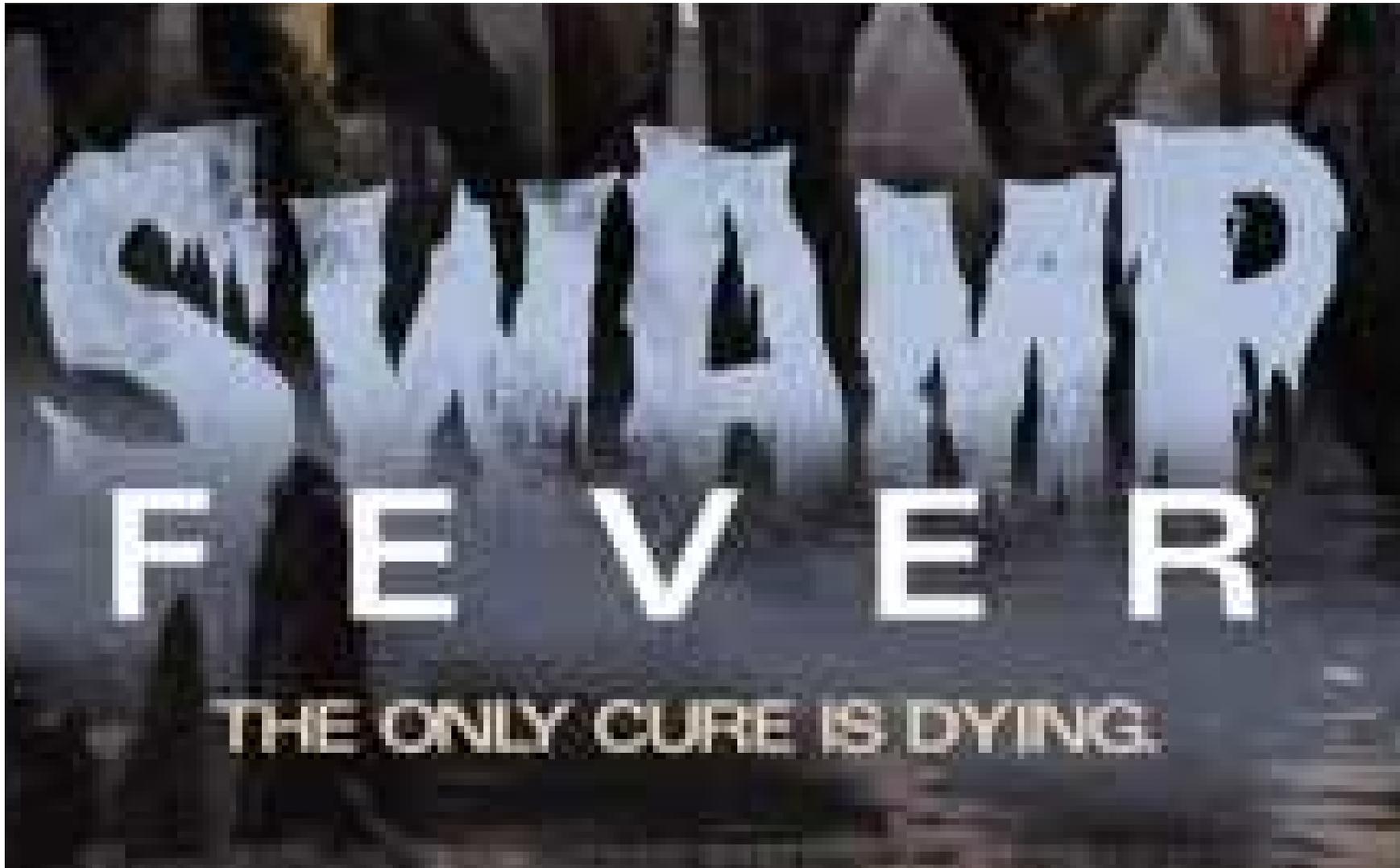


# Equine Infectious Anemia





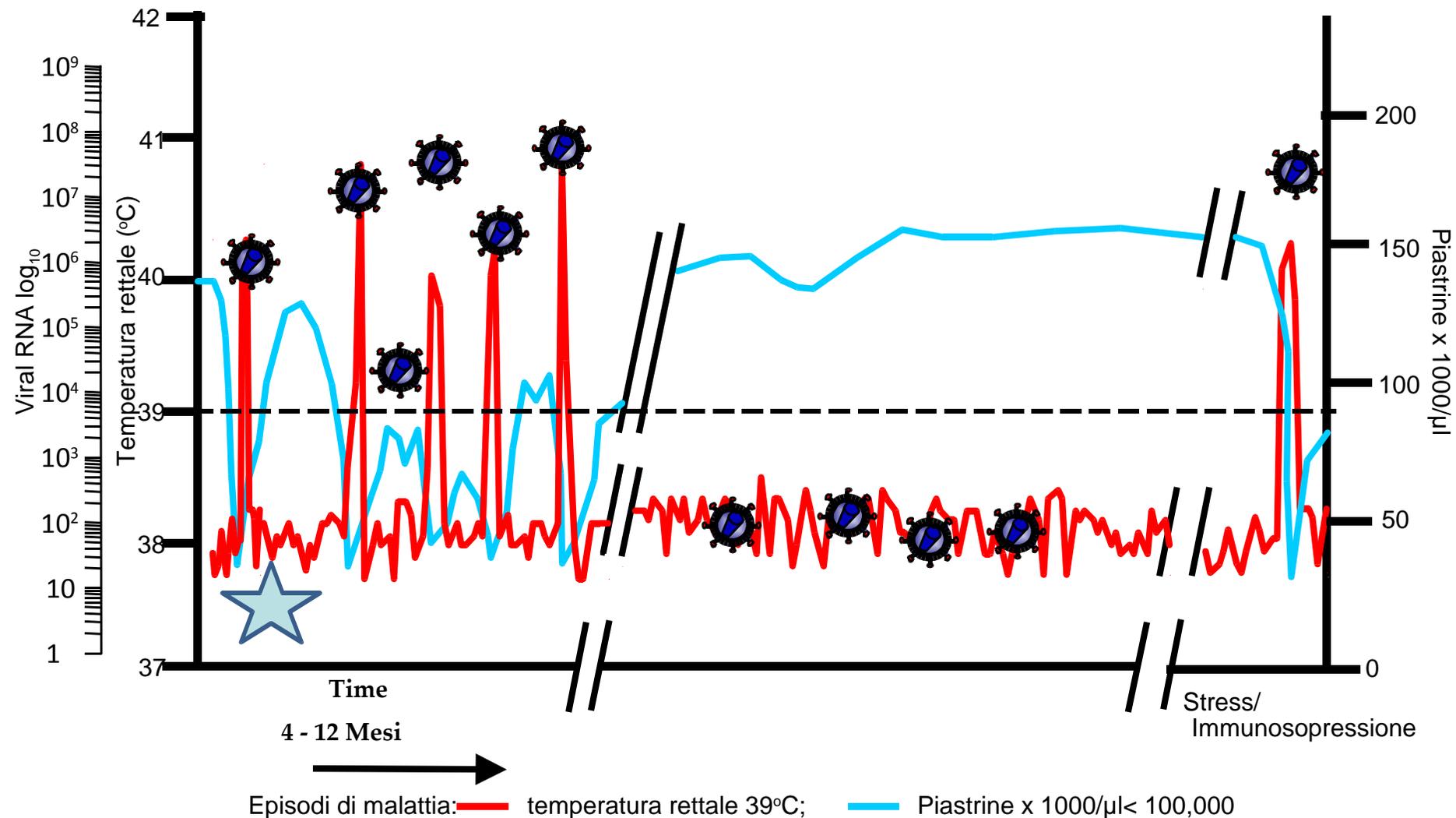
**CJ Issel, DVM, PhD**  
**University of Kentucky**  
**Gluck Equine Research Center**

