



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

ATTIVITA' E AGGIORNAMENTI DIAGNOSTICI CRN-TB

M. L. Pacciarini

**Centro di Referenza Nazionale per la Tubercolosi Bovina
Laboratorio Nazionale di Riferimento per la Tubercolosi
Bovina**

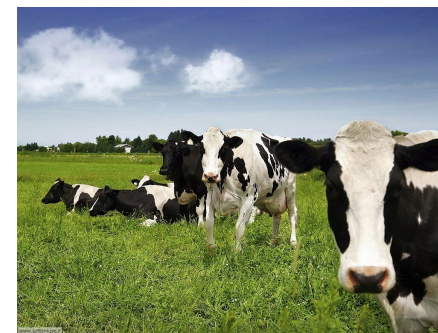
Workshop CRN-TB-21 Giugno 2022



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

Sommario

- Compiti e attività del CRN-TB e LNR-TB
- Aggiornamento flusso diagnostico del CRN-TB
- EURL-TB, SOP e Linee guida





ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

Centro di Riferenza Nazionale per la tubercolosi da *M. bovis*

Istituito con il
DM 4 Ottobre 1999 "Centri di riferimento nazionali
nel settore veterinario" IZSLER – Brescia

- Sviluppo e standardizzazione di nuovi test diagnostici
- Supporto diagnostico e tecnico al network IIZZSS
- Formazione e aggiornamento
- Organizzazione Ring Test
- Supporto tecnico e specialistico al Ministero della Salute





ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

Laboratorio Nazionale di Riferimento per la Tubercolosi Bovina (LNR-TB)



**EUROPEAN UNION REFERENCE LABORATORY
FOR BOVINE TUBERCULOSIS**

COMMISSION REGULATION (EC) No 737/2008



Ministero della Salute

DIREZIONE GENERALE DELLA SANITÀ ANIMALE
E DEI FARMACI VETERINARI

Ufficio II - Epidemiologia e anagrafi degli animali,
coordinamento degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali (IIZSS)
Viale Giorgio Ribotta, 5 - 00144 Roma
dgsa@postacert.sanita.it

Registro – Classif:

Allegati:

Ministero della Salute
DGSaF
0018320-P-29/07/2016



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
della Lombardia e dell'Emilia Romagna
c.a. Prof. Stefano Cinotti
via Bianchi 9- Brescia

Oggetto: designazione del Laboratorio Nazionale di Riferimento per la Tubercolosi bovina.

L'Art. 5 del Regolamento (CE) 737/2008 della Commissione ha emendato l'Allegato VII , parte II, del Regolamento (CE) n° 882/2004, individuando il Laboratorio de Vigilancia Veterinaria (VISA-VET) della Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spagna, quale Laboratorio Comunitario di Riferimento per la Tubercolosi bovina.

Ciò premesso, tenuto conto che presso codesto Istituto è localizzato il Centro di Referenza Nazionale per la Tubercolosi da M. bovis, istituito con D.M. 04/10/1999, sulla base dell'Art.33 del Regolamento (CE) n° 882/2004, si individua il suddetto Istituto quale "Laboratorio Nazionale di Riferimento per l'Italia per la Tubercolosi bovina".

Il Direttore Generale DGSaF
Dr. Silvio Borrelli

Referente/Responsabile del procedimento:
Catarci Pierfrancesco – 06.59946114
email: p.catarci@sanita.it

ℓ



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

Dati attività CRN-TB: campioni tessuto specie, anno e origine dei campioni



Bovino/bufalo	IZS	2016	2017	2018	2019	2020	2021
	IZSLER	83	55	104	311	236	349
	IZSPB	21	16	19	38	16	33
	IZSVe	20	5	23	25	23	10
	IZSM	37	237	107	0	1	0
	IZSSicilia	86	0	48	0	0	0
	Totale	247	313	301	374	276	392



