici si basano su controlli, quasi esclusivamente sierologici, che vengono attuati nel caso di sospetto clinico ovvero per compravendite.

Sulla base di quanto disponibile, è possibile affermare che nell’ambito degli allevamenti bovini il sierogruppo Sejroe mantiene inalterata la sua prevalenza, correlata alla circolazione della sierovariante Hardjo, di cui la specie bovina rappresenta l’ospite di mantenimento e che continua a essere causa di focolai. La cronica presenza dell’infezione causata da sierovariante Hardjo è legata anche all’assenza di programmi di profilassi vaccinale data la mancata presenza di un vaccino commerciale disponibile nel territorio nazionale. A tale mancanza è stato fatto fronte con la preparazione di auto-vaccini che però richiede tempi lunghi rendendo la disponibilità di tali prodotti non immediata. Nel bovino risulta ormai sporadica l’infezione da sierovarianti del sierogruppo Pomona.

Negli allevamenti suini sono prevalenti le infezioni causate dal sierogruppo Pomona spesso associate a quelle del sierogruppo Australis. Peraltro, la pratica vaccinale, negli allevamenti suini, oltre a consentire il controllo dell’infezione, ha determinato a una riduzione della prevalenza di sierogruppi (Tarassovi) in passato dominanti nelle popolazioni suine. Va ricordato che il sierogruppo Australis è presente non solo tra gli animali domestici ma anche negli animali selvatici che spesso condividono, tra loro, gli stipiti presenti nel territorio.

Tra gli animali da compagnia, il cane rappresenta un’importante sentinella dell’infezione con riscontri di positività principalmente per i sierogruppi Icterohaemorrhagiae e Australis, presenti anche in specie selvatiche che fungono da ospiti di mantenimento.

Nel periodo 01/10/2023 – 30/09/2024, sono stati inseriti, nel sistema SIMAN, 23 focolai di cui, di seguito, viene riportato il riepilogo.

REGIONE	BOVINO	CANE	CAVALLO	SUINO	ALTRE SPECIE	TOTALE
Veneto		8				8
Lazio		1	4			5
Lombardia		3				3
Liguria	1	1				2
Piemonte	2					2
Campania					1	1
Friuli Venezia-Giulia		1				1
Sardegna				1		1
Totale	3	14	4	1	1	23

Il numero di focolai registrati nel sistema SIMAN risulta maggiore, anche se di poco, rispetto alla precedente relazione nella quale era stato riscontrato un sensibile calo nelle registrazioni. Va sottolineato come dei focolai, tra cui alcuni che il CRNL ha seguito ufficialmente, non vengano, per motivi che al momento non sono noti, inseriti nel sistema.

RICERCA E SPERIMENTAZIONE

1) Progetti di ricerca finanziati dal Ministero della Salute

PRC2021111 (CUP: H79J21010820001) “Caratterizzazione e valutazione del rischio di Toxoplasma gondii e altri agenti patogeni, emergenti e non, nei prodotti alimentari di natura vegetale e animale” (capofila: IZS della Sicilia): il progetto, a cui il CRNL partecipa come Unità Operativa, è stato avviato il 15/12/2021 e avrà termine il 14/12/2023.

PRC2023103 (CUP: J19I23001620001) “Caratterizzazione dei ceppi batterici di origine animale ed umana con spettrometria di massa MALDI–TOF e Spettroscopia in Trasformata di Fourier” (capofila: IZS del Piemonte, Liguria e Valle d’Aosta): il progetto, a cui il CRNL partecipa come Unità Operativa, è stato avviato il 28/12/2023 e avrà termine il 27/12/2025.

AGGIORNAMENTO E FORMAZIONE PROFESSIONALE

1) Corsi che il CRNL ha organizzato o a cui ha partecipato

Organizzazioni:

Nel periodo di riferimento è stato organizzato, nella sede di Brescia dell’IZSLER, nei giorni 23 e 24 settembre 2024, il corso “Aggiornamenti in tema di leptosirosi animali”, destinato ai referenti della rete degli Istituti Zooprofilattici che si occupano della diagnosi delle leptosirosi animali o che sono coinvolti in attività di monitoraggio, sorveglianza e controllo e attività di ricerca.

L’incontro, a cui ha preso parte il personale di sette Istituti Zooprofilattici, ha avuto per scopo principale quello di presentare le attività svolte dal Centro di Referenza Nazionale per la Leptosirosi con particolare riferimento a: aggiornamenti sulle metodiche analitiche, organizzazione e risultati dei circuiti inter–laboratorio, flusso dati nell’ambito della rete degli Istituti. L’incontro ha anche costituito l’occasione per un aggiornamento sulle novità scientifiche (sono stati riportati, a questo proposito, i principali contenuti del “Joint events: the 13th conference of the International Leptospirosis Society and the 4th meeting of the European Leptospirosis Society and other rodent borne haemorrhagic fevers”, tenutosi a Bruxelles (Belgio) dal 2 al 4 settembre 2024, a cui il CRNL ha partecipato) nonché per un reciproco scambio di conoscenze finalizzato, tra l’altro, all’identificazione di strategie comuni per ottimizzare le attività svolte, in sede di diagnostica di laboratorio e in campo, nel settore della sorveglianza e del controllo delle leptosirosi animali.