# Decorso tipico durante le infezioni da AIEV

Acuto

Cronico

Inapparente



# **AIE negli Stati Uniti**

**1970: Nessuna prova diagnostica**

**1972-79: >50,000 casi diagnosticati**

**1980-2000: Numero di casi decresce**

**Da 4,000/anno a meno di 1,000 nel 2013**

**2013: popolazione in movimento esaminata**

**troppo spesso**

**38 casi >\$1,500,000 ciascuno!**

**Serbatoio non esaminato**

# **Diagnosi di AIE**

**Segni clinici non affidabili**

**Isolamento del virus non pratico/possibile**

**Rilevamento degli anticorpi**

**AGID 1970**

**ELISA 1984**

**Immunoblot 1984**

**RNA/DNA virale aumenta l'acceptabilità**

**Gold Standard: rilevamento degli anticorpi in**

**AGID**

**(correlazione con inoculazione  
cavallo – 250ml)**

# Esame sierologici – Sistema a tre livelli

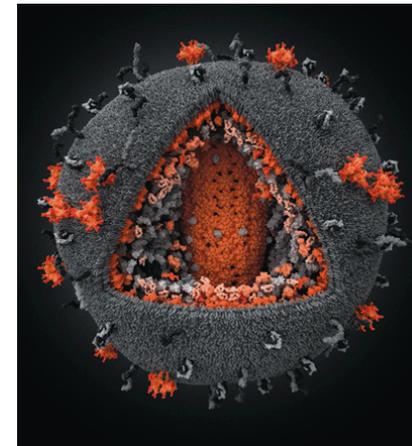
	<b>Risultato</b>	<b>Referto</b>
<b>ELISA primo esame</b>	<b>NEG</b>	<b>NEG</b>
	<b>POS</b>	
<b>Esami in AGID</b>	<b>POS</b>	<b>POS</b>
	<b>NEG</b>	
<b>Immunoblot</b>	<b>POS</b>	<b>POS</b>
	<b>NEG</b>	<b>NEG</b>

```
graph TD; ELISA[ELISA primo esame] -- POS --> AGID[Esami in AGID]; AGID -- POS --> Immunoblot[Immunoblot];
```