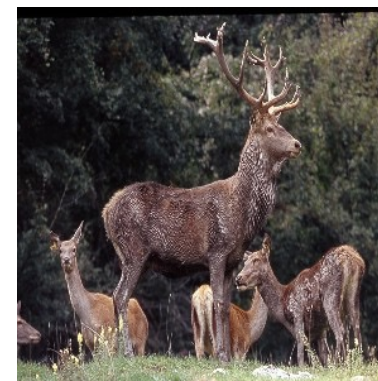


ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

Dati attività CRN-TB: campioni tessuto specie, anno e origine dei campioni



Specie selvatiche	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Cinghiali	343	185	155	131	166	200
Ruminanti selvatici	6	5	3	1	1	3
Volpi	1	0	0	0	0	0
Totale	350	190	158	132	167	203



Ceppi micobatteri *M.bovis/M.caprae*: specie, anno e origine dei campioni

IZS di origine	N° ceppi/DNA analizzati					
	2016	2017	2018	2019	2020	2021
IZSLER*	65	66	81	134	157	20
IZS-Mezzogiorno	246	161	205	187	48	45
IZS-Lazio/Toscana	0	0	0	24	0	0
IZS-Sicilia	430	401	122	156	154	256
IZS-Umbria-Marche	12	4	0	0	0	3
IZS Abruzzo Molise	47	9	0	16	3	0

* incluso gli isolati dei campioni dell'IZSVe e IZSPB

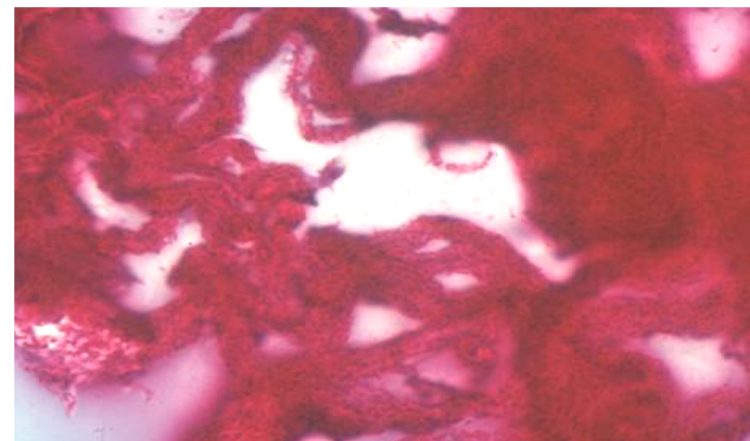




ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

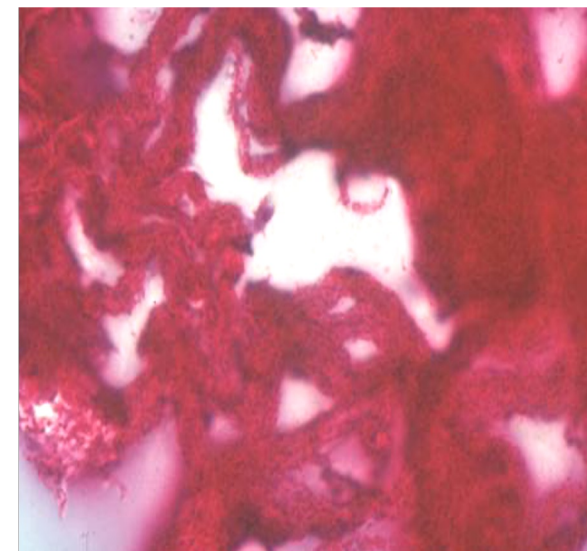
Database/ceppoteca dei ceppi di MTBC (*M. bovis* e *M. caprae*) 2000 – 2021

- **7270 isolati da 4353
focolai in allevamenti
di bovino/bufalo**
- **889 ceppi isolati da
altre specie animali**



