

INTRODUZIONE AI METODI DIAGNOSTICI

Mantova, 29 Aprile 2009

CAMPIONAMENTO

- **Prelievo di sangue in provette senza anticoagulante**
- **Mantenimento a + 4°C fino a 12 – 18 ore**
- **In laboratorio si recupera il siero**
- **Utilizzo per analisi immunoenzimatiche, valutazione attività neutralizzante anticorpi ed esecuzione analisi di biologia molecolare**



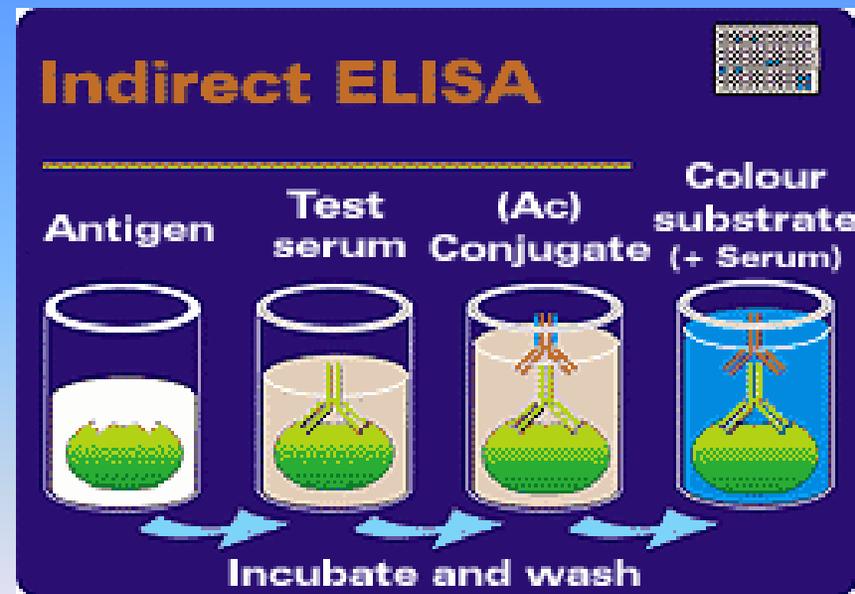
CAMPIONAMENTO

- **Prelievo di sangue in provette con eparina**
- **Mantenimento a temperatura ambiente per 8 ore max**
- **Si usa il sangue in toto per saggi di immunità cellulare**
- **Si recupera poi il plasma per analisi immunoenzimatiche sui prodotti della reazione immune**



METODO IMMUNO-ENZIMATICO (ELISA)