# Diagnosi sierologica dell'AIE

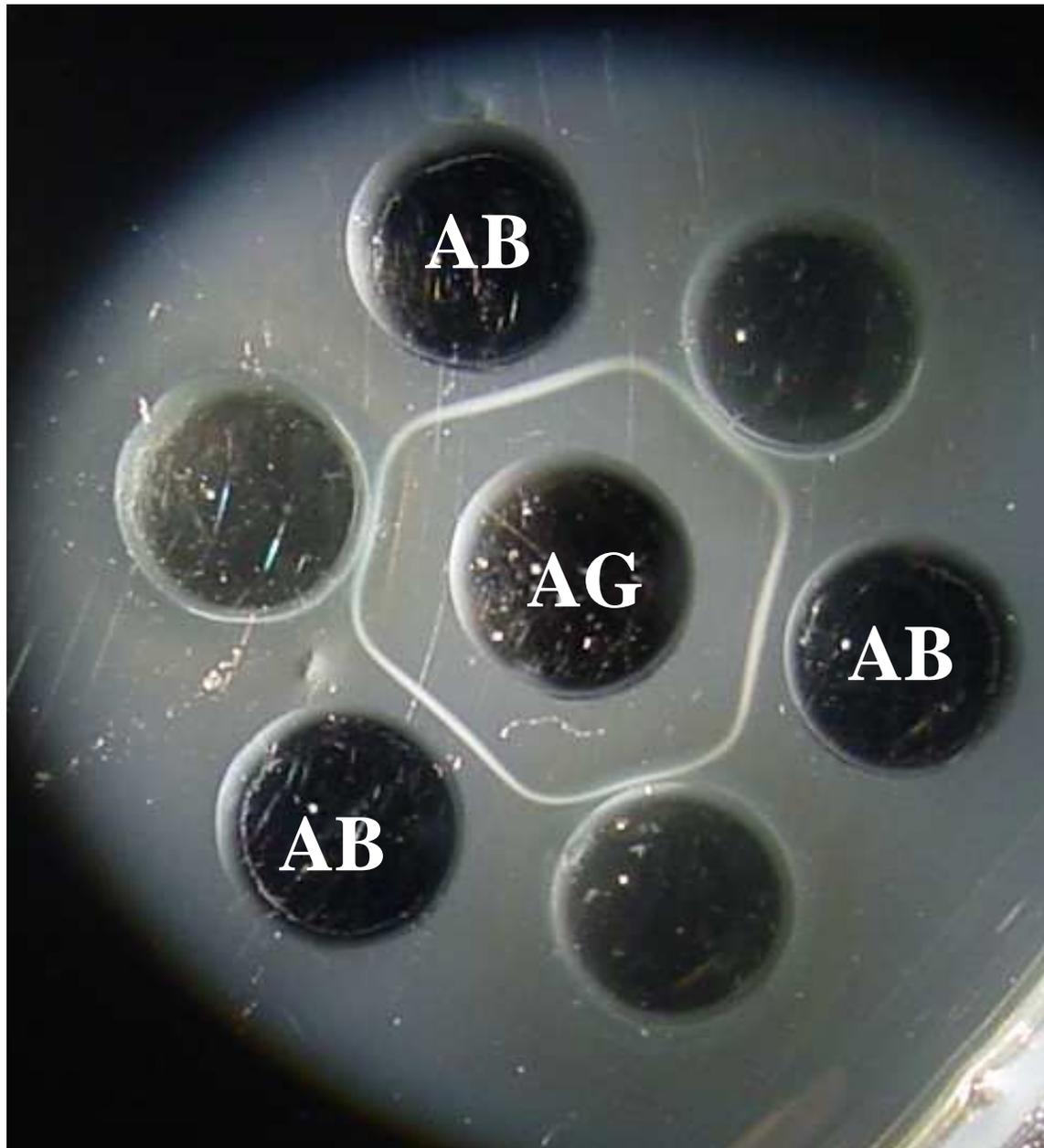
## Prove sierologica per AIE

<b>AGID (Coggins)</b>	<b>p26</b>	<b>Principale proteina capsidica</b>
<b>4 kit ELISA (US)</b>	<b>p26</b>	
<b>Immunoblot</b>	<b>gp90, gp45, p26</b>	<b>Proteine dell'involucro e del capsid</b>
<b>Involucro più immunogenico</b>		
<b>p26</b>	<b>&gt;40% del virione:</b>	<b>~2000/</b>
<b>gp90-gp45:</b>	<b>minore</b>	<b>~30/</b>



