



**ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE  
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA**

Via Bianchi 9 - 25124 Brescia

**CENTRO NAZIONALE DI REFERENZA  
PER LE MALATTIE VESCICOLARI  
(CERVES)**

Tel. 030-2290310 Fax 030-2290369



**OIE REFERENCE LABORATORY FOR FOOT AND MOUTH DISEASE**

**OIE REFERENCE LABORATORY FOR SWINE VESICULAR DISEASE**



**FAO REFERENCE CENTRE FOR FOOT-AND-MOUTH DISEASE  
AND SWINE VESICULAR DISEASE**

**Relazione annuale 2018**

**Periodo di riferimento 01/10/2017 – 30/09/2018**

**Decreto 2 Novembre 1991**

*Documento prodotto in originale informatico firmato digitalmente (dott.ssa Emiliana Brocchi)  
ai sensi del "Codice dell'Amministrazione Digitale" D.Lgs. 82/2005 e s.m.i.*

## ATTIVITA' SVOLTA

### Attività diagnostica

#### **Standardizzazione e validazione di metodiche diagnostiche**

I Metodi di Prova (MP) adottati dal CERVES seguono, ove esistenti, riferimenti normativi specifici.

Tutte le prove diagnostiche basate su metodiche ELISA sono state sviluppate dal Centro di Referenza, con l'utilizzo di anticorpi monoclonali prodotti e caratterizzati nell'arco di anni. Le metodiche sono state sottoposte a processo di validazione riconosciuto a livello internazionale. Il Manuale OIE riconosce le variazioni metodologiche che contemplano l'utilizzo di anticorpi monoclonali, quindi i test in uso presso il CERVES non deviano rispetto ai riferimenti normativi.

I MP per Afta e Malattia Vescicolare del Suino sono soggetti a verifica annuale nel corso dei Proficiency Test internazionali organizzati dal EURL (The Pirbright Institute, UK). I test di Sieroneutralizzazione e Real Time RT-PCR per Stomatite Vescicolare sono verificati mediante circuito interlaboratorio biennale organizzato dal EURL (ANSES, Francia).

Inoltre, tra le tecnologie diagnostiche più avanzate, Il CERVES dispone di:

- test per la determinazione del profilo antigenico degli isolati di Afta, MVS e EMC utilizzando pannelli caratterizzati di anticorpi monoclonali,
- sequenziamento di parti genomiche dei ceppi di virus aftosi, virus MVS e virus EMCV, finalizzato ad analisi filogenetiche, avvalendosi della collaborazione del Reparto di Genomica per le reazioni di sequenziazione;
- Next Generation Sequencing (NGS) per la sequenziazione di genomi virali completi, avvalendosi della collaborazione della Sezione Diagnostica di Parma dove è in funzione lo strumento Illumina Myseq. È utile rilevare come questo strumento di approfondita caratterizzazione dei virus, seppur non utilizzato come mezzo diagnostico, stia divenendo indispensabile per l'attività di ricerca e sviluppo del CERVES, ma anche in considerazione del livello di approfondimento che viene richiesto ai laboratori internazionali.

#### **Sviluppo, miglioramento e validazione di metodi diagnostici per Afta Epizootica**

Kit ELISA per diagnostica AFTA: Tutti i metodi immunoenzimatici (ELISA) per la diagnostica di afta sono stati nel corso dei recenti anni trasformati in kit di nuova generazione stabilizzati e all-inclusive; come da Tabella 1a questi comprendono una gamma di cinque kit sierologici per la dimostrazione di anticorpi sierotipi-specifici verso i sierotipi O, A, Asia1, SAT1 e SAT2, un kit sierologico DIVA per la differenziazione tra vaccinati e infetti, e il kit per la diagnosi virologica, attraverso dimostrazione e sierotipizzazione di virus aftosi in campioni clinici (utile anche in associazione con l'isolamento virale per l'identificazione degli isolati).