Database dei ceppi di *M. bovis* e *M. caprae* 2000 – 2021: altre specie ospite

Specie ospite	N° ceppi isolati	Specie MTBC	Regione/i provenienza
Capra	17	<i>M. bovis</i>	LOM, PIE, SAR, SIC, PUG
Pecora	3	1 <i>M. caprae</i> , 2 <i>M. bovis</i>	LAZ, BAS
Suino	169	2 <i>M. caprae</i> , 158 <i>M. bovis</i>	LOM, VEN, MAR, SIC, CAL, PUG
Gatto	6	<i>M. bovis</i>	ER, SIC, CAL
Cane	2	<i>M. tuberculosis</i>	LOM
Suino nero	291	5 <i>M. caprae</i> , 286 <i>M. bovis</i>	SIC
Alpaca	1	<i>M. bovis</i>	LOM
Daino	20	<i>M. bovis</i>	LOM, SIC
Cinghiale	376	74 <i>M. microti</i> , 2 <i>M. caprae</i> , 300 <i>M. bovis</i>	LOM, SAR, PIE, CAL, CAM, MAR, PUG, SIC, UMB, ER
Cervo	1	<i>M. caprae</i>	LOM
Orso	1	<i>M. bovis</i>	ABR
Delfino	1	<i>M. bovis</i>	SIC
Istrice	1	<i>M. bovis</i>	MAR





ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

Database nazionale dei ceppi di *M. bovis*/*M. caprae*

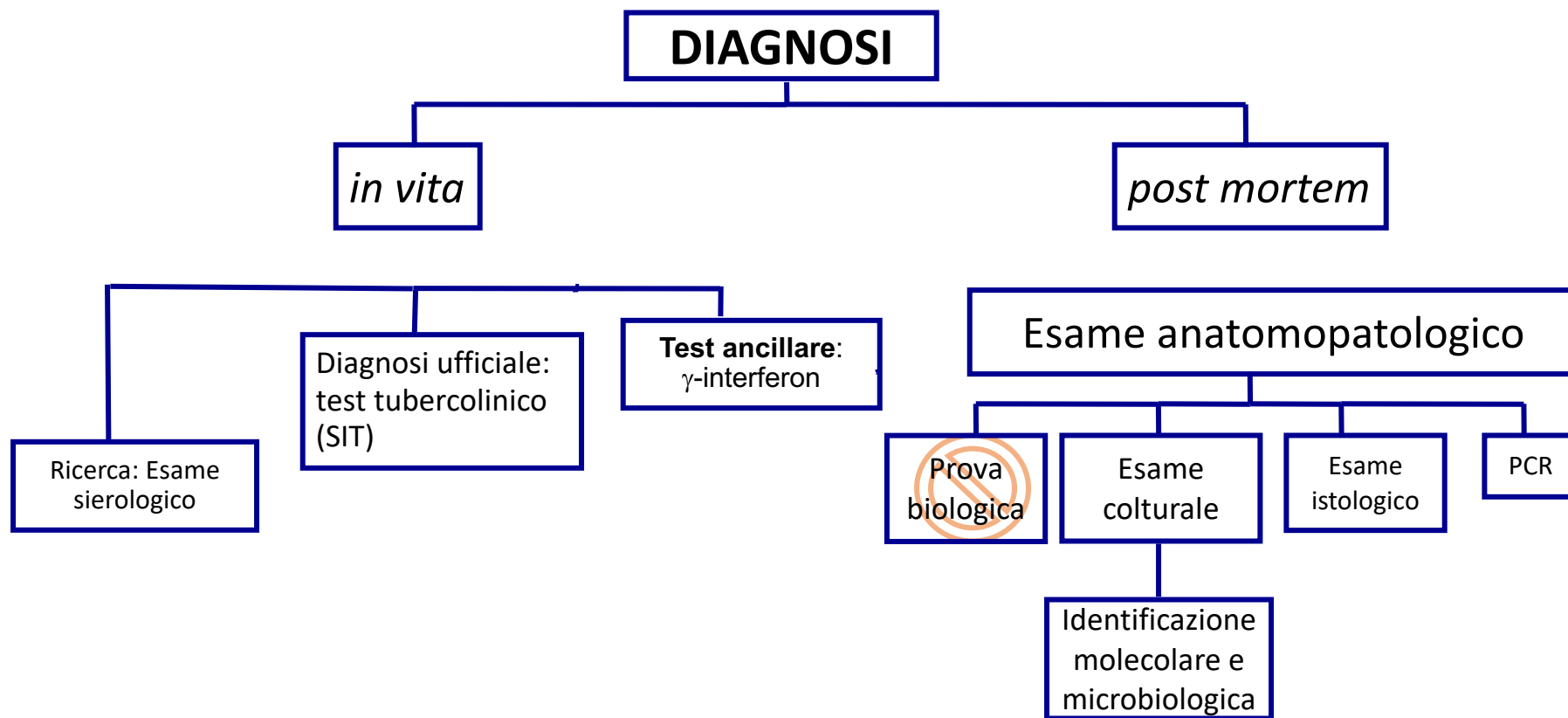
CRN-TB raccoglie ceppi *M. bovis*/*M. caprae* dal 2000
Collaborazione rete zooprofilattica nazionale