2) Convegni/congressi che il CRNL ha organizzato o a cui ha partecipato

Partecipazioni:

Nel periodo di riferimento il personale del CRNL ha preso parte al “Joint events: the 13th conference of the International Leptospirosis Society and the 4th meeting of the European Leptospirosis Society and other rodent borne haemorrhagic fevers”, tenutosi a Bruxelles (Belgio) dal 2 al 4 settembre 2024.

Hanno preso parte al meeting Mario D’Incau e Cristina Bertasio che hanno presentato complessivamente (in qualità di primo autore o coautore) quattro poster.

3) Comitati scientifici e gruppi di lavoro a cui ha partecipato il personale del CRNL

The European Leptospirosis Society (ELS): Mario D’Incau è stato nominato membro del board dell’associazione scientifica dal 02/09/2024.

CONSULENZE, ATTIVITÀ DI DOCENZA, COLLABORAZIONI NAZIONALI

1) Consulenze richieste a esterni

Non sono stati richiesti, nel periodo di riferimento, consulenze o pareri tecnici a enti esterni.

2) Consulenze e pareri tecnici forniti a esterni

Sono stati formalmente seguiti i seguenti focolai:

- Leptosirosi bovina da *Leptospira* Hardjo (azienda 027MN018): contatto con il veterinario ufficiale ed espressione di pareri per la gestione e il controllo dei soggetti infetti. Focolaio chiuso.
- Leptosirosi da *Leptospira* Icterohaemorrhagiae (azienda 039BS044) coinvolgente ovini e cani oltre a un caso umano: contatto con il veterinario ufficiale ed espressione di pareri per la gestione e il controllo dei soggetti infetti. È stato dato supporto agli Spedali Civili di Brescia per prove sierologiche e di ricerca dell’agente eziologico nel paziente umano coinvolto. Focolaio chiuso.
- Leptosirosi bovina da *Leptospira* Pomona (azienda 042SS001): contatto con il veterinario ufficiale e con l’Istituto Zooprofilattico della Sardegna ed espressione di pareri per la gestione e il controllo dei soggetti infetti. Focolaio chiuso.
- Leptosirosi da *Leptospira* Icterohaemorrhagiae (azienda 042BS039) coinvolgente ovini, caprini e cani: contatto e sopralluogo con il veterinario ufficiale ed espressione di pareri per la gestione e il controllo dei soggetti infetti. Focolaio chiuso.

Sono inoltre in corso accertamenti presso l'azienda di bovini da ingrasso 036MN012 che ha visto l'infezione di un operatore causata da *Leptospira* sierogruppo Javanica.

Altre attività a favore di soggetti esterni:

- parere al gruppo di lavoro della Regione Piemonte relativo alla bozza di un protocollo per la gestione dei focolai che la Regione stessa intende adottare sul proprio territorio.
- supporto alla diagnosi, con esecuzione di prove di laboratorio, alle seguenti strutture di medicina umana che hanno conferito direttamente i campioni al CRNL:
 - Spedali Civili, Brescia: tre casi sospetti di cui uno confermato;
 - Azienda Ospedaliera Universitaria, Salerno (tramite IZS Mezzogiorno): tre casi sospetti di cui uno confermato;
 - Ospedale Civile, Imperia: due casi sospetti di cui uno confermato;
 - Ospedale Civico, Lanciano (tramite IZS Abruzzo e Molise): un caso sospetto non confermato.

3) Attività di docenza

Nel periodo di riferimento non sono state richieste docenze da soggetti esterni.

4) Formazione individuale

Stage individuale di:

- una studentessa dell'Università degli Studi Brescia (Corso di Laurea in Tecniche di Laboratorio Biomedico) dal mese di novembre 2023 al mese di settembre 2024: il personale del CRNL ha operato da tutor;
- una studentessa dell'Università degli Studi Bologna (Corso di Laurea in Tecniche di Laboratorio Biomedico) dal mese di luglio al mese di settembre 2024: il personale del CRNL ha operato da tutor e assistito lo studente nella elaborazione della tesi dal titolo "Valutazione delle performance di un saggio molecolare per la tipizzazione del sierogruppo di *Leptospira spp.*".

