



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

Via Bianchi 9 - 25124 Brescia

**CENTRO NAZIONALE DI REFERENZA
PER L'AFTA E LE MALATTIE VESCICOLARI
(CERVES)**

Tel. 030-2290370/614 - 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 2021

Periodo di riferimento 01/10/2020 – 30/09/2021

Decreto 2 Novembre 1991

Documento prodotto in originale informatico firmato digitalmente 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 sono coerenti con i riferimenti normativi.

Rispetto al Sistema Qualità:

- sono mantenuti gli standard operativi conformi alla ISO17025, come verificato attraverso le regolari Verifiche Ispettive Interne ed esterne effettuate dall'Ente accreditante nazionale (Accredia), entrambe effettuate con cadenza annuale;
- 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 costante dei requisiti di qualità.

Il CERVES dispone di tecnologie avanzate, utili ad integrare i metodi diagnostici standard, in particolare:

- metodiche 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 Miseq. È imminente l'acquisto di uno strumento analogo da destinare al Reparto di Genomica.

È utile rilevare che, la sequenziazione con NGS, sebbene non utilizzata come mezzo diagnostico, è diventata indispensabile per l'attività di ricerca e sviluppo del CERVES, in considerazione anche del livello di approfondimento che viene richiesto ai laboratori internazionali.

Sviluppo, miglioramento e validazione di metodi diagnostici

Presso il CERVES lo sviluppo, implementazione, miglioramento e validazione di nuovi metodi diagnostici è una attività continua, che rappresenta un aspetto caratterizzante del Centro.

Queste attività sono parzialmente contemplate all'interno di progetti di R&S.

Segue descrizione degli elementi affrontati nell'anno di rendicontazione.

Kit ELISA per diagnostica AFTA: i vari kit di nuova generazione, stabilizzati e all-inclusive, sviluppati e in uso presso il CERVES e distribuiti globalmente, sono soggetti a validazione continua.

È in corso con il FMD World Reference Laboratory uno studio, i cui risultati sembrano promettenti, per verificare le performance dell'integrina-HRPO da sostituire, all'anticorpo monoclonale 1F10-HRPO (Pan-FMD) attualmente in utilizzato nel kit ELISA per l'identificazione e tipizzazione di virus aftosi.

Metodi molecolari: di seguito viene descritto il miglioramento apportato alle metodiche per la rilevazione della presenza di virus aftosi tramite metodi di Real-Time RT-PCR
Controlli interni: nel periodo di rendicontazione sono state eseguite sperimentazioni per valutare l'introduzione di un controllo esogeno nelle metodiche di Real-time RT-PCR per la ricerca del virus dell'Afta Epizootica. L'uso di controlli interni della reazione è un elemento importante per il controllo dei processi della reazione, inclusa l'eventuale presenza di inibitori nei campioni in esame. La beta-actina, utilizzata come controllo interno endogeno, era già stata sperimentata precedentemente; tuttavia, l'uso di controlli esogeni costituisce una valida alternativa all'uso dei geni endogeni la cui amplificazione è legata alla conservazione del campione in esame.

Il controllo esogeno è costituito da RNA trascritto in vitro partendo da un clone plasmidico nel quale è stata clonata una sequenza nucleotidica scelta in modo da non interferire con l'amplificazione del target specifico che si vuole ricercare. Con la trascrizione in vitro si ottiene un'elevata quantità RNA, fino 10^9 copie genomiche per μ L. Nella sperimentazione sono state valutate le concentrazioni idonee di controllo esogeno da aggiungere al buffer di lisi della fase di estrazione che non interferiscano con le performance di sensibilità del metodo di rilevazione del target specifico. Il metodo di prova accreditato per la valutazione della presenza dei virus aftosi tramite Real-time RT-PCR verrà aggiornato per l'introduzione dell'uso di controlli esogeni ed endogeni.

Test rapido multiplex per la diagnosi e tipizzazione di virus dell'Afta (tramite LFD):

Lo studio per lo sviluppo di Lateral Flow Device multiplex, intrapreso con l'Università di Torino, ha prodotto un prototipo di LFD multiplex per la diagnosi e tipizzazione in unica strip di virus appartenenti ai sierotipi O, A, Asia1 (LFD1) e uno per la identificazione e tipizzazione dei sierotipi SAT1 e SAT2 (LFD2), entrambi i dispositivi includono una linea di test pan-Afta. Terminate le preliminari verifiche in laboratorio, sono stati contattati colleghi di paesi in cui la malattia è endemica per chiedere la disponibilità per una valutazione dei dispositivi su campioni clinici.