Contiene informazioni:

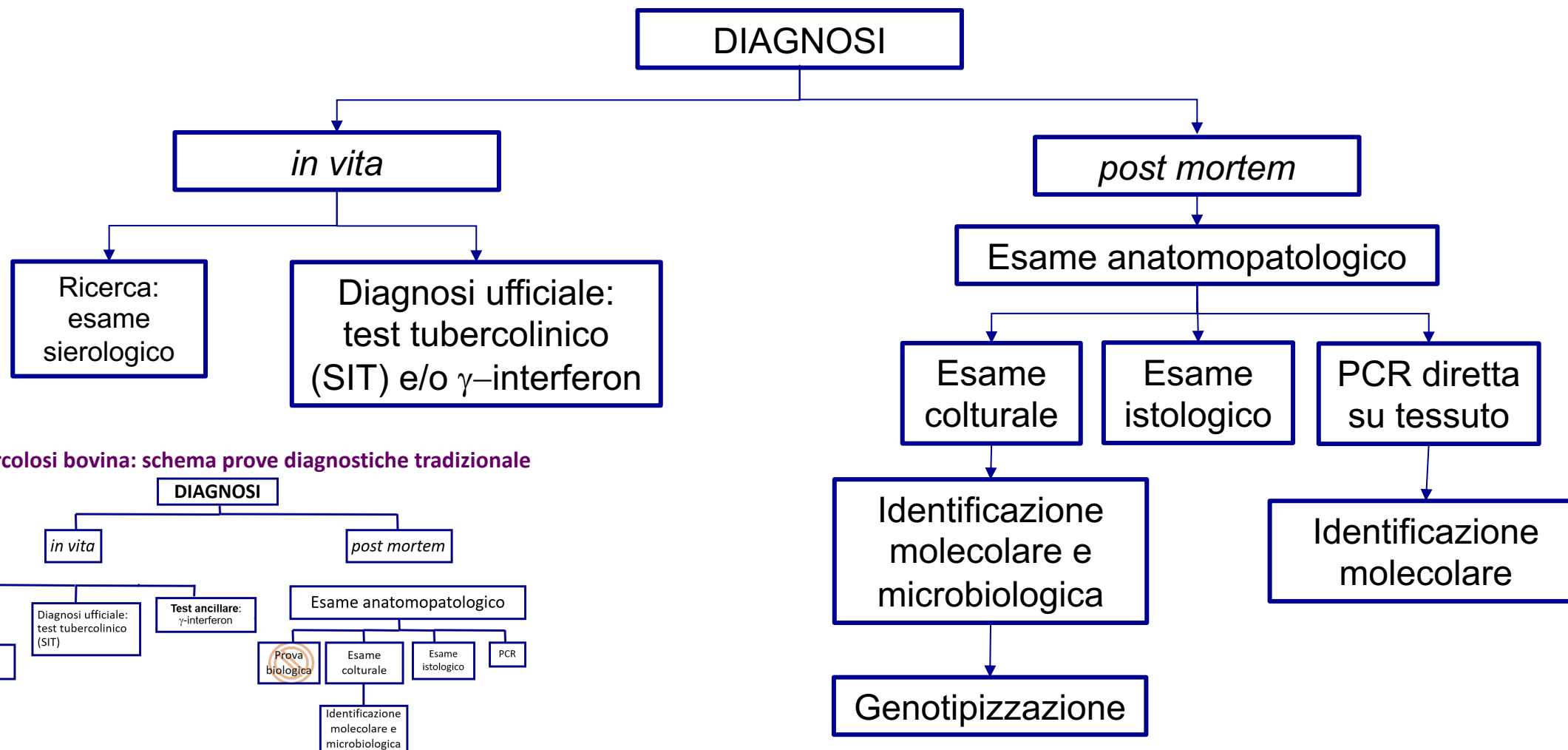
- Origine dei campioni
(azienda, anno)
- Specie ospite
- Localizzazione geografica
- Genotipi
- Rintracci epidemiologici
- Struttura genetica della
popolazione di *M. bovis*/*M. caprae*
presente in Italia



