

VISNA-MAEDI: INDAGINE SIEROLOGICA MEDIANTE TEST IMMUNOENZIMATICO UTILIZZANDO UN ANTIGENE SINTETICO

VISNA-MAEDI: SEROLOGICAL SURVEY WITH IMMUNOENZYMATIC TEST USING A SYNTHETIC ANTIGEN

Valente C., Marenzoni M.L., Feliziani F., Passamonti F., Chiodetti L., De Mia G.M., Coletti M., Prezioso S., Cuteri V. Dipartimento di Tecnologie e Biotecnologie delle Produzioni Animali (PG), Istituto Zooprofilattico Sperimentale (PG), Dipartimento di Scienze Veterinarie, Camerino (MC)

Parole chiave: Visna-Maedi, pecore, ELISA, Ag sintetico.

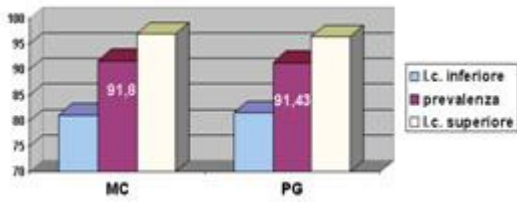
Key words: Visna-Maedi, sheep, ELISA, synthetic Ag.

SUMMARY - Maedi-Visna is an infectious disease due to *Lentivirus*. The disease is characterised by a respiratory or neurological symptoms and usually causes the death of animals. The control of infection poses difficulties on isolation and serological diagnosis for genomic variability of virus. To study the epidemiological prevalence of infection in Central Italy, it was carried out a serological survey on 1703 sera collected from 131 flocks, 61 from Marche and 70 from Umbria regions. It was utilized a ELISA test and a recombinant amplicon gp25-gp44 as antigen. Among the 1703 sera examined, 970 were positive for MVV and the results were statistically elaborated. About the flocks, 120 (92%) showed positivity. The positive flocks were 64 (92%) in the district of Perugia and 56 (91%) in the area of Macerata, respectively.

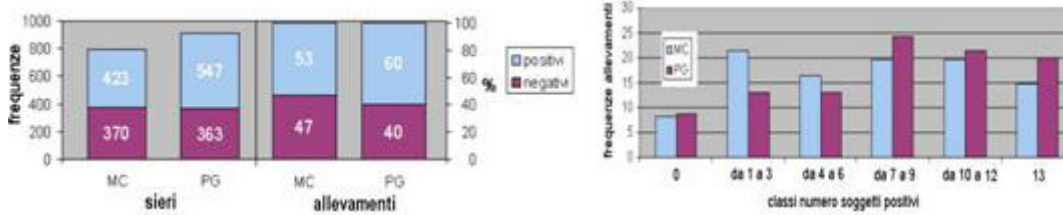
INTRODUZIONE - Maedi-Visna (MV) è una grave sindrome morbosa diffusa in tutto il mondo che interessa prevalentemente la pecora ed è caratterizzata dall'insorgenza di una polmonite cronica progressiva, disturbi del sistema nervoso, accompagnati da un grave deperimento⁽¹⁾. La malattia è sostenuta da un *Retrovirus* del genere *Lentivirus*, i quali insistono indefinitamente nell'animale utilizzando un insolito processo di trascrizione in cui interviene una DNA polimerasi-RNA dipendente. La malattia rappresenta un grave problema per gli allevatori a causa delle notevoli perdite che arreca alle greggi. Malgrado i numerosi progressi fatti negli ultimi anni dalla ricerca persistono difficoltà relative sia ad isolare il virus che a scegliere una componente antigenica da impiegare in sede sierologica. Per tali motivazioni è stata messa a punto una prova immunoenzimatica che utilizza le proteine prodotte sinteticamente gp25-gp44 come antigene, allo scopo di individuare gli animali con pregresso contatto con il virus.