Hanno partecipato allo studio il Dott. Naci Bulut dal SAP Institute di Ankara e il Dott. Abraham Sangula dal Kenya. Ad oggi abbiamo ricevuto un preliminare riscontro che ha evidenziato le buone performance del LFD1 mentre sono emerse difficoltà nel rilevamento dei sierotipi SAT1 e SAT2 propri del LFD2. Sono in corso ulteriori prove di laboratorio per preparare nuovi prototipi da sottoporre poi a verifica delle performance in campo.

Produzione e distribuzione di reagenti

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

Dal 1995 il kit per il test di screening sierologico prodotto dal CERVES viene **distribuito gratuitamente agli IZS**; nell'annualità di riferimento 2020-2021 sono stati distribuiti a 10 IZS reagenti per l'esecuzione di 166.000 test, che aggiunti agli oltre 35.000 eseguiti dal CERVES per le due regioni di competenza (Lombardia ed Emilia-Romagna) corrispondono ad un totale complessivo di kit per oltre **201.000 analisi**, circa la metà di quante effettuate nel periodo Ottobre 2019-Settembre 2020.

La sospensione del Piano di sorveglianza per la Malattia Vescicolare del suino da Marzo 2021, ha comportato una drastica riduzione dei reagenti distribuiti per l'esecuzione di test, che sono ora limitati esclusivamente all'esecuzione del test sui campioni prelevati in aziende che rientrano nel circuito export.

In accordo con il Ministero della Salute, il CERVES continuerà a distribuire gratuitamente il test, sebbene le prove su campioni export verranno eseguite in regime "a pagamento". Il valore economico di questa produzione, derivato dal costo di vendita a terzi (0,76 Euro/test) e da stime di prodotti commerciali equivalenti, è quantificato in oltre **125.000 €**.

Reagenti per screening MVS distribuiti agli IZZSS periodo 1 Ottobre 2020 - 30 Settembre 2021

Istituto/Laboratorio	Kit distribuiti per N. test
IZS PLV, TORINO	50.000
IZS VE, PADOVA	40.000
IZS LT, ROMA	10.000
IZS UM, PERUGIA	20.000
IZS AM, TERAMO	15.000
IZS PB, FOGGIA	6.000
IZS ME, NAPOLI	10.000
IZS CATANZARO	0
IZS SI, PALERMO	15.000
IZS SA, SASSARI	0
Totale	166.000
IZSLER, BRESCIA	35.000
Totale complessivo	201.000

Nella funzione di laboratorio di riferimento OIE per MVS, i reagenti specifici per l'esecuzione del test sierologico di riferimento e di test ELISA per identificazione dell'antigene MVS sono stati distribuiti anche a livello internazionale in Canada e in Polonia.

Anche nel 2021, il CERVES ha cooperato con EUFMD per l'allestimento e il mantenimento di una Banca di reagenti presso il CERVES, utilizzabile da 11 paesi della penisola Balcanica, sia per l'esecuzione dei Proficiency Test annuali che in caso di emergenza conseguente a focolai nella regione. Le attività hanno previsto: (i) fornitura di kit diagnostici, (ii) allestimento e fornitura di kit PCR, (iii) preparazione di standard di riferimento. Questa cooperazione rientra nelle attività discusse durante la 44th General Session dell'EUFMD (Aprile 2021) dove è stata valutata, in accordo con l'EUURL, l'opportunità e la possibilità di istituire una banca diagnostica dell'UE di reagenti per l'afta epizootica.

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

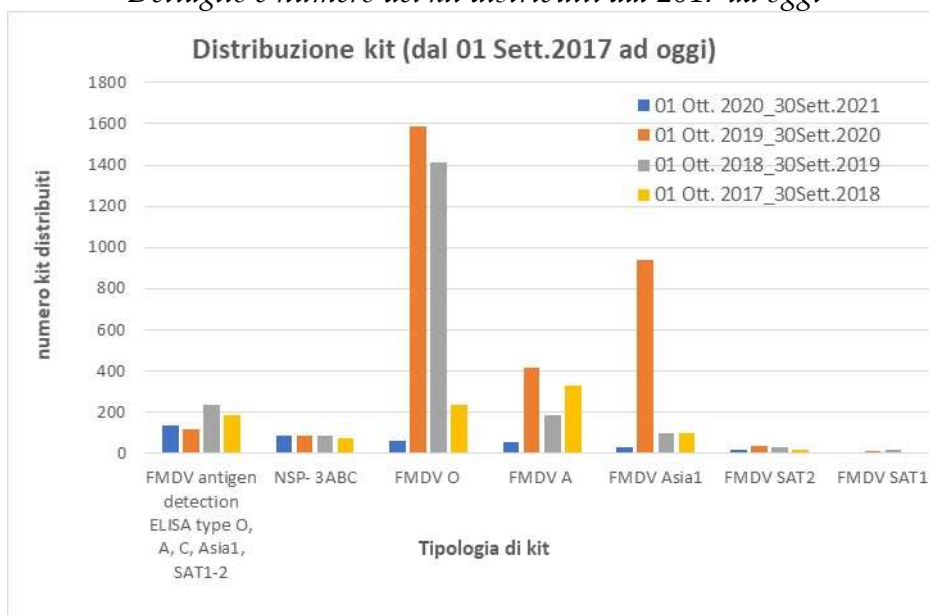
I laboratori di biotecnologie del reparto a cui afferisce il Centro di Riferenza, hanno sviluppato un portfolio di 7 kit destinati alla diagnosi sierologica e virologica dell'afta, costituito da kit ELISA pronto-uso, allestiti con anticorpi monoclonali e antigeni auto-prodotti, di cui due kit per la ricerca di anticorpi verso i sierotipi SAT 1 e SAT 2 e il kit ELISA per la diagnosi virologica su campioni clinici con rilevazione di antigeni e identificazione del sierotipo, sono unici al mondo.