Durante il periodo di questa rendicontazione, in collaborazione e partnership con World Reference Laboratory (WRL, Pirbright, UK) è continuato il processo di validazione continua dei kit ELISA, in particolare:

- La sensibilità del kit per la diagnosi di afta in campioni clinici, basato su una selezione di anticorpi monoclonali, è stata paragonata a quella del molto più indaginoso test ELISA policlonale del FMDWRL, utilizzando isolati di virus aftosi che rappresentano sierotipi, topotipi e lineaggi circolanti tra il 1964 e 2018, rappresentanti tutti i sette sierotipi O (n=99), A (n=52), C (n=5), Asia1 (n=22), SAT1 (n=22) e SAT2 (n=52). Il kit ELISA (monoclonale) è stato valutato anche con isolati virale che avevano prodotto risultati negativi o borderline con l'ELISA Policlonale O (n=60), A (n=18), Asia1 (n=1) and SAT2 (n=1). La specificità è stata ulteriormente analizzata esaminando virus che causano segni clinici simili all'afta. È stata osservata una buona concordanza tra i test, tuttavia il kit ELISA monoclonale ha dimostrato una sensibilità maggiore sia con virus isolati che con campioni clinici di lesioni epiteliali. Infatti, il kit ELISA monoclonale ha identificato tutti i virus aftosi, tranne due recenti isolati del topotipo O/CATHAY, sfuggiti alla diagnosi con l'ELISA tradizionale. Nessuna cross-reaazione è stata osservata con altri virus vescicolari. La conclusione dello studio di validazione è stata che il kit ELISA (monoclonale) è un test semplice e robusto per la diagnosi e sierotipizzazione di afta, con una sensibilità del 90% rispetto all'83% del test storico di riferimento.
- È stato completato, sempre in collaborazione con FMDWRL, lo studio del livello di cross-reattività tra anticorpi dei diversi sierotipi aftosi, identificati con i kit ELISA-IZSLER e altri due test ELISA in-house di riferimento: LPBE e SPCE. Per lo studio sono stati utilizzati 365 sieri sperimentali monovalenti, rappresentanti tutti i sette sierotipi: O (n=116), A (n=120), C (n=18), Asia 1 (n=61), SAT 1 (n=14), SAT 2 (n=30) e SAT 3 (n=6). Ogni siero è stato analizzato con i tre metodi per anticorpi verso i cinque sierotipi O, A, Asia1, SAT1 e SAT2. Come atteso, un livello simile di cross-reattività sierologica è stato osservato per tutte le tre ELISA e per tutti i sette sierotipi, sebbene la sensibilità più alta era espressa nei confronti del sierotipo omologo.

#### Metodi molecolari:

- È stato introdotto nell'uso routinario per la ricerca del virus MVS nella sorveglianza virologica prevista dal Piano Nazionale MVS il nuovo metodo, ampiamente validato, Real-Time RT-PCR con rilevazione tramite sybrgreen, che assicura la rilevazione di tutti i ceppi, indipendentemente da variazioni genomiche. È rilevante ricordare che anche questo metodo sarà indicato nel Manuale OIE come test di riferimento.
- È stato implementato, anche se non ancora steso come metodo di prova di uso corrente, un nuovo test Real-Time RT-PCR per la rilevazione del nuovo virus

vescicolare Seneca Valley Virus, identificato in Canada e Stati Uniti oltre che in regioni dell'estremo oriente e responsabile di forme vescicolari nei suini.

Rispetto al Sistema Qualità:

- È stato accreditato, dopo revisione, il metodo Real-Time RT-PCR con rilevazione tramite sybergreen per la ricerca del virus MVS;
- sono mantenuti gli standard operativi conformi alla ISO17025, come verificato attraverso Verifiche Ispettive Interne ed esterne;
- tutti i Metodi di Prova per Afta, MVS e SV sono regolarmente sottoposti a verifica attraverso i **Proficiency Test internazionali**, organizzati dai rispettivi EURL;
- le performance dei MP eseguiti con maggior frequenza sono regolarmente monitorate attraverso le Carte di Controllo, che contribuiscono insieme ai controlli interni presenti in ogni reazione, alla verifica dei requisiti di qualità.