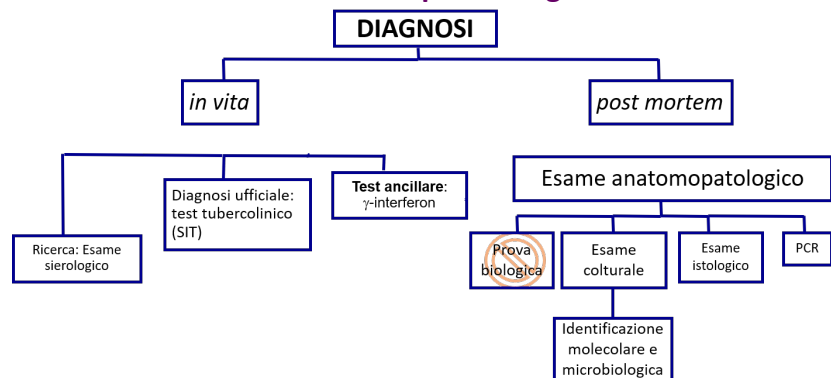
Tubercolosi bovina: schema prove diagnostiche tradizionali



Tubercolosi bovina: schema prove diagnostiche aggiornamento



Tubercolosi bovina: schema prove diagnostiche tradizionale





ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

Laboratori IZZSS coinvolti diagnosi di TB: approfondimenti diagnostici

Diagnosi *post-mortem*

Campioni tessuto: linfonodo/organo

Isolamento ed
identificazione
M. bovis/M. caprae

Rilevamento acido
nucleico MTBC

Diagnosi *in vita*

γ -interferon

Prelievi di sangue in allevamento:

- Movimentazioni (pre-moving test)
- Risanamento aziende
- Test primario (permesso dal nuovo regolamento)



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

Diagnosi Laboratorio TB: Riferimenti normativi

- Allegato 2 DM 592 (15 Dicembre 1995: Regolamento concernente il piano nazionale per l'eradicazione della tubercolosi negli allevamenti bovini e bufalini).
- OIE Terrestrial Manual 2016 (Chapter 2.4.6 Bovine Tuberculosis).
- Regolamento (EC) n° 1226/2002 del 8 Luglio 2002 (allegato B): **(abrogato)**
- OIE Terrestrial Manual 2021 (Chapter 3.4.6 Bovine Tuberculosis). (Ultimo aggiornamento cap. TB 2009, a breve uscirà nuovo aggiornamento)
- Regolamento (UE) 2016/429, Regolamento delegato (UE) 2020/689 e 2020/688 della Commissione.



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

Art. 6-2020/689: Metodi Diagnostici

Articolo 6

Metodi diagnostici

1. L'autorità competente assicura che il prelievo di campioni, le tecniche, la convalida e l'interpretazione dei metodi diagnostici ai fini della sorveglianza siano conformi:
 - a) alla normativa specifica adottata conformemente al regolamento (UE) 2016/429 e alle informazioni e alle indicazioni pertinenti rese disponibili sui siti web dei laboratori di riferimento dell'Unione europea e della Commissione;
 - b) se non contemplati dalla normativa, dalle informazioni e dalle indicazioni di cui alla lettera a), al prelievo di campioni, alle tecniche, alla convalida e all'interpretazione dei metodi diagnostici descritti nel manuale dei test diagnostici e dei vaccini per animali terrestri dell'Organizzazione mondiale per la salute animale (OIE) («manuale terrestre») ⁽²¹⁾ modificato o nel manuale diagnostico per le malattie degli animali acquatici dell'OIE («manuale acquatico») ⁽²²⁾ modificato;
 - c) se non contemplati alle lettere a) e b) del presente paragrafo, ai metodi di cui all'articolo 34, paragrafo 2, lettera b), e paragrafo 3, del regolamento (UE) 2017/625.
2. I metodi diagnostici per la concessione e il mantenimento dello status di indenne da malattia sono stabiliti:
 - a) nell'allegato III, sezione 1, per l'infezione da *Brucella abortus*, *B. melitensis* e *B. suis*;
 - b) nell'allegato III, sezione 2, per l'infezione da complesso *Mycobacterium tuberculosis* (*Mycobacterium bovis*, *M. caprae* e *M. tuberculosis*) (MTBC);



