

PRELIEVI EMATICI PER VALUTAZIONE IMMUNOLOGICA IN CORSO DI INFEZIONE DA VIRUS PRRS

1. Introduzione

Al momento attuale, le analisi che sono impiegate nella routine diagnostica, prevedono: accertamento della presenza/assenza di virus tramite determinazione dell'acido nucleico (RNA) ascrivibile a PRRSV al fine di valutare la viremia nel siero degli animali di una mandria e l'analisi immuno-enzimatica (ELISA) per verificare gli anticorpi sierici (IgG) contro il virus. Questi due parametri forniscono delle prime informazioni sulla circolazione dell'agente virale in allevamento e sull'avvenuto contatto, più o meno recente, degli animali con l'elemento patogeno (immunità umorale), ma non ci permettono di sapere se questi anticorpi sono in grado di proteggere in modo reale l'animale dal virus. Mediante la valutazione di alcuni parametri di immunità cellulo-mediata, quali Interleuchina-10 ed Interferone- γ plasmatici, si può provare ad avere delle informazioni più complete e soprattutto che riguardano la fase acuta, quindi nelle prime settimane post infezione, mentre la messa a punto di una metodica di sieroneutralizzazione consentirebbe di valutare l'attività protettiva degli anticorpi nei confronti del virus.

2. Campionamento

I prelievi di sangue andranno eseguiti utilizzando due diversi tipi di provette:

- a) provetta senza anticoagulante (tappo rosso)
- b) provetta con anticoagulante, eparina (tappo verde)

Nel momento del prelievo è preferibile eseguire prima la raccolta nella provetta con eparina, riempirla fino ad un massimo di $\frac{3}{4}$, rigirare la provetta più volte dopo il prelievo.

La provetta senza anticoagulante verrà utilizzata per il recupero del siero, va conservata a +4°C e conferita al laboratorio nell'arco delle 12-18 ore dal prelievo; la provetta contenente l'eparina, va mantenuta a temperatura ambiente (nei periodi invernali mantenerla al riparo da eventuali temperature troppo rigide) e consegnate al laboratorio entro 8 ore dal prelievo.

3. Analisi effettuate

Sul siero ottenuto dalle provette senza anticoagulante si effettueranno le prove di valutazione della viremia e della presenza di anticorpi umorali (IgG):

- | | |
|-----------------------|--|
| • Biologia molecolare | Presenza dell'acido nucleico virale ascrivibile a virus PRRS |
| • ELISA | Valutazione presenza di IgG anti virus PRRS |

- Sieroneutralizzazione Valutazione della capacità degli anticorpi di neutralizzare il virus PRRS

Sul plasma ottenuto dalle provette contenenti eparina si effettueranno le prove di valutazione di alcuni parametri specifici per virus PRRS (IL-10 ed IFN- γ) di immunità cellulo-mediata:

- ELISA Valutazione dei livelli plasmatici di Interleuchina-10 e di IFN- γ , conseguenti a stimolazione con virus PRRS