



**Ricerca Corrente IZSVe 04/05 Ampliamento e potenziamento metodiche innovative per la diagnosi di malattie infettive in ambito veterinario.**

**Responsabile scientifico:** dott. G. Cattoli

**Abstract**

Il controllo delle malattie infettive e diffuse degli animali è strettamente legato alle capacità dei centri di ricerca e diagnosi di sviluppare ed applicare strumenti in grado di eseguire diagnosi precise in tempi rapidi. Metodiche basate su reazioni immunoenzimatiche (es. ELISA) e sulla rivelazione dei patogeni mediante amplificazione degli acidi nucleici (es. PCR) si rivelano utilissime nella diagnostica e nella epidemiologia delle malattie infettive di interesse veterinario, presentando una estrema versatilità, sensibilità e specificità associata ad una relativa rapidità di analisi. Gli obiettivi del presente progetto sono quelli di produrre strumenti diagnostici rapidi basati su tecniche immunoenzimatiche e di biologia molecolare in grado di supportare le attività di diagnostica, di controllo e di ricerca nel campo delle malattie infettive veterinarie, con particolare riferimento alle attività dei centri di referenza nazionali attivi presso l'Istituto Zooprofilattico Sper.le delle Venezie. Tale progetto è pertinente alle linee strategiche dell'IZSVe che prevedono un potenziamento dell'attività diagnostica e lo sviluppo di metodologie diagnostiche alternative. Con riferimento alla influenza aviaria, malattia virale altamente contagiosa e di notevole impatto sanitario ed economico, l'utilizzo di metodiche sierologiche rapide e di facile applicazione, quali metodiche in ELISA, è di estrema utilità per potere processare un elevato numero di campioni. Per questa malattia virale infatti si prevede un rafforzamento ed un ampliamento di piani di monitoraggio e sorveglianza negli animali domestici e nei volatili selvatici legato principalmente alla corrente e preoccupante emergenza sanitaria che interessa i paesi del Sud est asiatico. Dato il numero elevato di campioni e l'estrema variabilità delle specie interessate ai piani di sorveglianza, lo sviluppo di metodiche in ELISA di tipo competitivo è fortemente auspicabile. Purtroppo lo sviluppo di questo

tipo di metodica è attualmente limitato dal numero di **anticorpi monoclonali** disponibili e dal loro elevato costo commerciale. Come centro di riferimento nazionale e internazionale per questa malattia si ritiene necessario, nonché vantaggioso, sviluppare e produrre anticorpi monoclonali verso i principali antigeni del virus della influenza aviaria. Tali anticorpi rappresentano il materiale di base per lo sviluppo di tests immunoenzimatici rapidi necessari alla diagnostica sierologica e alla subtipizzazione virale. Nel campo della **diagnostica biomolecolare**, si intende proseguire il tema della ricerca corrente 2004 riguardante lo sviluppo e la standardizzazione di metodiche biomolecolari per la diagnosi di alcune malattie infettive di interesse veterinario. In questo ambito, il presente progetto di ricerca si prefigge ancora lo scopo di supportare le attività diagnostiche per due importanti malattie infettive degli animali da reddito. La prima riguarda la ittiovirologia e, precisamente lo sviluppo e l'applicazione di una metodica in real time PCR per la diagnosi della encefaloretinopatia virale (ERV) del branzino. Tale tematica risulta essere strategica per le attività del centro di referenza attivo presso l'IZSVE mediante. La malattia si trasmette verticalmente e la sua diagnosi è normalmente eseguita dal cervello dei soggetti sintomatici. Ai fini del controllo della malattia è stato proposto lo screening dei riproduttori mediante analisi tramite PCR da biopsie ovariche, liquido seminale, sangue ed eliminazione dei soggetti positivi. Le indagini condotte preliminarmente da alcuni autori (Dalla Valle et al., 2000; Breuil et al., 2002) indicano che la sensibilità della RT-PCR non è sufficiente ad evidenziare lo stato di portatore asintomatico per cui è stato suggerito l'impiego di metodiche di maggiore sensibilità. La disponibilità di un metodo specifico e sufficientemente sensibile ad individuare nel parco riproduttori delle avannotteria di pesci marini potrebbe costituire un valido mezzo per il controllo della malattia oltre ad un servizio esclusivo difficilmente offerto da altri laboratori. La seconda malattia infettiva è rappresentata dalla Paratubercolosi del bovino, malattia per la quale esiste un piano di controllo nella Regione Veneto. Attualmente, per questo agente eziologico, esistono kit diagnostici di biologia molecolare estremamente costosi. La messa a punto di una metodica in-house assay ridurrebbe i costi, inoltre la tecnica real-time ridurrebbe i tempi di risposta e potenzialmente è in grado di migliorare la sensibilità e la specificità. Gli obiettivi del presente progetto di ricerca sono i seguenti: a) Allestimento e sviluppo di un laboratorio per la produzione di anticorpi monoclonali. b) Produzione di anticorpi monoclonali contro la neuraminidasi del virus influenzale aviario. c) Sviluppo di metodiche in real time PCR per la diagnosi dell'encefalopatia virale del branzino e della

paratubercolosi del bovino.d) Valutazione delle caratteristiche delle metodiche in c), in termini di sensibilità, specificità, ripetibilità e riproducibilità.Le fasi di sviluppo e validazione dei protocolli oggetto della ricerca seguiranno le linee guida dettate da organismi internazionali (OIE Terrestrial Manual 2004, Malorny et al., 2002).