A livello nazionale la diagnostica per afta è confinata al CERVES, quindi, non è prevista la distribuzione di reagenti/kit ad altri IZS, se non nell'ambito di ring test finalizzati al mantenimento delle competenze dei laboratori che potrebbero coadiuvare il CERVES in caso di emergenze nazionali.

È ormai consolidata la richiesta dei kit che il Laboratorio distribuisce nella veste di Centro Internazionale di Riferenza (OIE/FAO) per l'afta. Nel periodo di rendicontazione, i kit per la diagnosi di afta sono stati inviati in 41 diversi paesi nel mondo, per un numero complessivo di 395 kit. Nel 2021 a causa dell'emergenza COVID-19 non sono stati inviati kit a EuFMD da utilizzare per lo svolgimento di training in campo organizzati regolarmente in epoca pre-COVID-19.

E da segnalare la drastica riduzione, nel periodo ottobre 2020-Settembre 2021, di circa il 50% del numero di kit distribuiti. Ciò è stato determinato dalla mancata fornitura al Kazakistan di kit sierologici per la ricerca di anticorpi nell'ambito del PVM (Post Vaccination Monitoring) attivo nel paese e dal cambio della normativa per gli scambi con la Cina, con conseguente blocco delle importazioni di kit.

Dettaglio e numero dei kit distribuiti dal 2017 ad oggi



La notorietà dell'IZSLER a livello internazionale, relativamente alla capacità di produrre e distribuire kit diagnostici per afta è ormai consolidata, affiancata anche dalla capacità del personale del Centro di Referenza, di mettere a disposizione specifiche competenze tecnico-scientifiche a supporto degli utilizzatori.

Sono illustrati nella tabella che segue i vari Paesi che hanno ricevuti i kit diagnostici, con indicazione del numero e tipologia.

*KIT DIAGNOSTICI AFTA PRONTO-USO prodotti presso il Reparto
e distribuiti nel periodo 1 Ottobre 2020 - 30 Settembre 2021*

	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
Asia	Nepal	4						
	Myanmar	1						
	South Korea					7		
	Japan	1						
	India			4				
	Malaysia	4						
	Taiwan	1	3	1	1	1	1	1
	Singapore	1		1	1	1	1	
	Mongolia	4		16	17			
Central Asia & WestEurasia	Iraq	1						
	Russia	2		2	2	2	1	
	Jordan	1						
	Armenia	1	20	4	4	4		
	Belaurus	1		1	1	1		
	Pakistan	50						
Middle East	UAE	13	56	5	3	4		
	Oman	2		1	1	1	1	
	Saudi Arabia	2	4	11	11			
Africa	Egypt	2						
	Sudan	7						
	Nigeria			1	1		1	1
	Algeria			3	3	2	4	
	Morocco				1			
	Kenya	7						
	Burckina Faso	5						
	Botswana	5		3	3	3	3	
Ethiopia	1							
Countries FMDV-free	France	2	1				3	1
	Romania	1	2	1	1	1		
	Slovenia		1					
	Spain	1			1			
	Polonia		1	1	1	1		
	Croatia	1		1	1	1	1	1
	Bulgaria	1		1	1	1		
	Moldova	1		1	1	1		
	Cyprus	6						
	Greece	1						
	Swiss	1						
	Austria	2		1	1	1		1
	Albania						1	
South America	Argentina	3				2		
	Total N. kits	136	88	59	56	34	17	5

Altri reagenti

Oltre ai kit sopra descritti, il CERVES detiene:

- la più vasta collezione di Anticorpi Monoclonali e relativi ibridomi, ottenuti verso svariate varianti e sierotipi di virus aftosi, verso diverse varianti antigeniche del virus MVS, verso il virus della EMC e verso il virus della LDS. Alcuni di questi anticorpi monoclonali sono stati richiesti e forniti attraverso MTA a gruppi di ricerca che operano in istituti pubblici e centri di referenza, per il periodo in corso sono stati firmati 3 MTA per la cessione di anticorpi a scopo di ricerca;
- antigeni ricombinanti, verso proteine non-strutturali del virus dell’afta (3A, 3D, 3B e 3ABC) alle quali si aggiungono proteine ricombinanti del virus della LSD (p32, L1R, 4L, A12L);
- uno stock di Antigeni dei virus MVS, di vari sierotipi aftosi inattivati con BEI, in completa conformità alle norme europee;
- ceppi virali di referenza appartenenti di altri virus Stomatite Vescicolare, Seneca Valley Virus e Lumpy Skin Disease quest’ultimi utilizzati per produrre stock di antigeni inattivati;
- una collezione controllata di oltre 600 ceppi di virus aftosi di referenza e isolati di campo rappresentativi di ciascuno dei sette sierotipi;
- 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’ultimo e più recente isolato del 2014);
- sono disponibili molteplici isolati di campo italiani ed alcuni stranieri del virus della Encefalomiocardite Virale.

Attività analitica routinaria

Nella tabella successiva si riportano, suddivisi per agente eziologico e tipologie di esami, i test su campioni di origine nazionale sottoposti con finalità di diagnostica in Sanità Animale e analizzati dai Laboratori del CERVES.

Numero e tipologia di esami diagnostici eseguiti dal CERVES – Attività svolta a livello Nazionale - Periodo 1 Ottobre 2020 - 30 Settembre 2021

MALATTIA	RICERCA	REAZIONI (N.)				TOTALE
		ELISA Tipo O	ELISA tipo A	ELISA tipo Asia1	ELISA tipo SAT2	
AFTA	Esami sierologici	1.096	1.096	1.096	1.096	4.384
MVS	Esami sierologici	ELISA screening 34.422	ELISA IgG 110	ELISA IgM 110	SN 100	34.742
	Esami virologici	Isol. Virale 0	ELISA 0	Real Time PCR 472		472
EMCV	Esami sierologici	ELISA				3.353
	Esami virologici	PCR				329

Non sono conteggiati i test effettuati sui campioni dei proficiency test internazionali e quelli preparatori per l'organizzazione dei ring test nazionali, né i test PCR destinati ai controlli interni delle cappe biologiche, cappe PCR e incubatori, effettuati con frequenza mensile per escludere contaminazioni da virus.

I test ELISA MVS screening si riferiscono a campioni originati dalle regioni Emilia-Romagna e Lombardia mentre gli altri test sierologici MVS (ELISA IgM, IgG e Sieroneutralizzazione) sono effettuati per approfondimento e conferma anche su sieri conferiti dagli IZS e provenienti da tutto il territorio nazionale.

Diagnostica Afta. Da molti anni non sono conferiti al laboratorio campioni sospetti per accertamenti di laboratorio e l'attività diagnostica per afta a livello nazionale è limitata ai test sierologici effettuati per movimentazioni, import/export, esposizioni/fiere, il cui numero si è mantenuto costante rispetto all'annualità precedente.

Test PCR, sono eseguiti regolarmente per assicurare assenza di contaminazione di cappe ed incubatori dei laboratori ad alto contenimento. Sebbene nel 2020 la frequenza dei controlli sia stata modificata da mensile a trimestrale, non si sono verificate positività sui campioni effettuati per il controllo della strumentazione, a conferma che le procedure di pulizia e decontaminazione definite e regolarmente applicate dal personale sono adeguate.

Diagnostica Encefalomiocardite virale: la ricerca del virus dell'encefalomiocardite (EMCV) è effettuata presso i Laboratori del CERVES su campioni sospetti provenienti prevalentemente da aziende in Lombardia e in rari casi da altre regioni (eseguiti N. 194 test con dimostrazione della presenza del virus nel 30% dei casi sospetti). La ricerca

del virus è stata effettuata, con esito negativo, anche su un campione di cuore prelevato da un macaco di un Parco Naturalistico e conferito dall'IZS del Lazio e Toscana.

L'ormai costante positività virologica in campioni di animali con sintomatologia clinica, riscontrata negli ultimi anni prevalentemente nel periodo invernale, supporta l'ipotesi di endemicità dell'infezione da cardiovirus nella specie suina nell'area geografica di competenza.

Nel periodo di interesse della presente relazione sono stati esaminati, con test ELISA in-house per ricerca di anticorpi, 2928 sieri (circa il 40% in meno rispetto allo stesso periodo dello scorso anno) di cinghiali catturati durante la stagione di caccia in Lombardia ed Emilia-Romagna nei quali sono state riscontrate positività, confermando circolazione del cardiovirus, anche in forma subclinica, oltre che nelle specie domestiche che in quelle selvatiche.

