



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Panoramica sulle prove eseguite a fini diagnostici e di sorveglianza



Le Malattie Virali dal sospetto alla diagnosi: gestioni delle attività e dei
processi diagnostici

Raffaele Frontoso – Giuseppe Manna – Giusy Cardeti

Roma, 28 maggio 2014





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Area tecnico - sanitaria

Area Centrale

Direzione Operativa Diagnosi Malattie Virali e delle Leptospirosi
Dr. Gianluca Autorino

Laboratorio
Rabbia e Leptospirosi

Laboratorio
Diagnostica virologica
e produzione antigeni
virali

Laboratorio Sierologia
malattie virali

Laboratorio Centro di riferimento
nazionale per le malattie degli
equini

Laboratorio Centro di
riferimento nazionale anemia
infettiva equina

Dr.ssa Maria Teresa Scicluna





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



ORGANIZZAZIONE DELLE ATTIVITÀ

- ✓ attività di sorveglianza pianificata
- ✓ attività non pianificata: diagnostica
- ✓ tecnico scientifica di supporto e attività di ricerca





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Attività di sorveglianza pianificata

Piani Nazionali:

- ✓ Piano Nazionale di Controllo dell'Influenza Aviaria
- ✓ Piano Nazionale di Sorveglianza della Bluetongue
- ✓ Piano Nazionale di Eradicazione della Malattia Vescicolare
- ✓ Piano Nazionale di Sorveglianza della Peste Suina Classica
- ✓ Piano Nazionale di eradicazione della Malattia di Aujeszky
- ✓ Piano Nazionale di Eradicazione dell'Arterite Virale degli Equidi
- ✓ Piano Nazionale di Sorveglianza della West Nile Disease

Piani Regionali:

- ✓ Anemia infettiva equina (Regione lazio)
- ✓ piano Rinotracheite Infettiva Bovina (IBR)

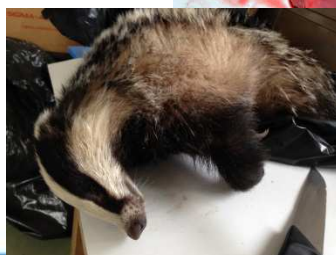
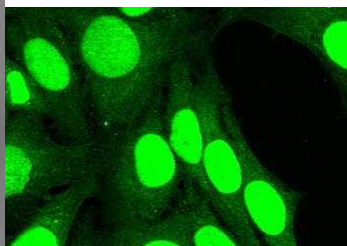
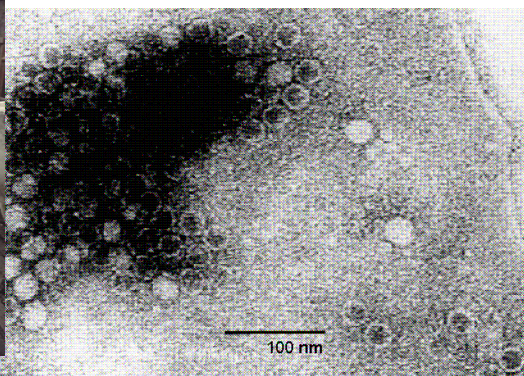
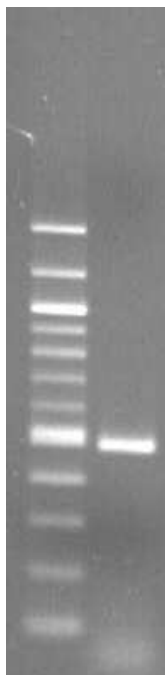




Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Attività non pianificata: diagnostica





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Attività tecnico scientifica di supporto e ricerca

- ✓ consulenze e pareri tecnici a diversi enti (es. Stesura piano Anemia, Piano IBR ecc)
- ✓ consulenza specialistica attraverso sopralluoghi sul campo
- ✓ Ricerca e partecipazione in ricerche con partner scientifici italiani ed esteri
- ✓ attività di formazione