**AGID**  
**(Coggins)**

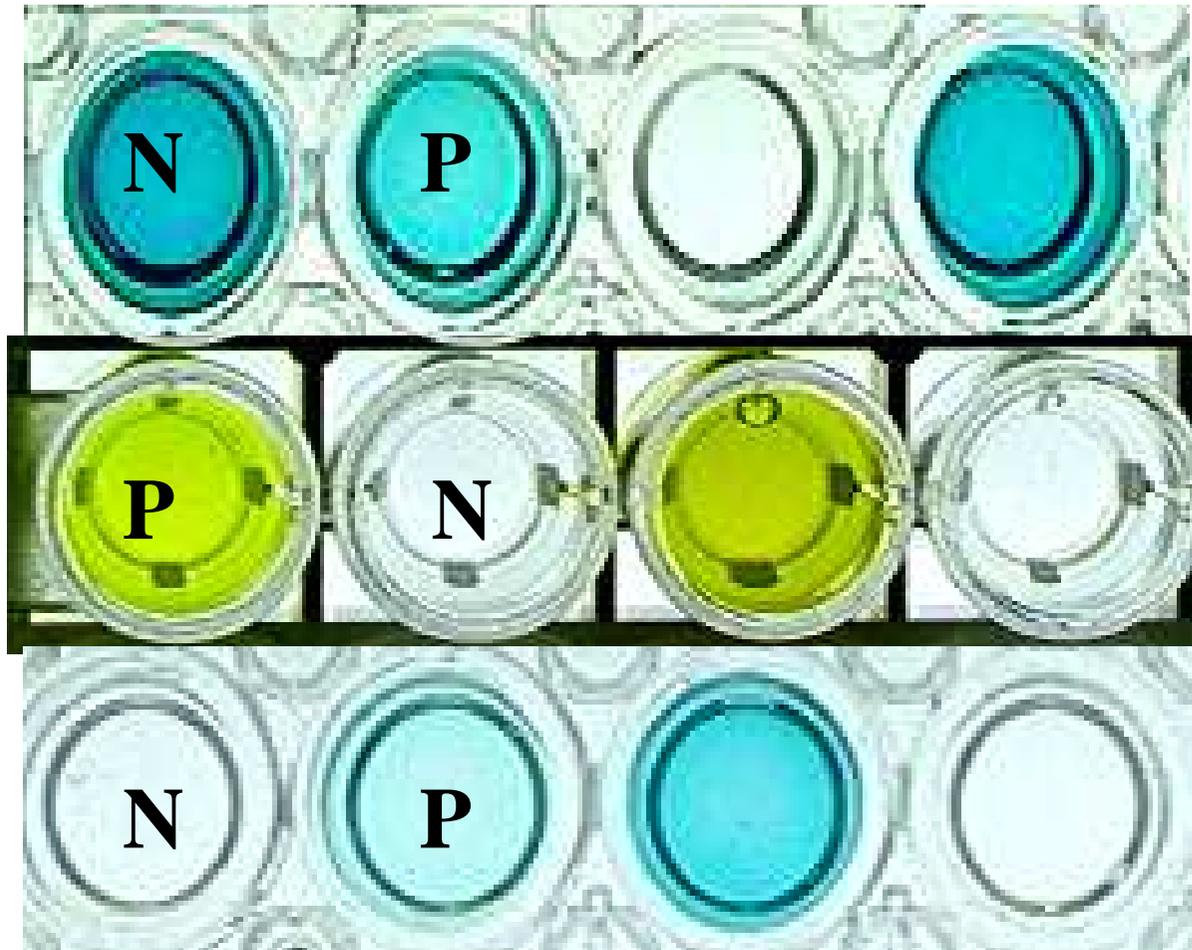
**POS**



# Prove di ELISA

Colori dei campioni confrontati ai controlli di riferimento

Spettofotometro permette una lettura obiettiva



# **La prova di Immunoblot per l'AIE**

**Virus prodotto su colture cellulari, purificato e denaturato con SDS-calore**

**Separato in proteine individuali**

**impiegando la massa molecolare relativa delle proteine con separazione su gel di poliacrilamide**

**Trasferimento su membrana**

**Siero sospetto esaminato alla diluizione di 1:20 Reazione con almeno 2 delle proteine?