Diagnostica MVS: L'attività diagnostica per MVS è da riferirsi ai campioni prelevati nell'ambito del programma di sorveglianza nazionale attivo fino al 12 Marzo 2021 e ai campioni prelevati nelle aziende inserite nel circuito export per il periodo Marzo - Settembre 2021.

L'attività analitica, per l'ultimo trimestre 2020 è rendicontata e disponibile sul portale cerves.it., nel periodo sono state controllate 2.428 aziende per un totale di 49.240 sieri.

Monitoraggio sierologico per MVS a livello nazionale - periodo 1/10/2020 – 31/12/2020

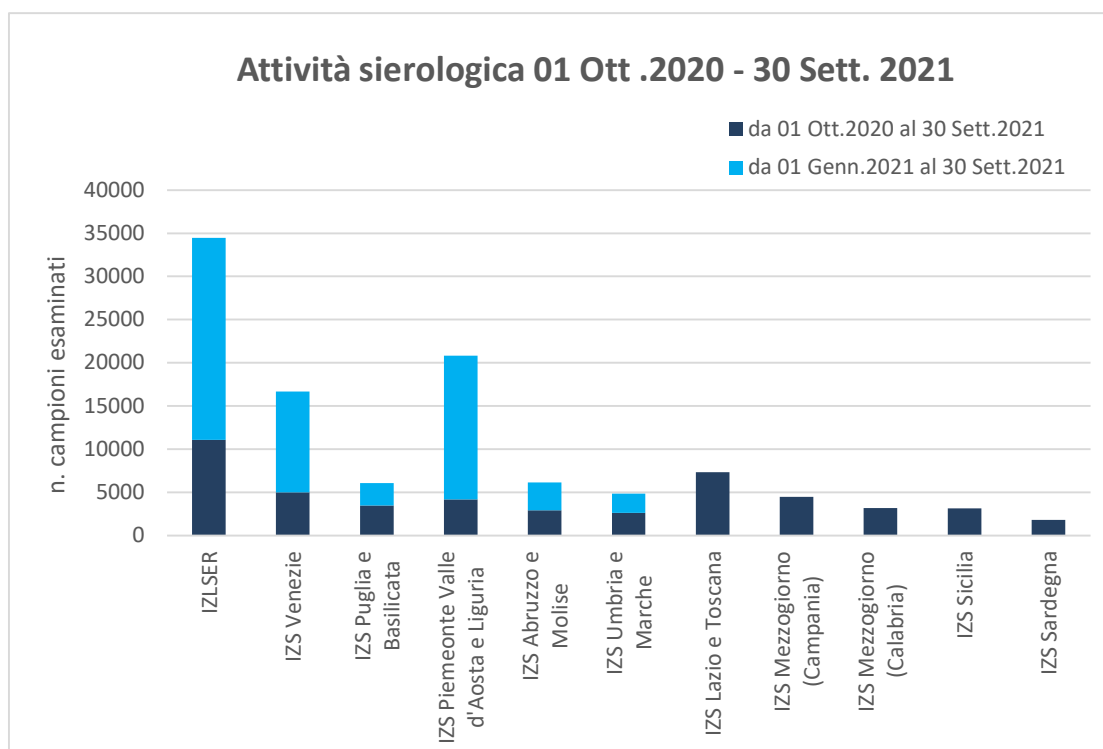
Estrazione da www.cerves.it

REGIONE	N° aziende controllate	N° sieri esaminati
Nord Est	235	5010
Nord Ovest*	191	4161
LOMBARDIA	153	6318
EMILIA R.*	161	4755
TOSCANA	164	4323
MARCHE	96	1822
UMBRIA*	55	814
LAZIO	154	3012
ABRUZZO*	112	1969
MOLISE*	59	952
CAMPANIA	148	4483
BASILICATA*	147	1843
PUGLIA*	187	1650
CALABRIA	151	3192
SICILIA	336	3129
SARDEGNA	79	1807
TOTALE	2428	49.240

Relativamente ai dati per la rendicontazione dei test effettuati nel periodo Gennaio-Settembre 2021, il CdR ha chiesto ai colleghi degli IIZZSS, che eseguono il test ELISA screening, di comunicare per vie brevi il numero dei campioni esaminati riportando