### **Produzione e distribuzione di reagenti**

Test ELISA per lo screening sierologico previsto dal Piano Nazionale di sorveglianza/eradicatione della MVS

In linea con gli anni precedenti, anche nell'annualità di riferimento della presente relazione il CERVES ha prodotto e distribuito a 10 IZZSS reagenti/kit in quantità idonea per l'esecuzione di circa 480.000 test ELISA screening per anticorpi anti-MVS, a cui si aggiungono quelli per i test eseguiti direttamente dal CERVES per le due regioni di competenza e per le conferme, per un totale complessivo di circa **570.000 analisi**, mantenendo sostanzialmente costante questa tipologia di produttività.

Come consuetudine da più di 25 anni, il kit per il test di screening sierologico prodotto dal CERVES viene **distribuito gratuitamente agli IZZSS** ed utilizzando come stima il prezzo di listino (corrispondente a 0,76 Euro/test) applicato dall'Istituto per forniture internazionali, oltre che per la rendicontazione economica che il Ministero ha sottoposto alla Commissione Europea per tutti gli anni in cui il Piano è stato cofinanziato, il **valore economico di questo servizio di produzione è quantificato in circa 435.000 Euro/anno.**

*Reagenti per screening MVS distribuiti agli IIZZSS  
periodo 1 Ottobre 2017 - 30 Settembre 2018*

	Kit distribuiti per N. test
IZS PLV, TORINO	50.000
IZS VE, PADOVA	70.000
IZS LT, ROMA	40.000
IZS UM, PERUGIA	45.000
IZS AM, TERAMO	30.000
IZS PB, FOGGIA	22.000
IZS ME, NAPOLI	50.000
IZS CATANZARO	56.000
IZS SI, PALERMO	25.000
IZS SA, SASSARI	90.000
<b>Totale</b>	<b>478.000</b>
IZSLER, BRESCIA	93.865
<b>Totale complessivo</b>	<b>571.865</b>

Inoltre, rappresentando il CERVES anche un laboratorio di riferimento OIE per MVS, reagenti specifici per esecuzione del test sierologico di riferimento e di test ELISA per identificazione dell'antigene MVS sono stati distribuiti anche livello internazionale, in Russia, Canada, Polonia.

Reagenti e Kit pronto-uso per la diagnostica di afta, prodotti dal Centro di Riferenza

Con riferimento alla disponibilità di reagenti e kit per diagnostica di afta, il laboratorio ha sviluppato e mantiene la capacità di produrre un range di kit ELISA di nuova generazione, pronto-uso, basati su reagenti auto-prodotti, e di distribuirli globalmente. Il pannello di kit attualmente disponibili copre la diagnostica dei sei principali sierotipi aftosi e include:

- FMDV Antigen Detection ELISA and serotyping (O, A, Asia1, C, SAT1 and SAT2): si tratta di un kit ELISA basato su uno spettro di anticorpi monoclonali tipo-specifici, idoneo per la diagnosi rapida con identificazione del sierotipo in campioni di epitelio vescicolare.
- 3ABC-TRAPPING ELISA for antibodies to FMDV NSP (anticorpi marker di infezione)
- Competitive ELISA for antibodies specific to FMDV serotype O
- Competitive ELISA for antibodies specific to FMDV serotype A
- Competitive ELISA for antibodies specific to FMDV serotype Asia 1
- Competitive ELISA for antibodies specific to FMDV serotype SAT 1
- Competitive ELISA for antibodies specific to FMDV serotype SAT 2

A livello nazionale la diagnostica per afta è confinata al CERVES, quindi non è prevista la distribuzione di reagenti ad altri IIZZSS, mentre si è consolidata la forte richiesta dei suddetti kit prevalentemente in regioni endemiche per la diagnosi della malattia, ma anche in alcuni paesi EU e non-EU indenni, dove sono utilizzati dai Laboratori Nazionali di Riferenza per l'esecuzione di Proficiency test e/o come complemento dei rispettivi Contingency Plans.