**

**Unità di superficie , transmembrana, prot capsidica**

**maggiore**

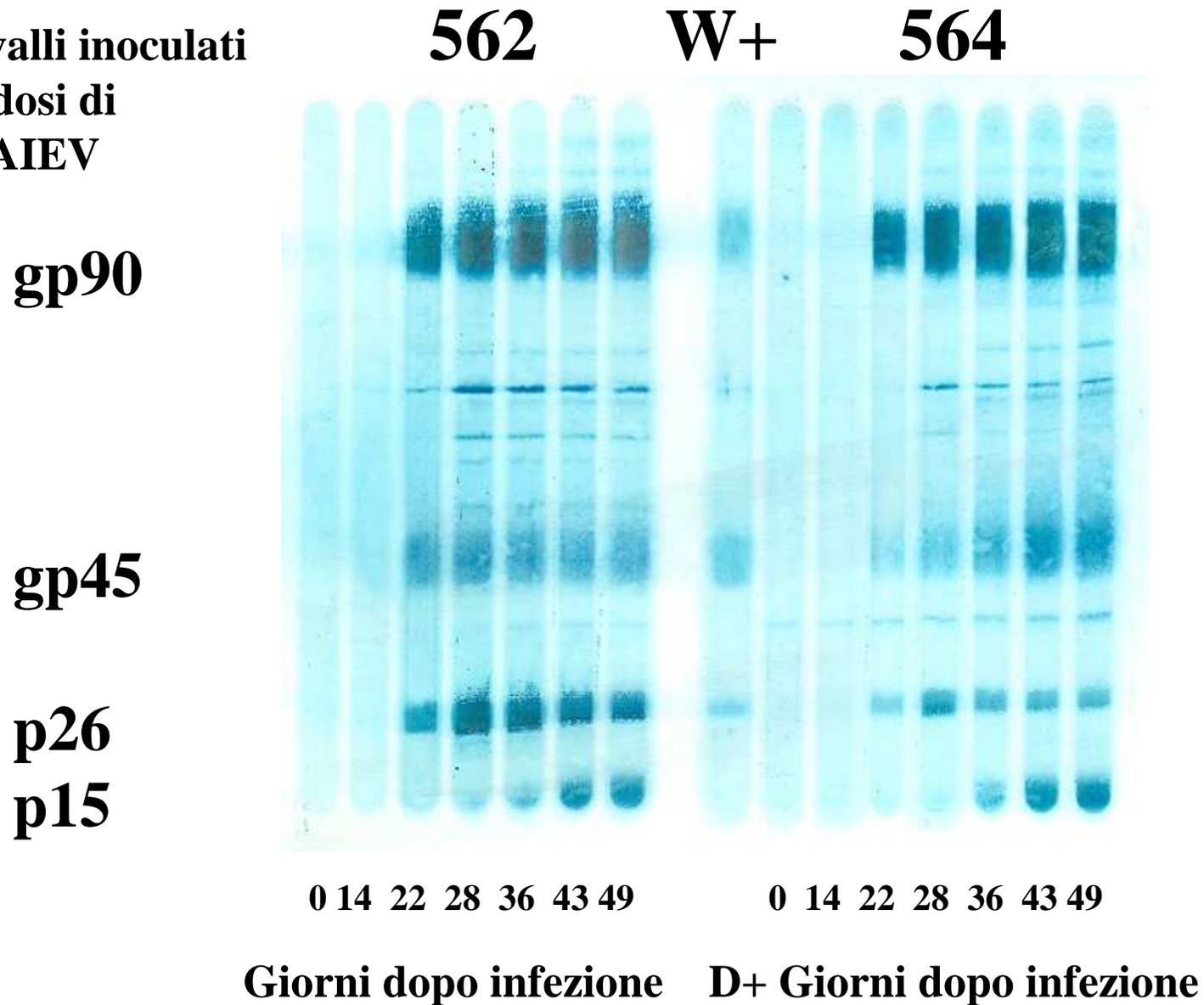
**gp90**

**gp45**

**p26**

# Prova di Immunoblot per EIA

Risposta di cavalli inoculati  
endovena con dosi di  
 $10^3$ TCID<sub>50</sub> di AIEV



# Prova

# Risultati Attesi

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>
<b>AGID</b>	-	-	+	-	-	+	+
<b>CELISA</b>	-	+	+	-	+	+	+
<b>Vira-CHEK</b>	-	-	(+)	-	+	+	+
<b>SA-ELISA</b>	-	-	-	-	+	-	+
<b>Immunoblot</b>	-	-	-	+	+	+	+