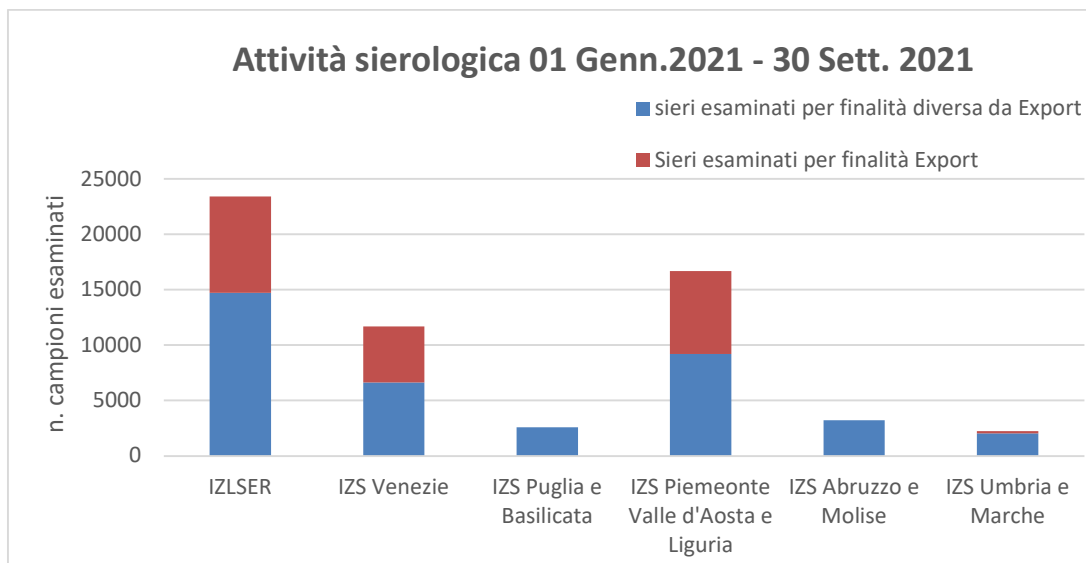
anche il dettaglio del numero di test effettuati per finalità Export. Il numero totale dei campioni esaminati nel periodo di rendicontazione della presente relazione è 108.991, di cui 49.240 nell'ultimo trimestre 2020 ed i rimanenti 59.751 nel periodo Gennaio-Settembre 2021 quest'ultimo dato non completo poiché non tutti gli IZZSS hanno comunicato l'attività 2021.

*Monitoraggio sierologico per MVS a livello nazionale - periodo 1/10/2020 – 31/12/2020
(Totale test: 108.991)*



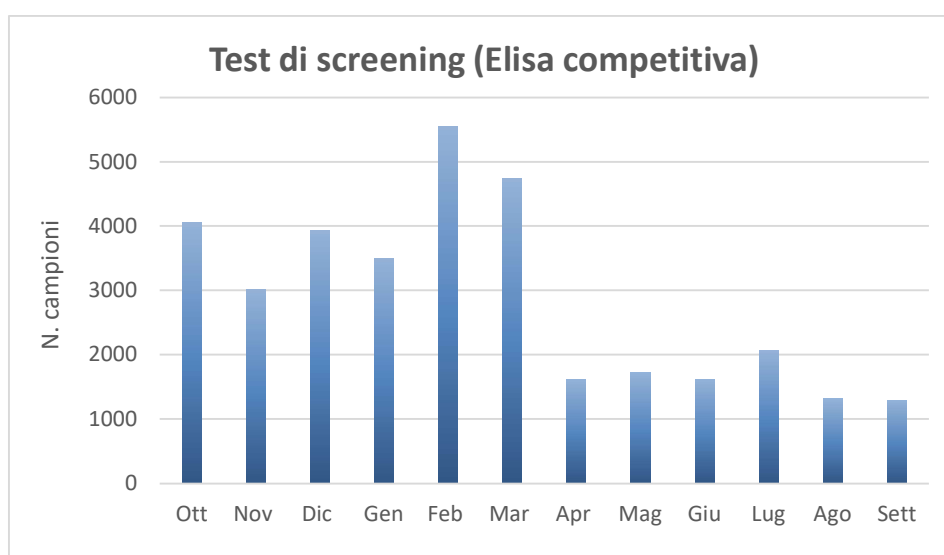
Analizzando il dettaglio dell'attività analitica eseguita per finalità export si evince che è effettuata in quattro Istituti (IZSLER, IZS Venezia, IZSL Piemonte Valle d'Aosta e Liguria e IZS Umbri e Marche) i cui territori di competenza rientrano nella macro regione indenne per APHIS. L'attività sierologica per MVS dell' IZSLER, IZS Venezia, IZSL Piemonte Valle d'Aosta e Liguria rappresenta circa il 40% dell'intera attività effettuata nel periodo Gennaio-Settembre , tenuto conto che nei primi mesi dell'anno era comunque ancora attivo il Piano di sorveglianza. Si suppone quindi, che dal 2022, l'attività diagnostica per MVS in questi Istituti potrà essere riferita esclusivamente a test sierologici eseguiti per finalità Export.

Dettaglio dei campioni eseguiti per finalità Export e diversa da Export - periodo 01/01/2021 al 30/09/2021 (Totale test: 59.751)



L'attività diagnostica eseguita dal CERVES per le regioni di competenza (Lombardia ed Emilia Romagna) si è confermata costante e in linea con quanto effettuato nel 2020 fino Marzo, per poi registrare un calo significativo di circa il 50% dei campioni effettuati mensilmente con il test ELISA screening per la ricerca di anticorpi.