Come dettagliato nella tabella allegata, nel periodo di riferimento della presente relazione sono stati distribuiti 3247 kit in 43 diversi paesi nel mondo, registrando un

incremento di tre volte nella produzione rispetto al periodo 1 ottobre 2016 - 30 settembre 2017 della precedente relazione. Questo impennata della produzione è conseguente alla neo-fornitura di circa 1700 kit (corrispondenti a circa il 50% del totale distribuito) al Kazakhstan, equivalenti alle necessità di due anni (2017 e 2018) per la valutazione dell'immunità vaccinale (post vaccination monitoring) nei confronti del vaccino tipo O; rilevante anche la richiesta da parte della Cina di circa 1000 utilizzati per motivi analoghi. Ma la tipologia di kit più strategico, esclusivamente prodotto dal CERVES e più capillarmente distribuito, è il kit ELISA per la diagnosi e tipizzazione della malattia, semplice e robusto nell'esecuzione ma particolarmente complesso nella produzione per la varietà di reagenti strategici e unici che lo compongono.

La capacità di mettere a punto e produrre kit diagnostici di nuova generazione, alcuni dei quali esclusivi, rappresenta un carattere distintivo di questo Centro di Referenza e la loro distribuzione globale, anche attraverso programmi supportati da FAO, ha portato all'Istituto e alla nazione grande visibilità e riconoscimento di specifiche competenze tecnico-scientifiche.

*KIT DIAGNOSTICI AFTA PRONTO-USO prodotti presso il Reparto  
e distribuiti nel periodo 1 Ottobre 2017 - 30 Settembre 2018*

	Country or organization	FMDV antigen detection ELISA type O, A, C, Asia1, SAT1-2	NSP Ab ELISA	SP Antibody ELISA Kit				
			3ABC	FMDV O	FMDV A	FMDV Asia1	FMDV SAT2	FMDV SAT1
	<b>Training FAO</b>	4		1	1	1		
Asia	Nepal	5						
	Myanmar	10	3	6				
	South Korea	15		2	12	1		
	China	18		760	250	50		
	Taiwan	1		4	2			
	Vietnam	2						
	Mongolia	2		20	19	1		
Central Asia & WestEurasia	Iran	31		2	2	2		
	Kazakhstan	1		1698	2	2		
	Georgia	3	43	1	3	9		
	Afghanistan	5	9	7	6	6		
	Russia	3						
	Israel					1		
Middle East	Jordan	2						
	UAE	5	1					
	Bahrain	6						
	Kwait	4						
	Oman			2	2	1		
	Saudi Arabia		3	8	7	7	7	
	Lithuania			1	1	1	1	
Africa	Egypt	6		7	7	1	7	
	Ethiopia	17						
	Morocco	1	1	2	5			
	Kenya	4	5	2	2	2	2	2
	Botswana	3						
	Zambia	1	1	2				
	Libya	1	1	1	1			
Countries FMDV-free	Cyprus	8						
	Greece	4				1		
	Belgium	6						
	Estonia	2		1	1	1	1	
	Czech Republic	2						
	Swiss	2						
	New Zealand	1			1	1	1	
	Sveden			1	1	1		
	France	1						
	Poland	1		1	1	1	1	
	Kosovo	1		1	1	1		
	Slovenia	1	1					1
	Romania	2	2	1	1	1		
	Austria	1						
Albania	2	2	1	1	1			
South America	Argentina	5		3	3	3		
	<b>Total N. kits</b>	<b>189</b>	<b>72</b>	<b>2535</b>	<b>332</b>	<b>96</b>	<b>20</b>	<b>3</b>

Altri reagenti auto-prodotti sono disponibili presso i laboratori del CERVES, in particolare:

- Anticorpi monoclonali (MAb): il laboratorio ha una consolidata esperienza nella produzione di MAb e possiede la più vasta collezione di MAb e relativi ibridomi, ottenuti verso svariate varianti e sierotipi di virus aftosi, così come verso diverse varianti antigeniche del virus MVS e verso il virus della EMC. MAb accuratamente selezionati nel corso di ricerche sono utilizzati dal CERVES nello sviluppo dei kit diagnostici, oltre ad essere distribuiti alla comunità scientifica per svariate ricerche;
- Proteine non-strutturali dei virus aftosi ottenute per via ricombinante, utilizzate per valutare il profilo della risposta immune in animali infetti;
- Antigeni dei virus MVS e dei vari sierotipi aftosi: il laboratorio dispone delle infrastrutture e della capacità di produrre antigeni inattivati con BEI, in completa conformità a quanto indicato nella norma "*Minimum biorisk management standards for laboratories working with foot-and-mouth disease virus*", approvata da EUFMD - Aprile 2013. Tali antigeni sono utilizzati come reagenti diagnostici e nella produzione dei kit pronto-uso.