**Tasso**

**>99%**

**>99%**

# Diagnosi sierologica dell'AIE

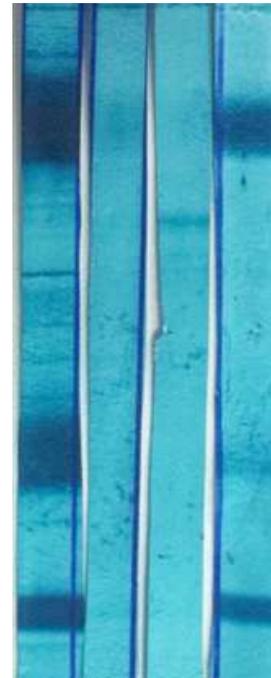
Stesso campione: concordanza in AGID/ELISA

Alcuni: Interpretato AGID NEG / ELISA POS

Alcuni: AGID esito  
errato



e blot +  
1 - - W+



# **Sfide nella diagnosi sierologica nelle infezioni da EIAV**

**180-210 giorni dopo l'infezione – ceppo  
vaccinale**

**AGID/ELISA/Immunoblot**

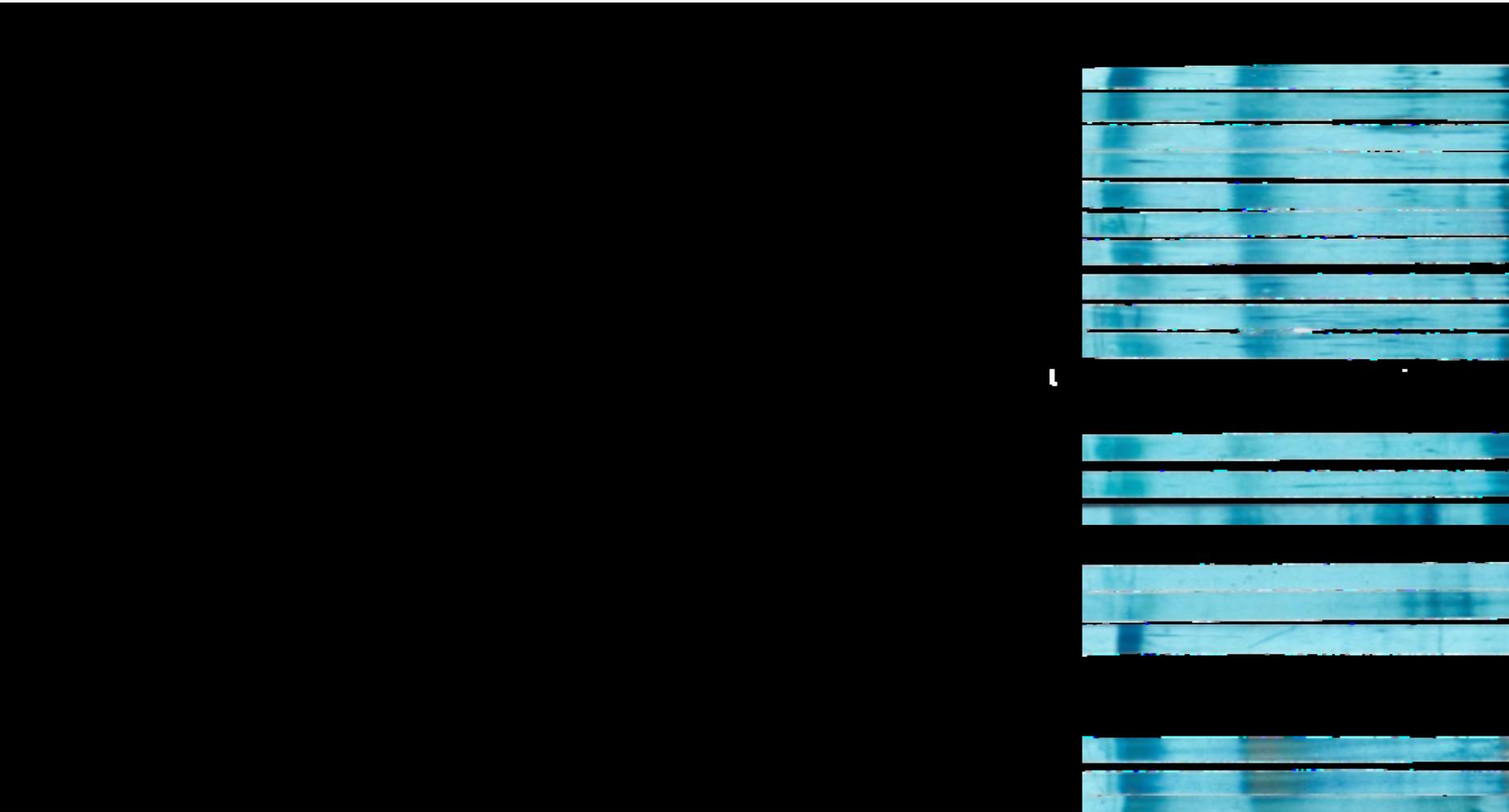
**75% dei vaccinati - Positivi in tutti i 3  
esami sierologici**

