



Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
delle Regioni Lazio e Toscana



# Attività dei centri di referenza e di ricerca

*Gian Luca Autorino*

*Firenze 11 Giugno 2014*





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
delle Regioni Lazio e Toscana



## **Attività dei centri di referenza e di ricerca**

- Le attività dei centri di referenza si alimentano con le attività di ricerca e l'attività di ricerca alimenta i centri di referenza
- Ricerche correnti e ricerche di base per lo sviluppo e la standardizzazione dei metodi, lo sviluppo di piani di controllo e sorveglianza, la definizione della situazione epidemiologica
- La produzione scientifica ed i criteri di finanziamento della ricerca





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
delle Regioni Lazio e Toscana



## Centri di referenza IZSLT - CRAIE

### D.M. 4 dicembre 1976 Profilassi dell'anemia infettiva degli equini

.....omissis...."Considerata la necessità di disporre che la prova di Coggins possa essere effettuata presso un congruo numero di istituti e laboratori dislocati nelle varie parti del territorio nazionale e che l'istituto zooprofilattico sperimentale del Lazio e della Toscana, sezione di Pisa, funzioni come centro di riferimento"



decreta

Art. 1

1. Il decreto del Ministro della salute 14 aprile 2011 è revocato.

Art. 2

1. Le funzioni di "Centro di referenza nazionale per l'anemia infettiva degli equini" sono assegnate all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana.

Il presente decreto sarà trasmesso al competente organo di controllo e successivamente pubblicato nella Gazzetta Ufficiale della Repubblica italiana.

IL MINISTRO





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
delle Regioni Lazio e Toscana



## Centri di referenza IZSLT - CeRME

**MINISTERO DELLA SANITA' DECRETO 4 ottobre 1999**

### **Centri di referenza nazionali nel settore veterinario.**

Art. 6. Presso la sede centrale dell'Istituto zooprofilattico sperimentale per il Lazio e la Toscana è attivato il "Centro di referenza nazionale per le malattie degli equini".

Art. 2. Compiti

- a) conferma, ove previsto, la diagnosi effettuata da altri laboratori;
- b) **attua la standardizzazione delle metodiche di analisi;**
- c) **avvia, in collaborazione con l'Istituto superiore di sanità idonei "ring test" tra istituti;**
- d) **produce, si rifornisce, detiene e distribuisce agli altri istituti zooprofilattici sperimentali o agli altri enti di ricerca i reagenti di referenza, quali antigeni, anticorpi e antisieri;**
- e) **utilizza e diffonde i metodi ufficiali di analisi;**
- f) organizza corsi di formazione per il personale degli altri istituti zooprofilattici sperimentali;
- g) **fornisce agli altri istituti zooprofilattici sperimentali e agli altri enti di ricerca le informazioni relative alle novità nel settore specialistico;**
- h) **predispone piani di intervento;**
- i) collabora con altri Centri di referenza comunitari o di Paesi terzi;
- l) **fornisce al Ministero della sanità assistenza ed informazioni specialistiche.**