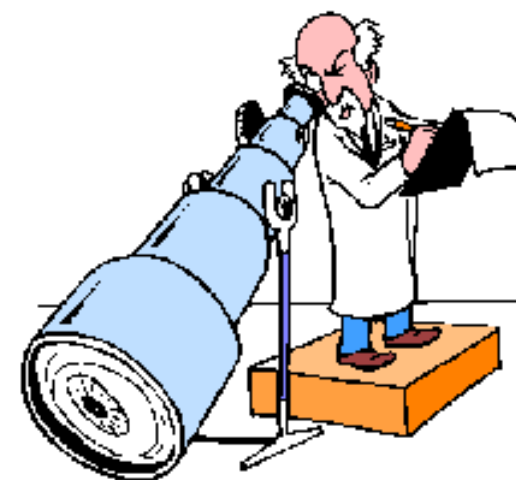


Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana

Attività diagnostica:



- ✓ molteplice e differenziata
- ✓ oltre 90 metodiche di laboratorio
- ✓ gestite secondo il Sistema Qualità
- ✓ automazione



primo livello: esami effettuati in prima istanza, in genere esaustivi rispetto al quesito diagnostico e molto spesso corrispondono ad esami di non elevata complessità

secondo livello: esami che vengono eseguiti per confermare i precedenti o a seguito della necessità di approfondimenti diagnostici



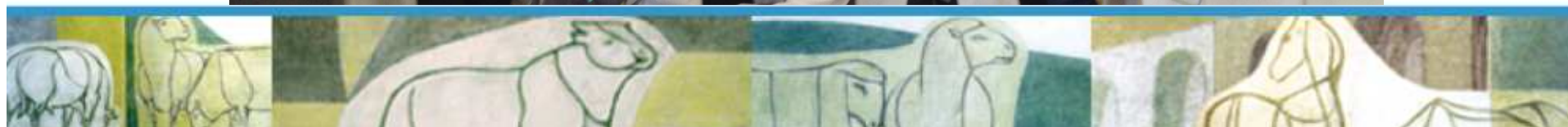


Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana

RISORSE UMANE



- ✓ n. 7 tecnici di laboratorio di ruolo - n. 5 tecnici precari – pagati con attività di ricerca
- ✓ n. 2 dirigenti veterinari di ruolo
- ✓ n. 2 veterinari e n. 1 Biologo precari assegnati alle attività dei centri di riferimento





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Prove gestite

ELISA antigene

PROVA
BORDER DISEASE
BVD
CORONAVIRUS
EBHS
ESCHERICHIA COLI K99
INFLUENZA EQUINA
MALATTIA EMORRAGICA VIRALE
PESTE SUINA CLASSICA
ROTAVIRUS

ELISA anticorpi

PROVA
ADENOVIRUS
AFTA
AFTA 3ABC
AFTA O
ANEMIA INFETTIVA EQUINA
ANEMIA INFETTIVA EQUINA
BABESIA CABALLI
BLUE TONGUE
BORDER DISEASE
BORNAVIRUS
BVD
CAEV
FEBBRE CATARRALE MALIGNA (MCF) (OvHV-2)
MALATTIA VESCICOLARE
PARAINFLUENZA 3 (PI3)
PESTE EQUINA
PESTE SUINA CLASSICA
RINOTRACHEITE INFETTIVA DEL BOVINO (IBR)
SIMIAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS (SIV)
THEILERIA EQUI
VIRUS CRIMEAN CONGO FEVER
VIRUS DI SCHMALLENBERG
VISNA MAEDI
WEST NILE DISEASE





Prove gestite



PROVA
ARTERITE VIRALE EQUINA
CIMURRO
EQUINE HERPES VIRUS 1 (EHV-1)
EQUINE HERPES VIRUS 4 (EHV-4)
FEBBRE CATARRALE MALIGNA (MCF) (OvHV-2)
HERPESVIRUS BUFALINO (BUHV1)
POXVIRUS
RABBIA (DOSAGGIO ANTICORPI)
RINOTRACHEITE INFETTIVA DEL BOVINO (IBR)
VIRUS DI SCHMALLEMBERG
VIRUS TOSCANA

Prove di
sieroneutralizzazione

PROVA
EQUINE HERPES VIRUS 1 (EHV-1)
EQUINE HERPES VIRUS 4 (EHV-4)
MORBO COITALE MALIGNO
MORVA

Prove di
fissazione del complemento





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Pianificazione delle attività di laboratorio