**Primi anticorpi entro le 28 – 42 giorni**

**25 % Negativi in AGID: +/- in ELISA : + in  
Immunoblot**

# **Le sfide nella diagnosi sierologica nelle infezioni da EIAV**

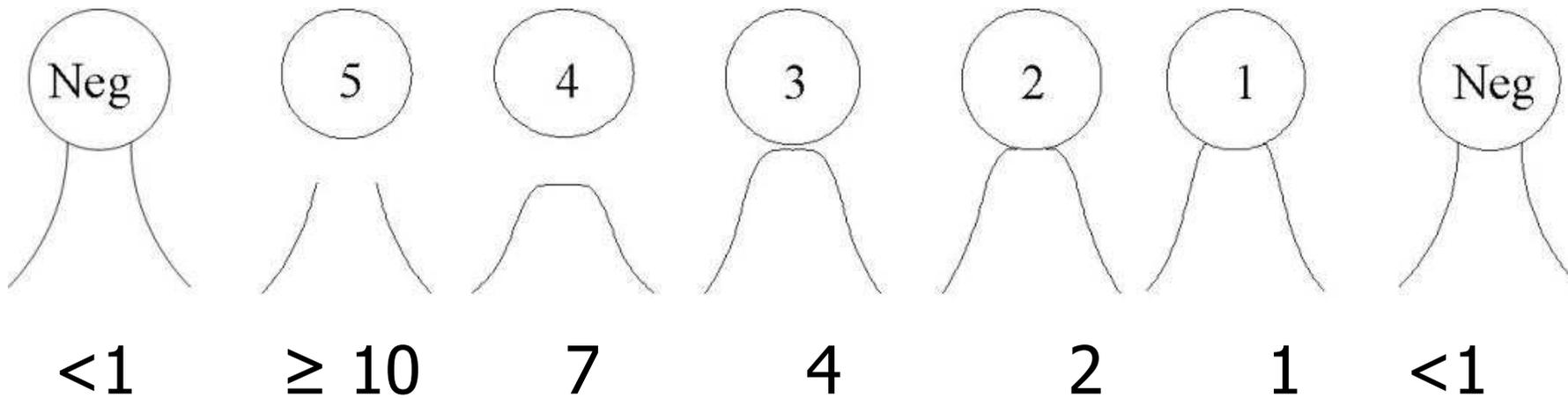
**180-210 giorni dopo infezione – ceppo vaccinale**



# AGID (Coggins) – reazione attese nella prova

Positive Reactions

---



Quantità di anticorpi alla p26 con un concentrazione costante di antigene