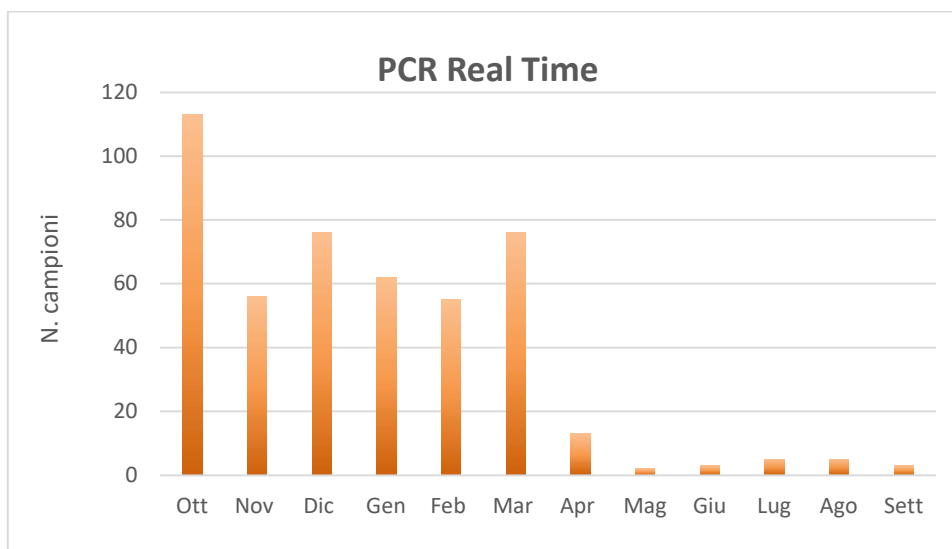
Dettaglio dei campioni eseguiti mensilmente dal CERVES per il test ELISA screening - periodo 01/10/2020 al 30/09/2021 (Totale test: 34.440)



Analogamente, anche il numero delle prove virologiche, eseguito su scala nazionale, per la ricerca del virus in campioni di feci è rimasto invariato circa 50 campioni/mese, rispetto al 2020 fino a Marzo 2021. Da Aprile 2021 il numero di campioni conferiti si è

ridotto e ad oggi non sono conferiti più di 5 campioni al mese, determinando ad un quasi azzeramento dell'attività.

Dettaglio dei campioni eseguiti mensilmente dal CERVES per il test virologico Real Time RT-PCR - periodo 01/10/2020 al 30/09/2021 (Totale test: 469)



Attività analitica non routinaria

Come ogni anno, oltre all'attività svolta nell'ambito della Sanità Animale con finalità di diagnostica e/o sorveglianza, il CERVES esegue un importante numero di test analitici non inerenti attività diagnostica ma effettuati per vari scopi quali:

- titolazioni e verifiche di reagenti, componenti di kit ELISA utilizzati nelle prove di routine e destinati alla vendita;
- reazioni di controllo sui kit prodotti per la verifica dei lotti e successiva preparazione dei certificati di analisi dei prodotti (kit diagnostici),
- continua attività di sviluppo, ottimizzazione, validazione o miglioramento di test diagnostici,
- reazioni per l'allestimento dei pannelli di campioni destinati ai Proficiency test nazionali.

Viene annoverata come "non routinaria" anche l'attività analitica svolta nell'ambito di cooperazioni internazionali mantenute come Laboratorio di riferimento OIE/FAO, e di programmi di ricerca e sviluppo.

Analisi sierologiche. Nel periodo di rendicontazione 2020-2021 sono pervenuti al CdR i sieri provenienti dall'Azerbaijan e facenti parte dello studio per la valutazione dei vaccini anti-aftosi adottati nei Paesi del TranCaucaso. Lo studio, già completato sui campioni provenienti da Armenia e Georgia, ha previsto la verifica della cinetica e durata della risposta anticorpale protettiva raggiunta con una e con due vaccinazioni. L'attività analitica inerente queste indagini prevede l'utilizzo di test di Sieroneutralizzazione verso differenti sierotipi aftosi e test ELISA per la

quantificazione di anticorpi tipo-specifici e per accertare l'assenza di infezione durante i trial (test DIVA).

Il volume di attività delle analisi sierologiche è riportato nella tabella seguente.