- ✓ Programma settimanale di gestione personale tecnico e anche per responsabili di laboratorio
- ✓ Programma di approvvigionamento cellule
- ✓ Programma invii materiale diagnostico





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana

Es. Pianificazione attività DO DMV



	Lunedì 17/03/14	Martedì 18/03/14	Mercoledì 19/03/14	Giovedì 20/03/14	Venerdì 21/03/14
Altigeri	EHV 1 SN 14020470 FUORI LISTA URG	FAVN N2A/CORSO	ASSENTE	COLORAZIONE FAVN/VERIFICA PER ESECUZIONE PSC	PSC
Caciolo	ASSENTE	Qualità/Corso	Qualità	Qualità	Qualità
CORRADÌ	MVS	MAT LEPTO/Corso	AIE Elisa/AGID	PCR	PCR
Costantini	IBR ELISA	AVE SN monostrato preformato/URG 20470 FUORI LISTA	INFLUENZA EQUI	IHA AV E NDV URGENTI	BABESIA//prep. Piastre agid
Del Frate	ACCETTAZIONE	ACCETTAZIONE/Corso	ACCETTAZIONE	ACCETTAZIONE	ACCETTAZIONE
Giordani	ADD. FDC CON SABATINI	ADD. FDC CON SABATIN	PSC	SBV SN con VIOLA/IF MORBILLIVIRUS	MVS
Gregnanini	BVD-BD ELISA ANTICORPI	PSC/Corso	BVD -BD Ag 1°/IBR gE1°	EHV-4/SN- PASSAGGI LEPTO CON POLENTA	CDV SN/N2A
MACCARONE	qualità	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	qualità
Sabatini	FDC MORVA E MORBO- ADD GIORDANI	FDC MORVA E MORBO-ADD GIORDANI	MVS	IBR ELISA//BR gE 2°	BT
Simula	inoculo uova parlare con scicluna+ aliquotare i liquidi allantoidei/IF PIROPLASMI	TIT. NUOVO LOTTO ANEMIA con nardini	IBR SN	PCR/UOVA IN FRIGO IL Pomeriggio	RACCOLTO UOVA ED HA
Polenta	AUJ./ gestione lab	ASSENTE	PASSAGGI COLLEZIONE??/tracciabilità prove	PASSAGGI LEPTO CON GREGNANINI/PASSAGGI COLLEZIONE??	AUJ
Viola	PCR	PCR	PCR	SBV SN con Giordani	ASSENTE
Stilli	IBR ELISA/SBV ELISA	prep. Piastre agid/BT	BABESIA/IBR ELISA	MAT LEPTO/BVD -BD Ag 2	AIE ELISA

**N.B.: VERIFICA PROVE EQUINE CARICATE SUL LABORATORIO CERME .Si prega di avvertire quanto prima in caso di sospensione delle sedute di SN -PER CHI FA LA
PROVA BABESIA ELISA CHIAMARE ACCETTAZIONE PER VERIFICARE CAMPIONI NON ANCORA TRASFERITI**





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana

Pianificazione attività



	Lunedì 24/02/14	Martedì 25/02/14	Mercoledì 26/02/14	Giovedì 27/02/14	Venerdì 28/02/14
Frontoso	ARTICOLO FCM - LETTURE/ sopralluogo ippodromo	ARTICOLO FCM/LETTURE	ARTICOLO FCM - LETTURE/ sopralluogo ippodromo	LETTURE/ PROVA KIT IBR gE LATTE/FDC	ARTICOLO FCM/LETTURE
Manna	PCR	PCR	PCR	PCR	PCR
Nardini	PCR/Tit kit Aie elisa- LAVORO VALIDAZIONE	PCR/Tit kit Aie elisa- LAVORO VALIDAZIONE	PCR/Tit kit Aie elisa- LAVORO VALIDAZIONE	PCR/Tit kit Aie elisa- LAVORO VALIDAZIONE	PCR/Tit kit Aie elisa- LAVORO VALIDAZIONE
Ricci	SIL/ricerca SBV	SIL/ricerca SBV	SIL/ricerca SBV	SIL/ricerca SBV	SIL/ricerca SBV
Rosone	PROCED LEPTO/CORSO DMV	PROCED LEPTO/CORSO DMV	PROCED LEPTO/CORSO DMV	PROCED LEPTO/CORSO DMV	PROCED LEPTO/CORSO DMV

Programma interno al laboratorio di Biologia Molecolare per la gestione delle attività di Estrazione, amplificazione, ordini ecc.