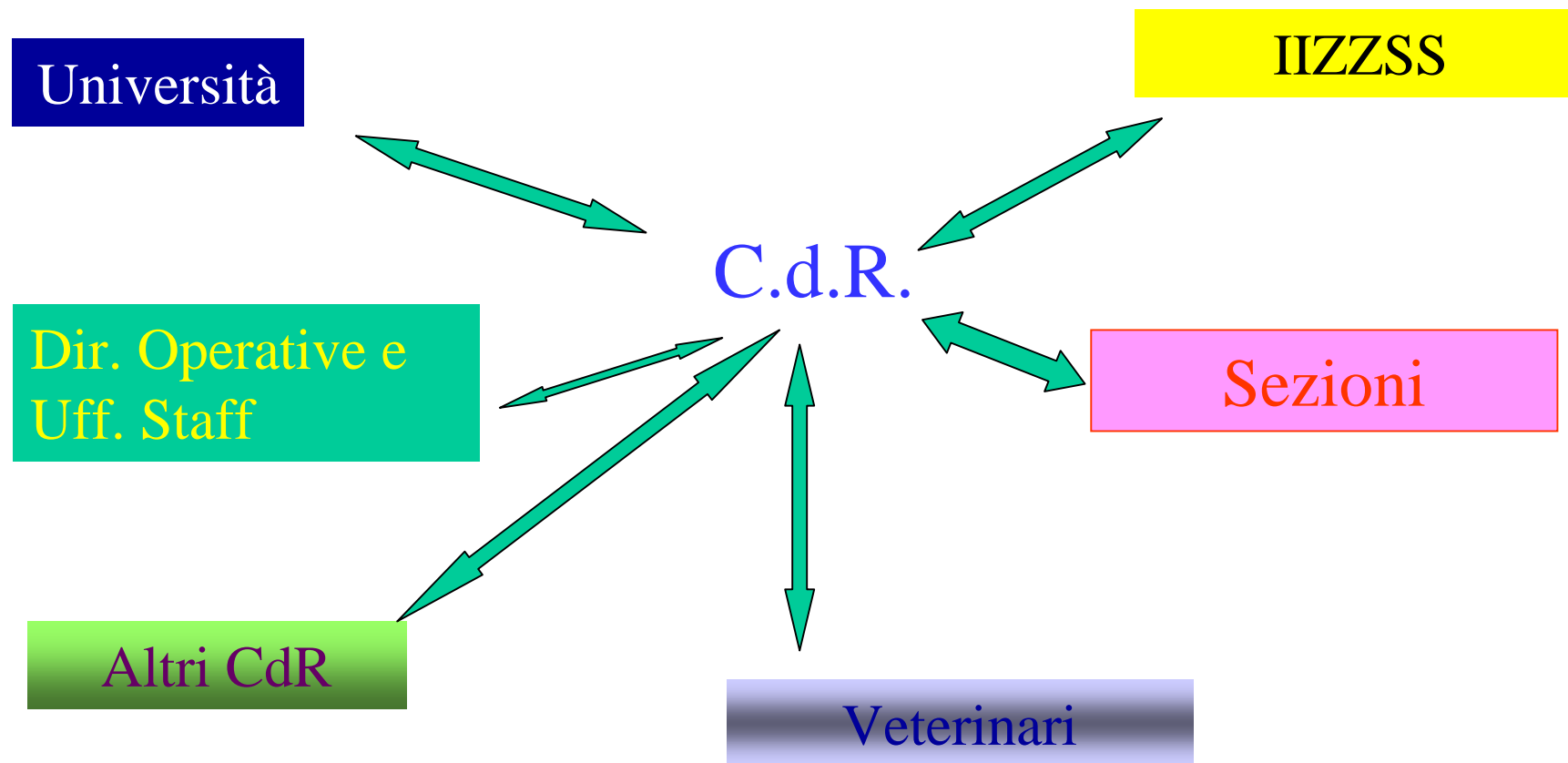




Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
delle Regioni Lazio e Toscana



## Coinvolgimento operativo







Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
delle Regioni Lazio e Toscana



## **Alcuni esempi di progetti di ricerca applicata dei centri**

- RC 98 Sviluppo di metodiche ELISA per la diagnosi dell'AIE mediante l'impiego di antigeni ricombinanti ed anticorpi monoclonali***
- RC 03 Studio di prevalenza sulle principali malattie virali degli equini (Lista B O.I.E.) anche mediante l'utilizzo di metodiche innovative. Sperimentazione e sviluppo di un protocollo di sorveglianza della Influenza Equina e valutazione dei fattori di rischio associati all'insorgenza di focolai epidemici.***
- RC 05 Sviluppo di metodi diagnostici per la sorveglianza delle neuropatologie di origine virale degli equini.***
- RC 08 RC Anemia Infettiva degli Equini: valutazione di un nuovo protocollo di screening nell'attuazione del Piano di sorveglianza nazionale e verifica della concordanza fra metodiche disponibili; studio dei principali fattori di rischio nei cluster geografici di infezione; valutazioni cliniche, immunologiche e virologiche in equidi naturalmente infetti.***
- RC 09 Valutazione di nuove strategie per la sorveglianza dell'infezione da virus West Nile.***
- RC 010 Valutazioni diagnostiche, patogenetiche ed epidemiologiche finalizzate all'acquisizione di elementi per l'analisi del rischio della diffusione dell'anemia infettiva equina.***
- RC 011 Stima delle prevalenze delle infezioni da Babesia caballi e Theileria equi ed Anaplasma phagocytophilum nelle regioni Lazio e Toscana. Messa a punto di metodi quantitativi ed analisi di differenti metodi diagnostici in uso in relazione allo stato sanitario dei soggetti infetti.***