- Ricerca di anticorpi specifici per antigeni virali
 - IgM, IgG, IgAs, IgE



PRRSV: INFEZIONE SPERIMENTALE

BS/114/2000

IgM

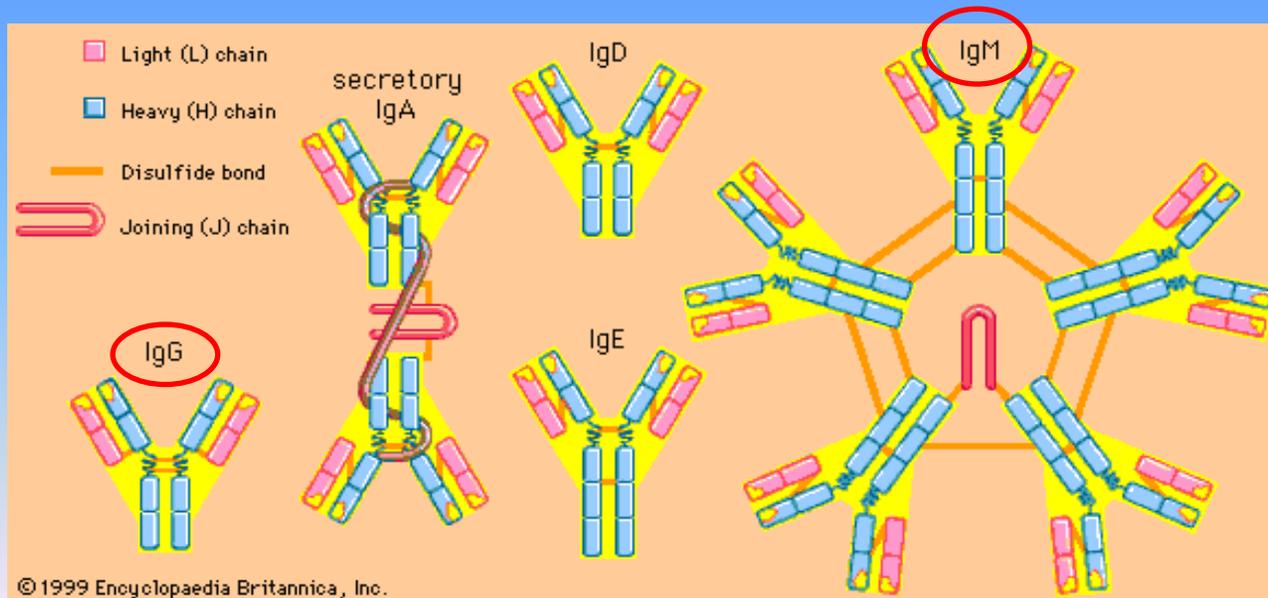


7 gg – 14 gg PI

IgG



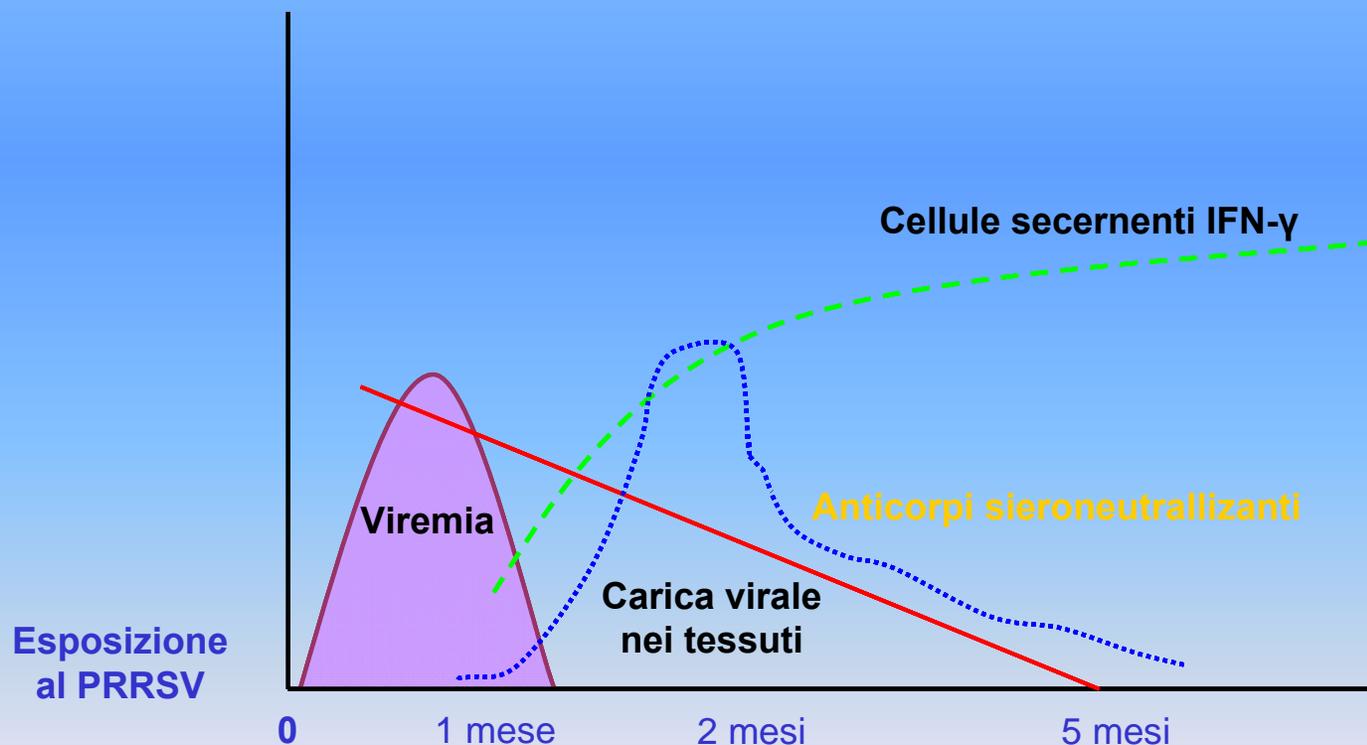
14 gg – mesi PI



PRRSV: INFEZIONE SPERIMENTALE

- Presenza contemporanea di Virus ed Anticorpi (IgG)
 - Attività neutralizzante tardiva degli anticorpi:

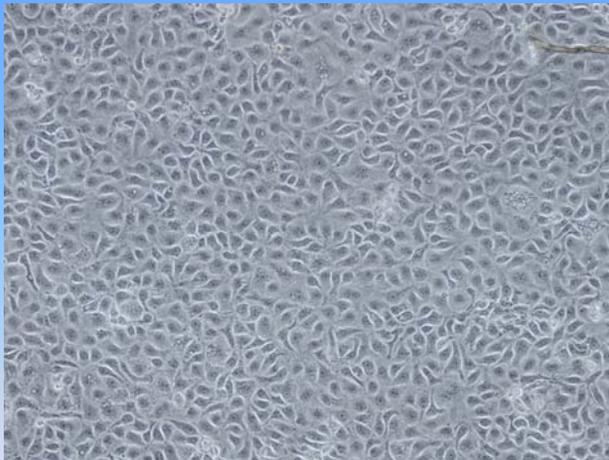
30 – 60 gg



SIERONEUTRALIZZAZIONE

- **Valutazione capacità anticorpi di inibire l'effetto citopatico (MARC-145) del virus**