MATERIALI E METODI - Sono stati analizzati 131 allevamenti di cui 61 residenti nella provincia di Macerata e 70 nella provincia di Perugia per un totale di 1703 sieri. È stato predisposto un campionamento a random a due stadi. Il primo era teso a stimare la prevalenza di allevamento su base provinciale, il secondo, rivolto all'interno degli allevamenti stessi, verificava la presenza/assenza dell'infezione. Il calcolo della dimensione del campione si basava sullo sviluppo della distribuzione ipergeometrica. Per aumentare la sensibilità del test ELISA sono state utilizzate come antigene due proteine virali gp25-gp44, prodotte sinteticamente. La metodica immunoenzimatica secondo una progressione standard prevedeva l'antigene ricombinante adsorbito alla fase solida, quindi il campione di siero in esame, la Proteina G coniugata con perossidasi ed infine il substrato cromogeno^(1, 2, 3). I risultati venivano letti allo spettrofotometro a 450 nm, secondo la formula S/P, media DO siero in esame / media DO siero controllo positivo.

RISULTATI - Dei 1703 sieri di pecora 970 presentavano anticorpi nei confronti di MVV. I risultati relativi agli allevamenti, hanno evidenziato la presenza di 120 aziende sierologicamente positive le quali rappresentavano il 92% dell'effettivo. Nella provincia di Perugia gli allevamenti positivi erano 64 con una percentuale di 92, mentre nella provincia di Macerata 56 allevamenti con il 91% di positività. In base a questi dati e tenendo conto del campionamento, la stima della prevalenza in queste due province è quella schematizzata nel grafico 1 insieme al relativo Intervallo di Confidenza (L.C. 95%).



Il test del χ^2 conferma che non esistono differenze statisticamente significative tra la prevalenza osservata nel territorio marchigiano e in quello umbro ($\chi^2 = 0,06$ $p > 0,05$). Analizzando in dettaglio i risultati dei campioni di siero si evince che il criterio di campionamento scelto non può essere utilizzato in senso assoluto per formulare una stima della prevalenza all'interno dell'allevamento, ma può essere impiegato per valutare la "pressione" che l'infezione esercita nei due territori. Le differenze tra le due province esistono ed appaiono ancor più visibili trasponendo i dati su grafico (Grafici 2 e 3) sia in forma di semplice frequenza sia in termini percentuali. In pratica si riscontra una maggiore frequenza di allevamenti con pochi soggetti positivi al test ELISA nella provincia di Macerata rispetto a quella di Perugia.



CONCLUSIONI - La scelta degli allevamenti ovini e la successiva raccolta dei campioni di sangue ha tenuto conto sia della distribuzione che della consistenza numerica degli animali nel territorio interessando tutta l'area compresa nelle due province. La stima della prevalenza di allevamento è di circa il 92% in entrambi i territori mentre non è possibile stimare la prevalenza all'interno dei singoli allevamenti. Comunque si possono avere indicazioni sulla pressione che l'infezione esercita nei territori oggetto dello studio analizzando nel dettaglio i sieri risultati positivi in senso generale nelle due province e distinguendo classi di allevamenti a seconda del numero di sieri positivi riscontrati. Sulla base di tale considerazione la provincia di Perugia presenta una frequenza di soggetti sieropositivi per allevamento maggiore rispetto a quella di Macerata. In mancanza di reazioni fisiche evidenti da parte degli animali e delle difficoltà nella diagnostica virologica, l'indagine sierologica porta un contributo notevole alla conoscenza della diffusione della malattia. E' opportuno comunque tener presente il fatto che i provirus di Maedi-Visna integrati nel genoma dei monociti e nei loro precursori vengono attivati solo nel momento in cui tali cellule si trasformano in macrofagi; quindi una limitata produzione di virus all'interno dei monociti consente una diffusione subdola del virus nell'organismo sollecitando appena il sistema immunitario. Pertanto il significato della indagine sieropidemiologica può essere correlato ad un piano di eradicazione della malattia solo nel momento in cui i monitoraggi sierologici vengono ripetuti nel tempo, con una certa regolarità, ed associati alla eliminazione dei soggetti sierologicamente positivi.

BIBLIOGRAFIA 1) PEPIN M., VITU C., RUSSO P., MORNEX J.F, PETERHANS E. "Veterinary Research" 29:341-367, 1998 2) GRECO E., PROFITI M., GIAMMARIOLI M., GIANNINO L., RUTILI D., WOODAL C., ROSATI S., "Clinic and Diagnostic Laboratory Immunology, 828-832, 2002 3) QUINN P.J., MARKEY B.K., DONNELLY W.J., LEONARD F.C., "Veterinary Microbiology and Microbial Disease" Blackwell Science, 354-356, 2002.