## **Art. 2 DM 1999, lettera b) attua la standardizzazione delle metodiche di analisi**

- ***messi a punto metodi Real-time PCR, basati sulla selezione di target molecolari altamente conservati del gene gE dell'Equine Herpesvirus 1 (Damiani et al. 2005), del gene NS2 del virus West Nile, in grado di rilevare genoma virale dei lineages 1 e 2 attualmente circolanti in Europa e in Italia (Cersini et al 2007) e del gene M del Borna Disease virus (Cersini et al 2008),***
- ***ELISA competitiva in fase solida per la ricerca di anticorpi totali nei confronti di WNV.***
- ***AIE - ridefinita la strategia diagnostica che dovrà prevedere metodi tradizionali ed innovativi***
- ***Piroplasmosi - Messa a punto di metodi diagnostici molecolari quantitativi per valutare la correlazione con sintomatologia clinica, parametri ematobiochimici e sierologici ai fini dello sviluppo di algoritmi diagnostici***



## **Art. 2 DM 1999, lettera c): avvia, idonei "ring test" tra istituti**

- *organizzazione ed esecuzione di prove interlaboratorio per la diagnosi molecolare della Rinopolmonite, dell'Influenza Equina e della West Nile Disease*
- *ELISA competitiva in fase solida per la ricerca di anticorpi totali nei confronti di WNV - realizzato un circuito interlaboratorio per la validazione a quale hanno partecipato i 9 IZZSS*
- *AIE – organizzazione annuale di ring test che prevedono l'impiego di più metodi di screening*
- *EVA - organizzazione di ring test sierologici (SN) e virologici su sperma equino (PCR e TC)*







Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
delle Regioni Lazio e Toscana



**Art. 2 DM 1999, lettera e): utilizza e diffonde i metodi ufficiali di analisi**

**Art. 2 DM 1999, lettera d): produce, si rifornisce, detiene e distribuisce agli altri istituti zooprofilattici sperimentali i reagenti di referenza**

- *Validati 3 metodi Real-time PCR, per la ricerca simultanea e la diagnosi differenziale di tre encefalomieliti virali degli equidi attraverso un circuito interlaboratorio svolto secondo le specifiche del Manual of Diagnostic Tests and Vaccines dell'OIE, a cui hanno partecipato 17 laboratori nazionali ed esteri.*
- *Validato un test sierologico ELISA competitivo per l'AIE, secondo requisiti e specifiche OIE e valutato il grado di concordanza dei test sierologici del commercio ai fini di una loro utilizzazione nell'ambito della Sorveglianza*
- *WN - produzione di proteine ricombinanti per lo sviluppo di metodi diagnostici innovativi alternativi/integrativi a quelli disponibili per la diagnosi d'infezione in soggetti vaccinati*
- Produzione e distribuzione a tutte le sedi periferiche degli IZZSS dei reagenti, materiali di riferimento standardizzati e substrati cellulari (AIE, EVA, EHV1/4, Ceppi batterici, etc.)