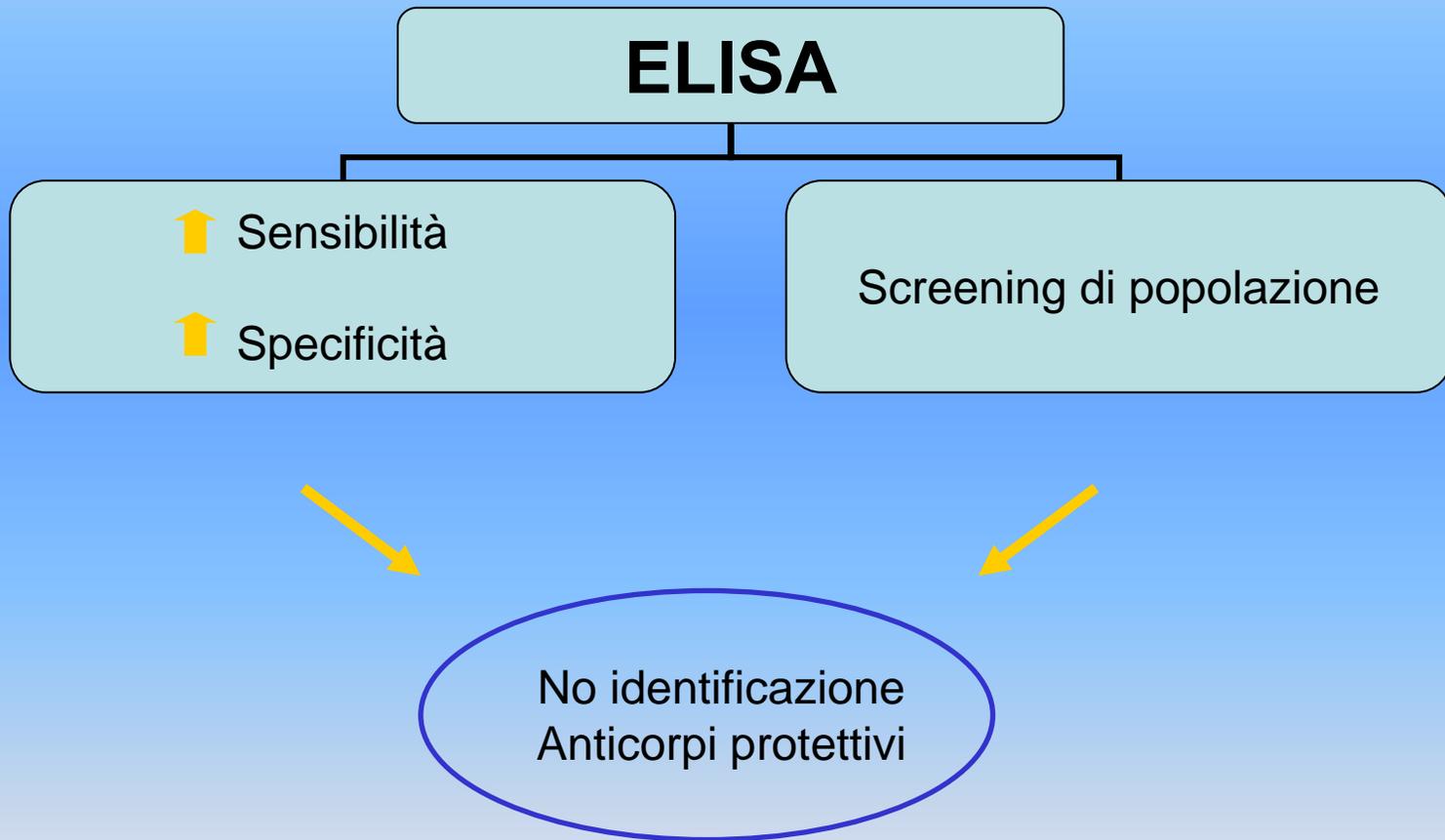
Virus in presenza di Ab neutralizzanti



Virus in assenza di Ab neutralizzanti



PRRSV: SIEROLOGIA



PRRSV: SIEROLOGIA

Kit IDEXX

Sample to Positive (s/p):

(Siero in esame su PRRSV) – (Siero in esame su Ag -)

(Controllo + su PRRSV) – (Controllo + su Ag -)

Valutato in Densità Ottica (OD)