EUROPEAN UNION REFERENCE LABORATORY FOR BOVINE TUBERCULOSIS

COMMISSION REGULATION (EC) No 737/2008



Terrestrial Manual Online Access





ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

The EU-RL for Bovine Tuberculosis



EUROPEAN UNION REFERENCE LABORATORY FOR BOVINE TUBERCULOSIS

COMMISSION REGULATION (EC) No 737/2008

designating the Community reference laboratories for crustacean diseases, rabies and bovine tuberculosis, laying down additional responsibilities and tasks for the Community reference laboratories for rabies and bovine tuberculosis and amending Annex VII to Regulation (EC) No 882/2004 of the European Parliament and of the Council

2008

Following the completion of the selection procedure of a call for designation, the Laboratorio de Vigilancia Veterinaria (VISAVET) of the Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain, should be designated as the Community reference laboratory for bovine tuberculosis.



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

The EU-RL for Bovine Tuberculosis

Responsibilities and tasks of European Union Reference Laboratories

REGULATION (EU) 2017/625 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL

OCR 2017/625
Article 94

In summary.....

1. To ensure availability and use of high quality methods and to ensure high quality performance by NRLs.
2. To provide scientific and technical assistance to NRLs.
3. To provide scientific and technical assistance to European Commission and other organisations.
4. Reagents and Reference Collections.
5. Requirements related to other legislation.



EU-RL Work Programme

A questo si aggiunge l'armonizzazione dei Metodi utilizzati nella UE e ring test...

The EU-RL for Bovine Tuberculosis



Candidates countries	Albania
	Republic of North Macedonia
	Montenegro
	Serbia
	Turkey
Potential candidate countries	Bosnia and Herzegovina
	Kosovo
EFTA (European Free Trade Association) countries	Iceland
	Liechtenstein
	Norway
	Switzerland
Third Counties	RELABSA Laboratories (Algeria, Egypt, Israel, Mauritania, Morocco, Tunisia)
	United Kingdom (except NI-Irish NRL)
	Other countries

Participation & funding EU-RL activities – consultation with EC
(ring trials, training mobilities, workshops, etc.)



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

The EU-RL for Bovine Tuberculosis

Standard Operative Procedures (SOP):

- Gamma-interferon (BOVIGAM)