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
delle Regioni Lazio e Toscana



## **Art. 2 DM 1999, lettera g): fornisce informazioni relative alle novità nel settore specialistico**

- *definito il quadro relativo a presenza, prevalenza e dinamica delle malattie virali equine sul territorio nazionale con particolare riferimento ad influenza equina, arterite virale, EHV 1, EHV 4 ed Anemia Infettiva Equina (AIE)*
- *caratterizzati gli stipiti virali circolanti e condotte valutazioni epidemiologiche*
- *definite procedure operative e flusso informativo e sperimentato un sistema di sorveglianza per la rilevazione precoce di focolai di malattie respiratorie (influenza e rinopolmonite) negli ippodromi, e successiva valutazione dei fattori di rischio connessi all'insorgenza degli stessi*
- *Caratterizzati gli stipiti di EHV1 isolati in Italia dagli anni '90 con una duplex real-time Taq-Man® PCR in grado di rilevare la discriminazione allelica dei ceppi classici (A2254) e mutanti (G2254) a livello della ORF 30*
- *misurate le performance dei test sierologici utilizzati per lo screening di massa dell'AIE nell'ambito delle attività previste dai PNS, definendo la proporzione dei falsi positivi e dei falsi negativi rispettivamente dell'ELISA e dell'AGID,*





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
delle Regioni Lazio e Toscana



## **Art. 2 DM 1999, lettera g): fornisce informazioni relative alle novità nel settore specialistico (2)**

- *chiarito il ruolo delle diverse specie di equidi nel mantenimento e nella diffusione dell'AIE nelle diverse condizioni ambientali anche in relazione agli stipiti virali circolanti e valutata la dinamica dell'infezione in muli naturalmente infetti che presentavano i differenti pattern sierologici nei confronti dei metodi sopra citati.*
- *Individuazione di nuove specie animali da utilizzare come sentinelle nei piani di sorveglianza valutando la sensibilità per WNDV verificando la propensione delle diverse specie di vettori a nutrirsi su di esse*
- *Definita la prevalenza delle infezioni sostenute da B. caballi, T. equi e A. phagocytophilum in popolazioni equine autoctone del Lazio e della Toscana.*



**Art. 2 DM 1999, lettera g): fornisce informazioni relative alle novità nel settore specialistico**

Le pagina Web del CRAIE (<http://195.45.99.82:900/>) e del CeRME (<http://195.45.99.82:700/>) sono periodicamente aggiornate con specifiche informazioni specialistiche su

- Situazione epidemiologica nazionale ed internazionale
- Progetti di ricerca
- Pubblicazioni dei centri e bibliografia
- Normative
- Documenti tecnici
- Report



## Art. 2 DM 1999, lettera h): predisporre piani di intervento

- *realizzato il flusso informativo finalizzato alla raccolta ed alla aggregazione dei dati relativi al Piano Nazionale di Controllo dell'Arterite Virale degli Equini (O.M. 13 gennaio 1994)*
- Gestione del sistema informativo dell'AIE, realizzato su Web, in funzione dell'aggiornamento delle attività del Piano di sorveglianza e della reportistica periodica al Ministero ed alle Regioni e Province autonome
- Proposte di piani di controllo e sorveglianza