BIOLOGIA MOLECOLARE

Acido Nucleico Virale

Metodica qualitativa



RT-PCR: RNA virale



**Dimostrata Presenza
Non Dimostrata Presenza**

Metodica quantitativa



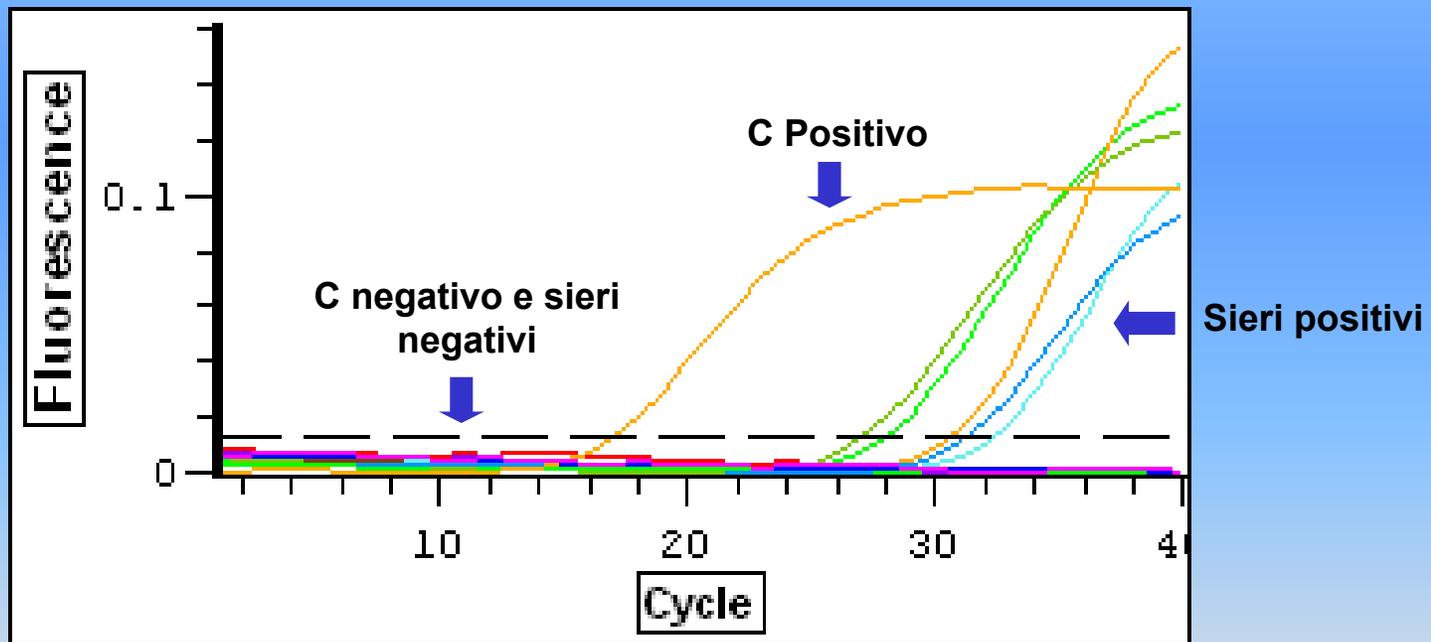
Real Time RT-PCR: RNA virale



**Quantità di amplificato d.p.
alla quantità di RNA iniziale**

PRRSV: INFEZIONE SPERIMENTALE

- Presenza di acido nucleico ascrivibile a PRRSV:
7 - 30 gg POST INFEZIONE



Real-Time RT PCR

PRRSV: INFEZIONE di CAMPO

Analisi in RT-PCR (2007)

Ricerca acido nucleico virale

- **Campioni** n° 15.256
- **Positivi** n° 4.201 (27.5%)
- **Negativi** n° 11.055

PRRSV: INFEZIONE di CAMPO

Analisi con IDEXX kit (2007)