*Attività analitica per test sierologici AFTA, a livello internazionale
N. test eseguiti*

	SIERONEUTRALIZZAZIONE				SP-ELISA			NSP-3ABC
	O	A/Iran05	A/G-VII	Asia 1	O	A	Asia 1	
AZERBAIJAN	204	375	375	204	208	208	208	208

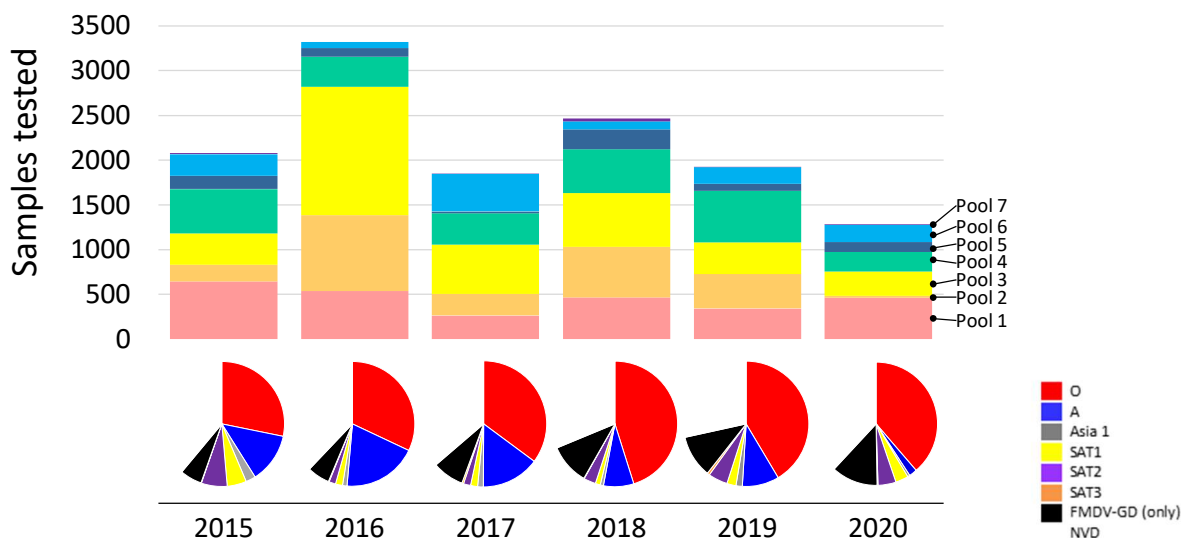
A giugno 2021 sono stati trasmessi i colleghi epidemiologi dell'Università di Glasgow i risultati della sierosorveglianza effettuata su 1880 sieri di bovini campionati in Tanzania, ciascuno esaminato verso i quattro sierotipi O, A, SAT1 e SAT2, e con il test DIVA (3ABC-ELISA) per una analisi ed interpretazione dei dati dal punto di vista epidemiologico. Sulla base delle valutazioni dei colleghi si definirà un piano di lavoro per procedere ad esaminare ulteriori 6000 sieri, anch'essi campionati in Tanzania, già disponibili presso al CERVES.

Analisi virologiche. Per il periodo di interesse della presente relazione, non sono pervenuti al CdR campioni sospetti da Paesi terzi per conferme diagnostiche.

In generale si è osservata una diminuzione del numero dei campioni sospetti conferiti a tutti i Laboratori OIE di Referenza per conferme diagnostiche, conseguenza anche delle difficoltà logistiche legate alle spedizioni dovute alla pandemia da Covid-19.

Il grafico sottostante riporta il numero dei campioni conferiti al WRL-Pirbright dal 2015 al 2020 nel quale è evidente come nel 2020 è stato conferito il minor numero di campioni degli ultimi 5 anni, tendenza non in miglioramento nel 2021, considerato anche il perdurare della pandemia.

Numero di campioni sospetti conferiti al WRL-Pirbright nel periodo 2015-2020.



Analisi per Antigen profiling di virus aftosi circolanti in East Africa: Il CERVES sta collaborando con il WRL per lo svolgimento delle attività previste da Progetto AgResults FMD Vaccine challenge Project il cui obiettivo è quello di valutare e supportare la scelta dei vaccini da utilizzare in East Africa. Il WRL ha inviato al CERVES 64 ceppi di virus aftosi di quattro sierotipi (22 O, 19 A, 10 SAT1 e 13 SAT 2) per l'esecuzione del profilo antigenico utilizzando anticorpi monoclonali. Sono quindi stati selezionati 38 anticorpi verso il sierotipo O, 33 verso il sierotipo A, 14 verso il sierotipo SAT1 e 10 verso il sierotipo SAT 2 verso i quali sono stati esaminati i virus, dopo amplificazione in coltura cellulare. I risultati sono stati inviati ai colleghi per preliminari valutazioni.

Analisi sierologiche per MVS

Il CdR ha ricevuto un conferimento di sieri suini per test sierologici MVS, da Cipro (che necessitava di risultati certificati da un laboratorio di referenza OIE). 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 2020 - 30 Settembre 2021*

MALATTIA	RICERCA	REAZIONI (N.)		TOTALE
MVS	Esami sierologici	ELISA screening	SN	70
		35	35	