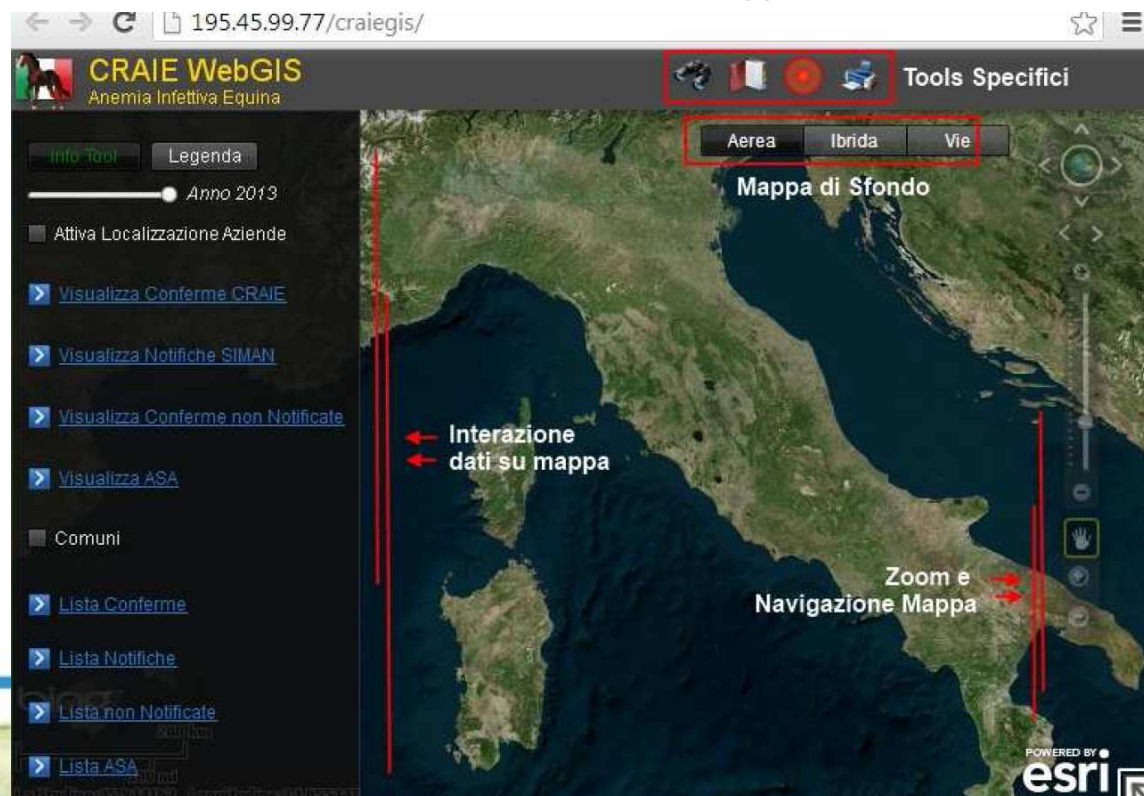




## Art. 2 DM 1999, lettera h): predisporre piani di intervento

AIE - software funzionale all'integrazione fra dati di conferma diagnostica e di notifica di focolai su SIMAN, con livelli di reportistica statica e dinamica,

Creata della sezione GIS con strumenti di navigazione evoluta e alert attraverso la definizione dei layers e della struttura dei messaggi popup sui focolai e relative informazioni accessorie, in funzione dell'obiettivo legato alla realizzazione di un nuovo sistema di sorveglianza basato su controlli più intensi nei cluster storici di infezione e nelle aree a maggior rischio



## Art. 2 DM 1999, lettera l): fornisce al Ministero della sanità assistenza ed informazioni specialistiche.

- Attività di reportistica



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE  
DELLE REGIONI LAZIO E TOSCANA  
(D.L.vo 30.06.1993 n. 270)  
SEDE - 00178 Roma/Capannelle - Via Appia Nuova, 1411  
Tel. 06 790991 (centralino) - Fax 06 79340724  
<http://www.izslt.it> - e-mail: [webmaster@izslt.it](mailto:webmaster@izslt.it)

CENTRO DI RIFERENZA NAZIONALE  
PER L'ANEMIA INFETTIVA DEGLI EQUINI (CRAIE)

OSSERVATORIO EPIDEMIOLOGICO (OEVR)

Prot:

Prot:

izslt - Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio  
e Toscana  
IZS LT - IZS LT  
REGISTRO UFFICIALE  
Prot. n. 0002309 / 07-03-2013 - USCITA

Al Direttore Generale

Al Direttore Ufficio II

Direzione generale Sanità Animale  
e Farmaco Veterinario  
Dipartimento Sanità Pubblica Veterinaria  
Ministero della Salute  
Via G. Ribotta 5, 00100 Roma

Report Piano AIE 2011-2012 (OM 8 agosto 2010)