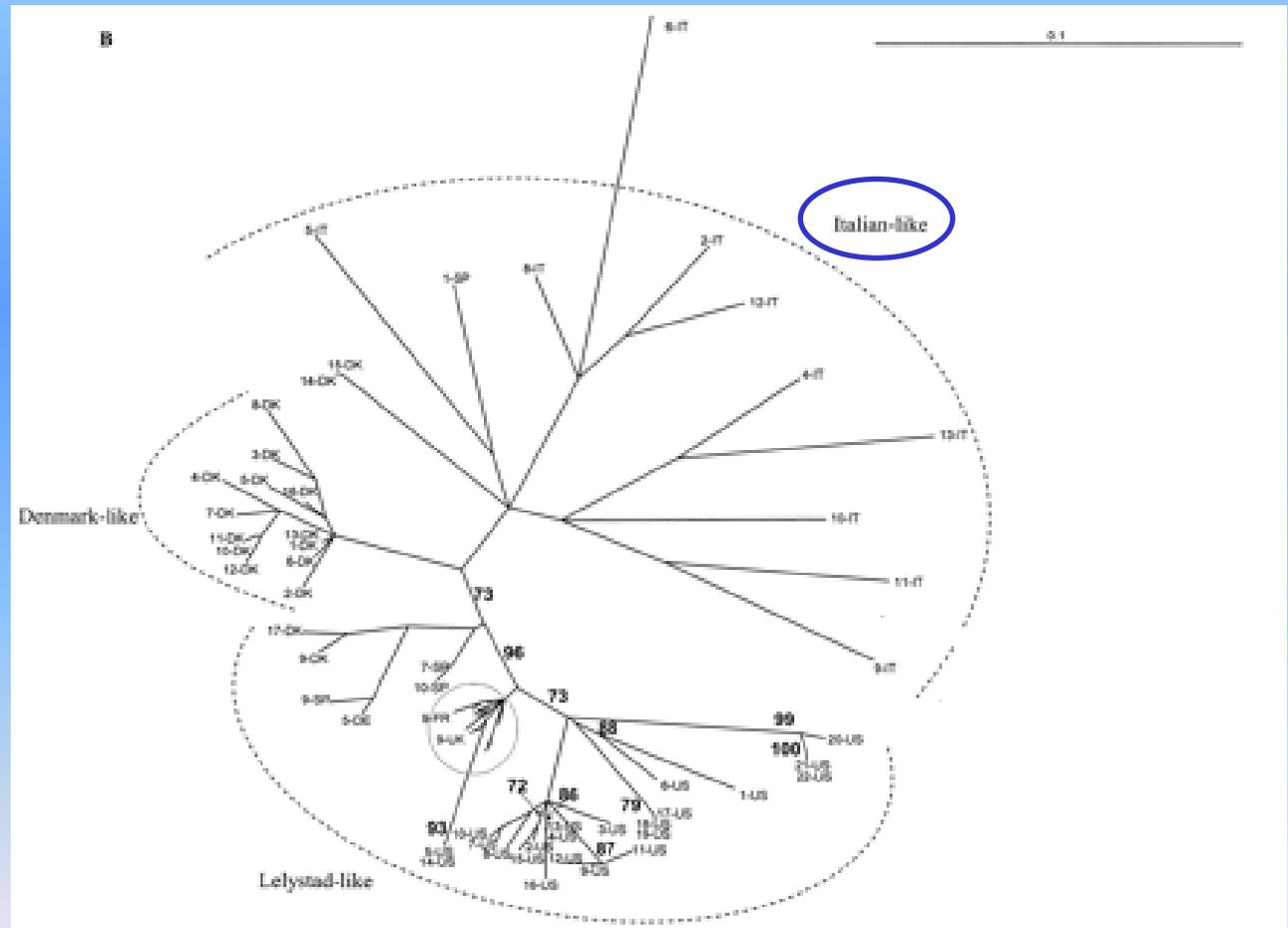
Ricerca anticorpi sierici

- **Campioni** n° 60.766
- **Positivi** n° 43.455 (71,5%)
- **Negativi** n° 17.311

SEQUENZIAMENTO

- ORF 5: segmento più variabile
- ORF 7: segmento più conservato

Albero filogenetico
basato sulle sequenza
nucleotidiche di ORF 5



INFORMATIVA resa all'interessato all'atto della raccolta dei dati personali comuni e sensibili ai sensi dell'art. 13, comma 1, del decreto legislativo 30 giugno 2003, n. 156, recante "Codice in materia di protezione dei dati personali".

Al sensi dell'art. 13, comma 1, del decreto legislativo 30 giugno 2003, n. 156 ed in relazione ai dati personali da acquisire, Le forniamo le seguenti informazioni.

1) Contenuto dei dati

Il nostro Ente intende trattare dati personali comuni direttamente acquisiti dall'interessato: nome, cognome, luogo e data di nascita, codice fiscale, indirizzo, recapito telefonico.

2) Finalità del trattamento

Il trattamento a cui saranno sottoposti i dati personali che saranno acquisiti e periodicamente aggiornati ha le seguenti finalità:

- a) organizzare al meglio il corso di formazione e aggiornamento cui l'interessato richiede l'iscrizione;
- b) adempiere agli obblighi di legge connessi al programma ECM;
- c) inviare materiale informativo su altri corsi organizzati dall'Ente.

3) Modalità del trattamento

Il trattamento potrà effettuarsi con o senza l'ausilio di mezzi elettronici o comunque automatizzati e saranno effettuate pressoché tutte le operazioni all'art. 4 comma 1, lett. a) del decreto legislativo.