#### Ceppi virali

Il CERVES detiene una collezione di ceppi di virus aftosi di referenza e isolati di campo per ciascuno dei sette sierotipi. La collezione è composta da 225 ceppi di tipo A, 188 di tipo O, 111 di tipo C, 30 di tipo Asia 1, 10 di tipo SAT1, 6 di tipo SAT2 e 2 di tipo SAT3. La collezione di virus aftosi richiede un costante aggiornamento, ottenendo dal World Reference laboratory i ceppi rappresentativi delle nuove emergenti varianti.

Altresì, il CERVES detiene una vasta collezione di ceppi italiani e stranieri di virus MVS (oltre 1000, rappresentativi dei diversi lineaggi antigenici e genomici, a partire dalla sua scoperta nel 1966 sino all'isolato più recente del 2015).

Sono conservati e catalogati anche i ceppi di referenza di altri virus vescicolari (Stomatite Vescicolare, Seneca Valley Virus, Lumpy Skin Disease, ecc.).

Sono disponibili molteplici isolati di campo italiani ed alcuni stranieri del virus della Encefalomioscardite Virale, che può richiedere diagnosi differenziale da afta.

### Attività analitica routinaria

Nelle tabelle successive si riportano, suddivisi per le principali tipologie di test, i dati dell'attività analitica.

*Numero e tipologia di esami diagnostici eseguiti dal CERVES – Attività svolta a livello Nazionale - Periodo 1 Ottobre 2017 - 30 Settembre 2018*

MALATTIA	RICERCA	REAZIONI (N.)					TOTALE
AFTA	Esami sierologici	ELISA Tipo O 1236	ELISA tipo A 1236	ELISA tipo Asia1 1236	ELISA tipo SAT2 1236	ELISA DIVA 3ABC 5	4949
	Esami virologici	Isol. Virale 0	ELISA 0	Conventional PCR 148	Real Time PCR 56		204
MVS	Esami * sierologici	ELISA screening 93.777	ELISA IgG 814	ELISA IgM 814	SN 800		96205
	Esami virologici	Isol. Virale 0	ELISA 0	Conventional PCR 412	Real Time PCR 2041		3.005
SV	Esami sierologici	Siero Neutralizzazione					48
	Esami virologici	PCR					0
EMCV	Esami sierologici	ELISA					3992
	Esami virologici	PCR					370

\* I test ELISA MVS screening si riferiscono a campioni originati dalle regioni Emilia Romagna e Lombardia mentre gli altri test sono effettuati per approfondimento e conferma su sieri da tutto il territorio nazionale.

I test PCR per Afta e MVS includono i controlli interni delle cappe biologiche, cappe PCR e incubatori, effettuati con frequenza mensile per escludere contaminazioni da virus. Inoltre, è inclusa l'attività analitica corrispondente a 209 prove PCR per MVS e EMCV, in convenzione per una ditta farmaceutica finalizzate ai controlli di qualità su un farmaco ad uso umano di derivazione suina.

In tabella non sono inclusi i test effettuati sui campioni dei proficiency test internazionali.

**Diagnostica Afta.** A livello nazionale la diagnostica per afta è limitata ai test sierologici effettuati per movimentazioni, import/export, esposizioni/fiere; nessun caso sospetto è stato sottoposto ad accertamenti di laboratorio nel periodo di rendicontazione; la maggior parte dei test PCR sono effettuati come controlli interni sulla strumentazione per assicurare assenza di contaminazione, come previsto in Istruzioni Operative di Reparto.

**Diagnostica Encefalomiocardite virale:** la ricerca del virus dell'encefalomiocardite (EMCV) è effettuata su campioni sospetti conferiti dalle sezioni diagnostiche di Brescia e Cremona, mentre altri sospetti, benché con minor frequenza, sono gestiti direttamente dalle sezioni diagnostiche territorialmente competenti, di Mantova, Lodi, Parma e Reggio Emilia. I test RT-PCR effettuati presso il laboratorio del CERVES hanno confermato l'identificazione del virus in 75 conferimenti su 159 sospetti clinici; il livello di endemicità dell'infezione nella specie suina nell'area geografica di competenza è mantenuto e i danni rilevanti subiti in alcuni allevamenti con alto tasso di mortalità e recidive inducono la domanda di vaccino; l'opportunità di produzione di vaccino stabulogeno è al vaglio degli stakeholder.