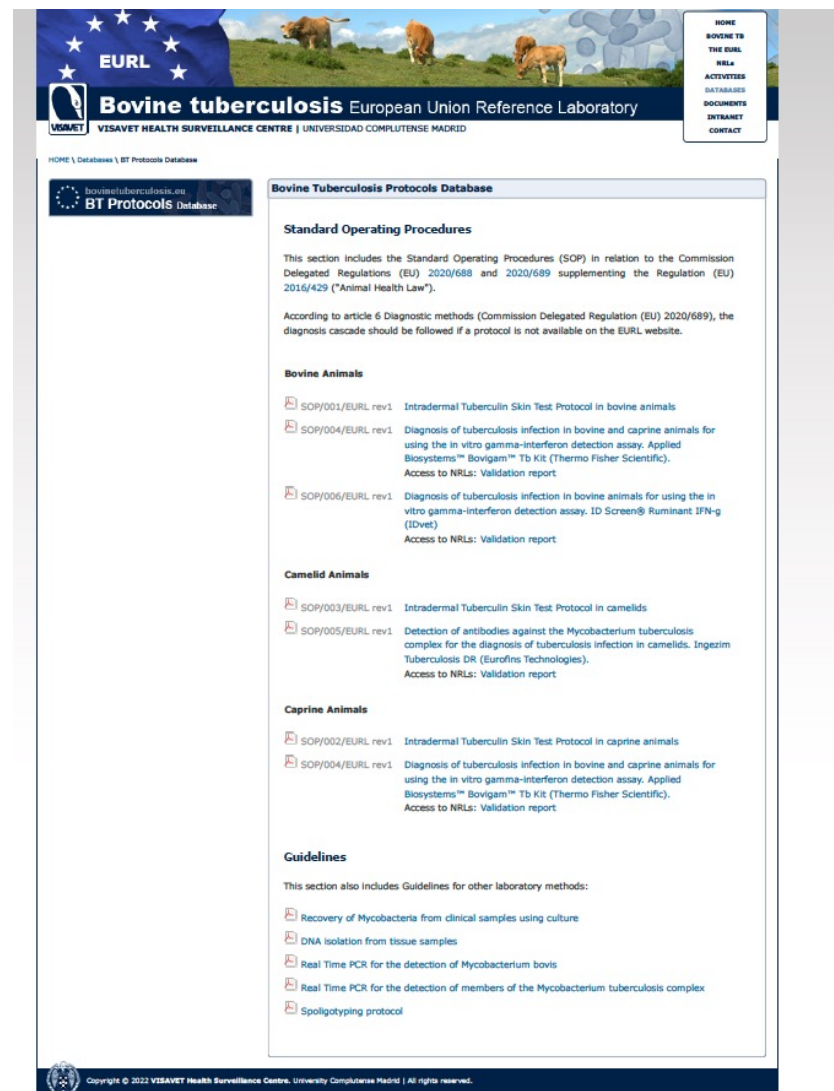
SOP/004/EURL rev1

- Gamma-interferon (IDVET)

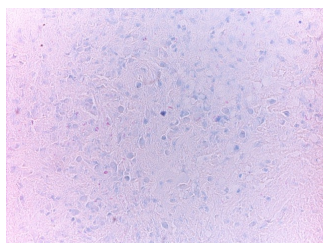
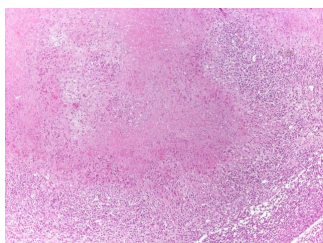
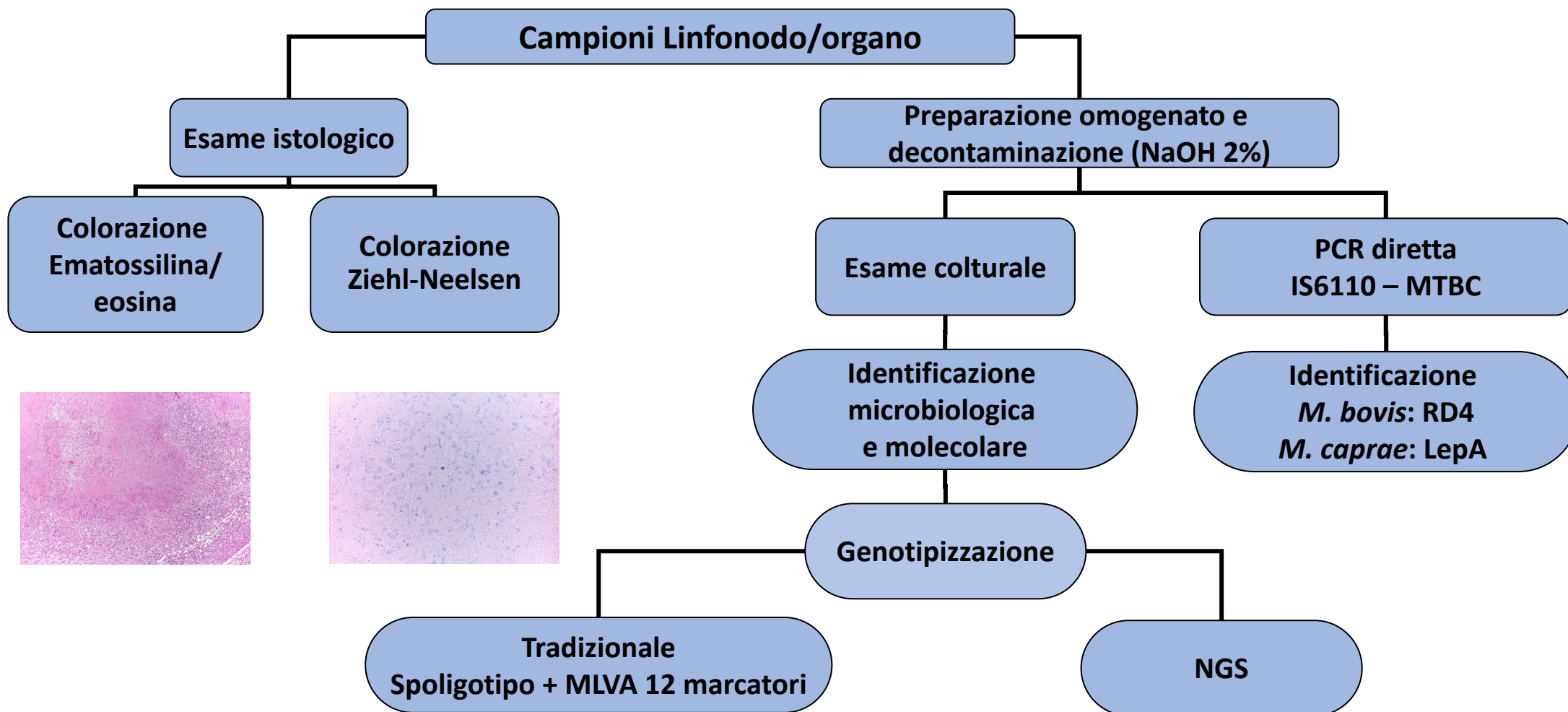
SOP/006/EURL