4) Natura obbligatoria o facoltativa del conferimento

Il conferimento dei dati personali relativi al trattamento in parola è obbligatorio nella misura necessaria e limitatamente al raggiungimento delle finalità ai precedenti punti a- e b-. Per le finalità di cui al precedente punto c- è del tutto facoltativo.

5) Conseguenze di un eventuale rifiuto

L'eventuale rifiuto di fornire i dati di cui il conferimento è obbligatorio ci impedirà di provvedere all'esecuzione degli obblighi derivanti dalla legge e dar corso all'iscrizione richiesta. Per il rifiuto di fornire i rimanenti dati non è prevista alcuna conseguenza. Saremo tuttavia privati della possibilità di farvi conoscere i nostri ulteriori programmi/corsi di formazione e aggiornamento.

6) Ambito di comunicazione dei dati

I dati in parola potranno essere comunicati:
- al Ministero della Salute per lo svolgimento delle funzioni istituzionali, nei limiti stabiliti dalla legge e dai regolamenti;
- alla Regione Lombardia;
- alla Regione Emilia Romagna.

7) Responsabili ed incaricati che potranno venire a conoscenza dei dati

Potranno venire a conoscenza dei dati tutti i responsabili del trattamento e gli incaricati del trattamento coinvolti nelle finalità di cui al punto 1).

8) Ambito di diffusione dei dati

I dati in questione non verranno diffusi.

9) Diritti dell'interessato

All'interessato del trattamento in esame è riconosciuto l'esercizio dei diritti di cui all'art. 7 del decreto legislativo n. 196/2003.

10) Titolare

Titolare del trattamento è l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, con sede in Brescia, via Bianchi n. 9. Responsabile del Trattamento è il Dirigente della Struttura (Formazione Sistema Documentale Centro Nazionale di Referenza per la Formazione in Sanità Pubblica Veterinaria)

11) Consenso al trattamento

Il consenso, ove necessario, può essere prestato in tutto o in parte.

INFORMAZIONI

Modalità di partecipazione

La partecipazione al workshop è gratuita sino al raggiungimento dei posti disponibili.

L'evento è in fase di accreditamento ECM per i laureati in Medicina Veterinaria e Scienze Biologiche

Le adesioni dovranno pervenire alla Segreteria Organizzativa entro e non oltre il 30.04.2009 mediante le seguenti modalità:

- Per i dipendenti dell'IZSLER: iscrizione tramite Intranet aziendale (<http://sisinfo/sisinfo/>), nella sezione Iscrizione Corsi
- Per gli esterni: iscrizione tramite il sito web www.veterinaribrescia.it

A tutti i partecipanti sarà rilasciato l'attestato di partecipazione.

SEGRETERIA SCIENTIFICA

Maura Ferrari, Massimo Amadori, Centro Substrati Cellulari, Istituto Zooprofilattico, Brescia

SEGRETERIA ORGANIZZATIVA

Ufficio Formazione
Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna
Via Bianchi 9, Brescia
Tel 030/2290230 - Fax 030/2290816
e-mail: formazione@bs.izs.it



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
della Lombardia e Emilia Romagna
Brescia

Centro Substrati Cellulari

GIORNATA DI STUDIO E AGGIORNAMENTO



PROBLEMI IRRISOLTI AI FINI DI UN EFFICACE
CONTROLLO DELLA "PORCINE REPRODUCTIVE
AND RESPIRATORY SYNDROME (PRRS)"

Brescia 22 maggio 2009

SEDE DI SVOLGIMENTO
Istituto Zooprofilattico Sperimentale
della Lombardia e dell'Emilia Romagna
Via A. Bianchi, 9
25124 Brescia

**GRAZIE PER
L'ATTENZIONE**

CONCLUSIONS



Four PRRSV strains were selected for the study

- ✿ 55/L/2000
- ✿ 114/L/2000
- ✿ 162/L/2000
- ✿ 418/L/2003

Aminoacid homology of these virus strains with the European prototype (Lelystad virus- LV) was

- ✿ 86% (162/L/2000; 55/L/2000)
- ✿ 88% (418/L/2003)
- ✿ 82% (114/L/2000)