

## **VALIDAZIONE DI UN ELISA COMPETITIVA PER LA RICERCA DI ANTICORPI CONTRO LA P26 DEL VIRUS DELL'ANEMIA INFETTIVA EQUINA NEL SIERO DI EQUIDI**

Gian Luca Autorino (a), Roberto Nardini (a), Ilaria Ciabatti (a), Raniero Lorenzetti (a), Paolo Cordioli (b), Daniela Caciolo (a), Elena Letizia (a), Maria Teresa Scicluna (a)  
(a) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana, Roma*  
(b) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia B. Ubertini, Brescia*

Lo scopo di questo lavoro è la presentazione dei dati relativi alla validazione del test ELISA di tipo competitivo in fase semi-liquida (CTB-ELISA), per la ricerca di anticorpi per il virus dell'Anemia Infettiva Equina (AIE), messo a punto nell'ambito di un precedente progetto di ricerca corrente (art.12 DL.vo 502/1992). Ad una valutazione preliminare, il test ELISA sviluppato dimostrava caratteristiche di elevata sensibilità e specificità.

Con il fine di valutare le caratteristiche analitiche e diagnostiche, si è proceduto alla validazione del metodo secondo i criteri indicati dal WOA. Sono stati utilizzati sieri di riferimento internazionale, prodotti dal Centro di Riferenza Internazionale per l'AIE, sieri di campo collezionati dal Centro di Riferenza Nazionale per l'AIE, sieri della collezione dell'*European Union-Community Reference Laboratory* e sieri di equini sperimentalmente infettati e prelevati a diversi giorni dopo l'infezione, forniti dal *Gluck Equine Research Center* del *Kentucky University*. Test statistici appositi sono stati impiegati per la valutazione di alcuni parametri della validazione.

Il CTB-ELISA è risultato robusto, ripetibile e riproducibile. Confrontato con il test di Immunodiffusione in Gel di Agar (AGID), è risultato avere una sensibilità diagnostica relativa del 100%, una specificità diagnostica relativa dell'80,3%, un valore predittivo positivo del 94,8% ed un valore predittivo negativo del 100%.

Anche se l'ELISA pare avere una specificità più bassa del metodo di riferimento, il confronto tra i due metodi sui sieri di animali sperimentalmente infetti ha mostrato che il test ELISA svela, in effetti, più precocemente la positività rispetto all'AGID. Inoltre, una certa percentuale di campioni esaminati (negativi in AGID e positivi in ELISA), è stata confermata come positiva in *Immunoblotting*. Queste evidenze sono da considerare a favore del test ELISA nella valutazione del suo apparente modesto valore di specificità. Un altro vantaggio è rappresentato dall'oggettività di lettura dei risultati che risolve i noti problemi legati all'interpretazione degli stessi in caso di impiego del test AGID.

I nostri dati dimostrano una maggiore sensibilità del test ELISA rispetto all'AGID in quanto è in grado di individuare soggetti, infetti ma ancora non reattivi in AGID, che necessiterebbero di approfondimenti diagnostici con metodi alternativi di conferma riportati dal WOA o di un monitoraggio sierologico. L'impiego di questo strumento diagnostico risulta particolarmente indicato come test di *screening* nel Piano di Sorveglianza e Controllo dell'AIE al fine di reclutare il maggior numero di soggetti positivi.