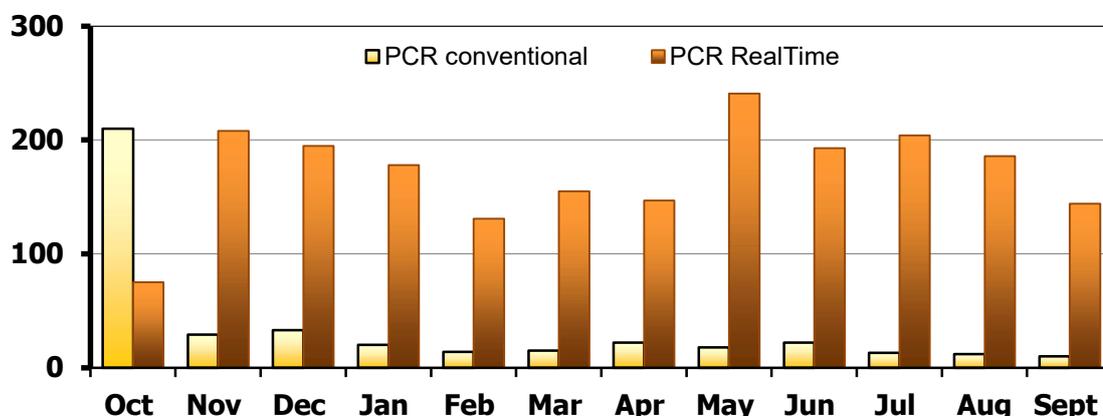
È continuato il riscontro di sieropositività per EMCV, eseguito con test ELISA in-house, sia in allevamenti suini che in cinghiali catturati durante la stagione di caccia in Lombardia ed Emilia Romagna, confermando circolazione del cardiovirus, anche in forma subclinica sia nelle specie domestiche che selvatiche.

**Diagnostica MVS:** Il numero complessivo e la frequenza mensile dei test sierologici e virologici per MVS rispecchiano l'andamento degli anni precedenti, coerentemente col dato che il programma di sorveglianza nazionale è stato sostanzialmente confermato per il 2018.

Nell'ottobre 2017 è stato introdotto nell'uso routinario il test *Real Time RT-PCR*, in sostituzione del test *conventional RT-PCR*, come test virologico per la dimostrazione del virus MVS in campioni di campo. Entrambe i saggi PCR (*Real Time* e *conventional*), sviluppati e validati dal CERVES, sono test accreditati; la *conventional PCR* continua ad essere eseguita settimanalmente su campioni extra-Piano Nazionale al fine di mantenere il controllo dei reagenti e una reale qualifica del personale all'esecuzione di entrambe le prove.

Di seguito vengono riportati i dati analitici relativi ai diversi test.

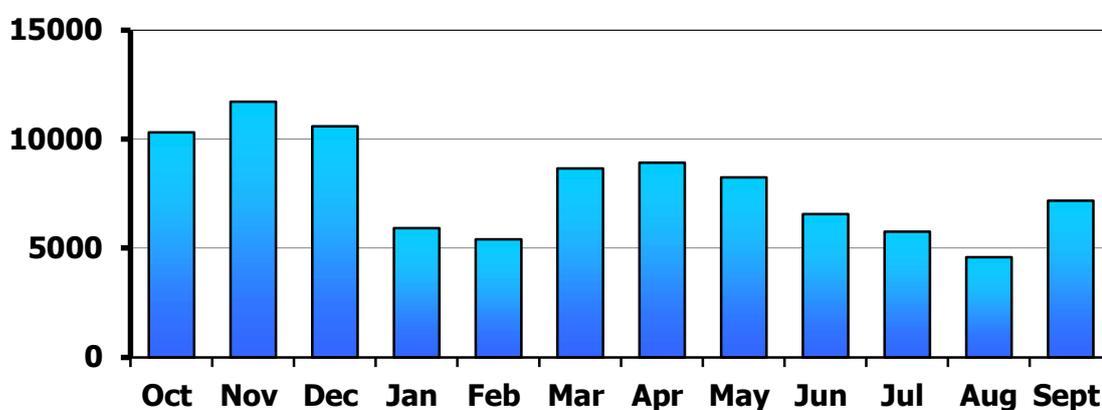
*Frequenza mensile dei test virologici per MVS eseguiti dal CERVES  
(PCR, 2.453 test totali, inclusi controlli interni strumentazione)  
periodo 1 Ott 2017 - 30 Sett 2018*