CONSULENZE E COLLABORAZIONI EUROPEE

La collaborazione, avviata lo scorso anno, con l'Università di Wageningen e con altre istituzioni europee per l'elaborazione di una proposta di finanziamento, nell'ambito di una COST (European Cooperation in Science and Technology) Action, continuerà nei prossimi mesi dato che tale proposta, pur avendo riportato un ragguardevole punteggio, non è stata accettata (dopo la conclusione, a maggio 2024, del processo di valutazione) e non si è quindi tradotta in un progetto.

Tale proposta riguarda la costituzione di una rete di collaborazione, comprendente sia laboratori di medicina umana che veterinaria, per la diagnosi e il controllo della leptospirosi ["Leptospirosis One Health Network (LEOHN)"].

CONSULENZE E COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

Nel periodo di riferimento non sono formalmente attive consulenze e collaborazioni a livello internazionale.

PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE E BROCHURE DIVULGATIVE

(Nota: gli autori facenti capo al CRNL sono identificati con il testo sottolineato)

- Magliocca, M.; Bertasio, C.; Taddei, R.; Urbani, L.; Facile, V.; Gallina, L.; Terrusi, A.; Sampieri, M.; Battilani, M.; Balboni, A. First detection of *Leptospira* ST198 related to *L. interrogans* serogroup Australis in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Emilia Romagna region (Italy). Atti del 77° convegno nazionale della Società Italiana delle Scienze Veterinarie, Parma, 12-14 giugno 2024: 423; 2024
- Magliocca, M.; Taddei, R.; Urbani, I.; Bertasio, C.; Facile, V.; Gallina, I.; Sampieri, M.; Rugna, G.; Rubini, S.; Maioli, G.; Terrusi, A.; Battilani, M.; Balboni, A. Molecular detection of viral and bacterial pathogens in red foxes (*Vulpes vulpes*) from Italy. *Animals* 14: article n. 1969; 2024
- Donneschi, A.; Recchia, M.; Romeo, C.; Pozzi, P.; Salogni, C.; Maisano, A.M.; Santucci, G.; Scali, F.; Faccini, S.; Boniotti, M.B.; D'Incau, M.; Maes, D.; Alborali G.L. Infectious agents associated with abortion outbreaks in Italian pig farms from 2011 to 2021. *Veterinary Science* 11: article n. 496; 2024
- D'Incau, M.; Moretti, A.; Ferrari, N. High *Leptospira* seroprevalence in free-living pond sliders (*Trachemys scripta*): which epidemiological role do they play? Proceedings of the Joint events: the 13th conference of the International Leptospirosis Society and the 4th meeting of the European Leptospirosis Society and other rodent borne haemorrhagic fevers – Bruxelles (Belgio), 2-4 settembre 2024: 132; 2024
- D'Incau, M.; Casà, G.; Gaffuri, A.; Gatti, M.; Bertasio, C. Application of a protocol for control/eradication of leptospirosis in a large dairy farm in Italy. Proceedings of the Joint events: the 13th conference of the International Leptospirosis Society and the 4th meeting of the European Leptospirosis Society and other rodent borne haemorrhagic fevers – Bruxelles (Belgio), 2-4 settembre 2024: 133; 2024
- Magliocca, M.; Bertasio, C.; Taddei, R.; Urbani, L.; Monari, E.; Facile, V.; Gallina, L.; Terrusi, A.; Sampieri, M.; Dondi, F.; Battilani, M.; Balboni, A. First detection of *Leptospira* ST198 related to *L. interrogans*

serogroup Australis in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Northern Italy. Proceedings of the Joint events: the 13th conference of the International Leptospirosis Society and the 4th meeting of the European Leptospirosis Society and other rodent borne haemorrhagic fevers – Bruxelles (Belgio), 2-4 settembre 2024: 144; 2024

- Bellinati, L.; Lucchese, L.; Ceglie, L.; Mazzotta, E.; Marchione, S.; Bertasio, C.; Natale, A. Updating the characterization of *Leptospira* spp. infecting symptomatic dogs: a possible role of intermediate strains? Proceedings of the Joint events: the 13th conference of the International Leptospirosis Society and the 4th meeting of the European Leptospirosis Society and other rodent borne haemorrhagic fevers – Bruxelles (Belgio), 2-4 settembre 2024: 213; 2024
- Filipe, J.; Lauzi, S.; Bullo, F.; D’Incau, M.; Meroni, G.; Martino, P.A.; Magistrelli, S.; Restelli, M.; Dall’ara P. *Leptospira* spp. antibody seroprevalence in stray dogs and cats a study in Milan, Northern Italy. *Veterinary Science* 11: article n. 478; 2024

BRESCIA, 20/11/2024

IL DIRIGENTE RESPONSABILE DEL CRNL

Mario D’Incau