Guidelines:

- Recovery of Mycobacteria from clinical samples using culture
- Real Time PCR for the detection of members of the *Mycobacterium tuberculosis* complex: target IS6110
- Real Time PCR for the detection of *Mycobacterium bovis*: target RD4



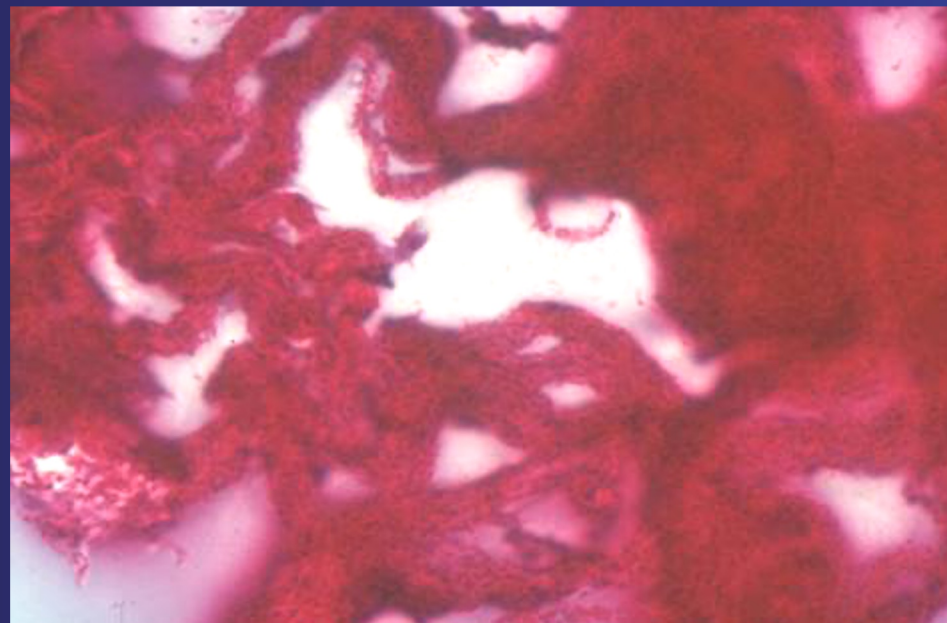
Percorso diagnostico utilizzato presso il CRN-TB Cagnatone





ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

**GRAZIE PER LA
VOSTRA
ATTENZIONE**



Si ringraziano i colleghi e collaboratori del CRN-TB