*N. test virologici (solo Piano nazionale MVS) suddivisi per regione di provenienza*

REGION	Italia settentrionale				Italia centrale						Italia meridionale				Isole	
	NORD EST	NORD OVEST	LOMBARDIA	EMILIA R.	TOSCANA	MARCHE	UMBRIA	LAZIO	ABRUZZO	MOLISE	CAMPANIA	BASILICATA	PUGLIA	CALABRIA	SICILIA	SARDEGNA
N. test	78	23	105	68	52	116	124	299	264	149	437	94	29	186	20	1

*Frequenza dei test sierologici per MVS eseguiti dal laboratorio del CERVES  
Test di screening (ELISA competitiva) per la ricerca di anticorpi anti-MVS*



I dati di frequenza mensile dei test sopra-riportati si riferiscono alle prove eseguite su campioni dei territori Lombardia ed Emilia Romagna.

Relativamente al dato nazionale, con il contributo degli IZZSS territorialmente competenti, sono stati esaminati 355.134 capi, da circa 10.000 aziende.

*Monitoraggio sierologico per MVS a livello nazionale - periodo 1/10/2017 – 30/9/2018*

<b>REGIONE</b>	<b>N° aziende controllate</b>	<b>N° sieri esaminati</b>
<b>Nord Est</b>	935	35.195
<b>Nord Ovest</b>	828	41.320
<b>LOMBARDIA</b>	868	52.532
<b>EMILIA R.</b>	497	27.214
<b>TOSCANA</b>	663	12.915
<b>MARCHE</b>	383	12.921
<b>UMBRIA</b>	483	15.101
<b>LAZIO</b>	440	10.535
<b>ABRUZZO</b>	435	10.742
<b>MOLISE</b>	239	9.179
<b>CAMPANIA</b>	664	30.096
<b>BASILICATA</b>	312	12.662
<b>PUGLIA</b>	547	5.414
<b>CALABRIA</b>	418	18.126
<b>SICILIA</b>	908	10.947
<b>SARDEGNA</b>	1657	50.235
<b>TOTALE</b>	<b>10277</b>	<b>355.134</b>

**Attività analitica non routinaria**

Oltre all'attività svolta nell'ambito della Sanità Animale con finalità di diagnostica e/o sorveglianza, il CERVES esegue ogni anno un grande numero di test analitici non rendicontati nel sistema informativo dell'IZSLER ma regolarmente effettuati per vari scopi, ad esempio:

- titolazioni e verifiche nell'ambito delle attività di produzione e controllo di reagenti e kit,
- preparazione dei certificati di analisi dei prodotti (kit diagnostici),
- attività di sviluppo, ottimizzazione, validazione o miglioramento di test diagnostici,
- attività di preparazione e controllo dei campioni destinati all'organizzazione dei Proficiency test nazionali.

Inoltre, nell'ambito delle cooperazioni internazionali come laboratorio di referenza OIE/FAO e dei programmi di ricerca e sviluppo anche a carattere internazionale, il CERVES ha eseguito indagini sierologiche approfondite, sia finalizzate a risolvere casi di difficile interpretazione che per acquisire maggiore conoscenza sulla situazione epidemiologica di paesi dove l'afta è enedemica o per post vaccination monitoring. segue riassunto. Segue breve report dell'attività analitica a carattere internazionale.