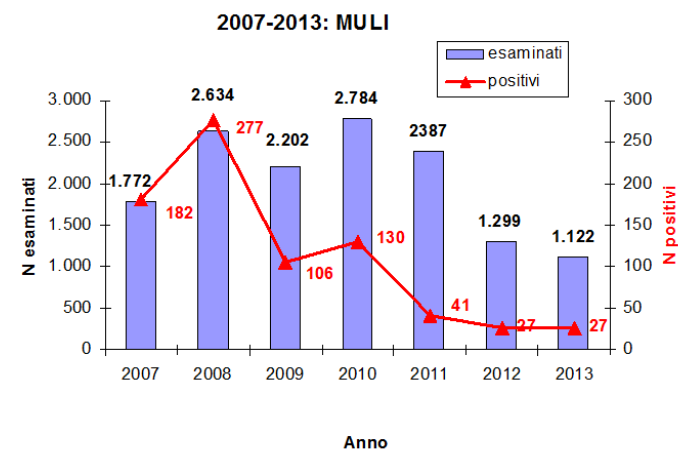
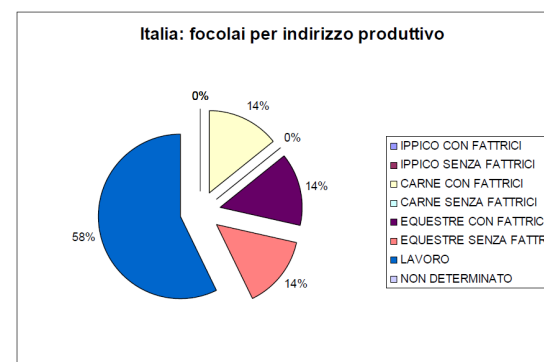


Figura 6. aziende confermate positive nel 2013 in Italia in base all'orientamento produttivo





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
delle Regioni Lazio e Toscana



## Art. 2 DM 1999, lettera l): fornisce al Ministero della sanità assistenza ed informazioni specialistiche.

- Formulazione  
Pareri tecnici

### Conclusioni

Nel 2013, decadute le prescrizioni dell'Ordinanza 06/08/2010, risulta evidente la drastica riduzione dell'intensità di sorveglianza a livello nazionale, poiché le singole regioni hanno operato applicando secondo propri orientamenti le raccomandazioni della DGSAF.

Pertanto, si ritiene che la diminuzione del numero di focolai individuati e dei capi positivi confermati dipenda dalla modesta sensibilità complessiva del sistema di sorveglianza localmente adottato e non dalla reale riduzione dell'incidenza dell'AIE.

Tale considerazione è in particolare da riferire alle regioni centrali e meridionali classificate ad alto rischio per AIE individuate dalla sorveglianza 2007-2012 (percentuale di aziende controllate inferiore al 50% e/o prevalenze di aziende positive  $\geq 0,5\%$  rispetto a quelle registrate in BDN), in cui i pochi controlli effettuati sono stati quasi esclusivamente orientati verso categorie di equidi storicamente classificate come a minor rischio, pur essendo ancora considerevole la presenza di aziende ad indirizzo produttivo da lavoro ed ancora intenso l'allevamento del mulo.

Il mancato reclutamento di focolai di infezione nel 2013 in queste regioni, in assenza di un provvedimento centrale che uniformi i criteri di attività, determina la possibilità che animali ed aziende in realtà infetti possano costituire un rischio reale per la persistenza dell'AIE nelle aree a rischio e, al tempo stesso, la sua diffusione anche verso regioni che hanno raggiunto uno stato sanitario più favorevole sulla base delle evidenze della sorveglianza 2007-2012 e delle azioni di controllo attivamente esercitate.

L'esempio di sorveglianza risk-based adottata dalla Regione Lazio dimostra che il sistema possa mantenere un'adeguata sensibilità anche attraverso la diminuzione della densità e della numerosità dei controlli, rispetto all'attività massiva condotta nel periodo 2007-2012.







Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
delle Regioni Lazio e Toscana



# Strumenti

- Collaborazione
- Qualità dell'informazione
- Qualità del materiale biologico
- Presenza attiva sul territorio