### Analisi sierologiche per Afta Epizootica.

È continuata la collaborazione, intrapresa lo scorso anno, con un laboratorio nazionale di ricerca del Kenya (ILRI). Questa collaborazione ha comportato l'esecuzione di indagini sierologiche approfondite su campioni di siero prelevati in coorti identificate, con due diverse finalità:

1. Valutazione della risposta immune alla somministrazione di vaccino tetravalente prodotto in Kenya, attraverso lo studio della cinetica e la determinazione del livello di anticorpi in bovini di specifiche coorti e genetica. Il CERVES ha ricevuto ed esaminato i sieri di circa 200 bovini razza Boran che hanno ricevuto due vaccinazioni distanziate di 28 giorni, campionati ai giorni 0, 28, 42 e 56 PV. Ogni campione è stato sottoposto a test sierologici con determinazione del titolo anticorpale per anticorpi verso i 4 sierotipi vaccinali O, A, SAT1 e SAT2, e per anticorpi anti-NSP (DIVA).
2. Utilizzo della sierologia per valutare la diversità di sierotipi circolanti in una regione colpita da focolai, attraverso la misura del livello di anticorpi reattivi con i quattro sierotipi aftosi del pool virale n. 4, presente nella regione dell'Africa orientale. Il CERVES ha ricevuto ed esaminato 371 sieri di bovini, ciascuno esaminato come descritto al punto 1.

Nell'ambito delle iniziative concordate in collaborazione con OIE/Tunisi, EuFMD e con l'accordo delle autorità veterinarie dei Paesi del Maghreb, il CERVES ha eseguito indagini sierologiche su campioni di siero di animali (bovini e pecore) vaccinati in condizioni controllate con i ceppi vaccinali selezionati dai rispettivi Paesi; lo scopo dello studio è ottenere una stima dell'efficacia del vaccino utilizzato nelle regioni. La risposta anticorpale è stata verificata sia con test ELISA che con test di Sieroneutralizzazione verso i ceppi vaccinali omologhi e verso i ceppi eterologhi circolanti. In base alla disponibilità dei campioni da parte dei Paesi che hanno aderito allo studio, parte delle analisi sono state condotte e concluse durante il periodo di riferimento di questo report.

Infine, il CERVES è stato coinvolto nelle indagini volte a chiarire la reattività sierologica riscontrata in un allevamento bovino in Macedonia. Otto bovini, campionati due volte consecutive, sono stati approfonditamente esaminati con test NSP-ELISA (kit IZSLER e kit commerciale), SP-ELISA per anticorpi verso 4 sierotipi aftosi, e Sieroneutralizzazione.

Il dettaglio del numero dei test sierologici eseguiti nell'ambito di collaborazioni internazionali è riassunto in tabella. Si fa rilevare l'elevato numero di test in Sieroneutralizzazione, che comportano particolare expertise e impegno, oltre al fatto che per ottenere dati quantitativi i test sono stati eseguiti con titolazione completa dei sieri.

*Numero e tipologia di esami diagnostici eseguiti dal CERVES su campioni ricevuti come  
FMD OIE/FAO Reference Laboratory  
Periodo 1 Ottobre 2017 - 30 Settembre 2018*

MALATTIA	RICERCA	REAZIONI (N.)									TOTALE
AFTA	Esami sierologici	ELISA O	ELISA A	ELISA SAT1	ELISA SAT2	ELISA Asia1	SN O	SN A	SN SAT2	ELISA DIVA 3ABC	<b>8.110</b>
		1554	1554	825	1181	16	540	432	104	1904	

Analisi sierologiche per MVS

Il CdR ha ricevuto due conferimenti di sieri suini per test sierologici MVS, rispettivamente da Cipro (che necessitava di risultati certificati da un laboratorio di referenza OIE) e dalla Svizzera (per risolvere casi sospetti di singleton reactor). Dettaglio delle prove eseguita in tabella.

*Numero e tipologia di esami diagnostici eseguiti dal CERVES su campioni ricevuti come  
SVD OIE/FAO Reference Lab  
Periodo 1 Ottobre 2017 - 30 Settembre 2018*

MALATTIA	RICERCA	REAZIONI (N.)				TOTALE	
MVS	Esami sierologici	ELISA screening		ELISA IgG	ELISA IgM	SN	<b>264</b>
		85		47	47	85	