Suddivisione delle Attività afferenti al reparto in tre macroaree		
SUINI RUMINANTI	EQUINI CERME CRAIE	RABBIA- LEPTO AVIARI

Ogni macroarea è assegnata ad un Veterinario per la durata di un quadrimestre





Istituto Zooprofilattico Spe
delle Regioni Lazio e Toscana

Pianificazione approvvigionamenti substrati cellulari

Sieri equini per prova
arterite SN: in caso di
presenza di effetto
citotossicoda specificare



RICHIESTA APPROVVIGIONAMENTO COLTURE CELLULARI

La Struttura di _____ DMV _____

Per poter espletare le seguenti Prove:

- a. POS DMV 004 NOR (EHV-1 SN)
- b. POS DMV 001 NOR (EAV SN)
- c. POS DMV 012 NOR FAVN
- d. ISOLAMENTO VIRUS RABBIA IN TC
- e. POS DMV 003 NOR (BHV -1 SN)
- f. VERO BRESCIA PER SBV SN
- g. POS DMV 005 NOR (EHV-4 SN)
- h. POS DMV 001 INT (CDV SN)

CHIEDE

Che gli vengano consegnate:

le seguenti Colture cellulari: in data/h: Quantità: Prepare: (data)

a. RK 13 ATCC	- 07/04/2014	-	-
b. RK 13 ATCC	- 08/04/2014		
c. BHK 21	- 08/04/2014		
d. N ₂ A	- 08/04/2014	-	-
e. AUBEK	- 10/04/2014	-	-
f. VERO BRESCIA	- 10/03/2014	- volume di 100 ml	-





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Tempi di risposta carta dei servizi

CARTA DEI SERVIZI				
SPECIE	PROVA	MATRICE	TECNICA	TEMPI DI RISPOSTA IN gg
BOVINI E BUFALINI	BLUE TONGUE	SANGUE CON EDTA	PCR	23
		SIERO	ELISA	12
	BVD	SANGUE CON EDTA	ELISA Ag	18
		SIERO	ELISA Anticorpi	12
	IBR	SIERO	ELISA	12
			SN	18
	LEPTOSPIRA		MAT	12
	ROTAVIRUS	FECI/INTESTINO	ELISA Ag	18
CANIDI	RABBIA	ENCEFALO	IF Ag	7
		SIERO	FAVN	19
	CIMURRO	ORGANI	IF Ag	9
		SIERO	SN	18
EQUIDI	BABESIA	SIERO	IF INDIRETTA	7
	ARTERITE		SN	18
	EHV 1-4			





Tempi di risposta

Primo trimestre 2013 vs 1 trimestre 2014

Struttura	2013							2014						
	Analisi	TAIP	TEOP	TVRP	TAS	TER	TR	Analisi	TAIP	TEOP	TVRP	TAS	TER	TR
RM - Mal. Virali - Laboratorio Rabbia e leptospirosi	26.926	5,64	0,64	0,23	1,51	2,38	8,02	23.880	5,17	0,54	0,15	1,41	2,10	7,27

L'attuale programmazione dei giri dalle sezioni non aiuta a ridurre il TAIP

TAIP: Data Inizio Analisi - Data Preaccettazione (Tempo di Attesa Inizio Prova) **TEOP:** Data Fine Analisi - Data Inizio Analisi (Tempo di Esecuzione Operatore) **TVRP:** Data Validazione Resp. Prova - Data Fine Analisi (Tempo Validazione Responsabile Prove) **TAS:** Data Refertazione - Data Validazione Resp. Prova (Data Attesa emissione Referto) **TER:** Data Refertazione - Data Inizio Analisi (Tempo di Esecuzione e Refertazione) **TR:** Data Refertazione - Data Preaccettazione (Tempo di Risposta)



Tempi di Risposta (calcolati in giorni – periodo gennaio – maggio 2014)



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Prova - Tecnica	NDA	TAIP				
		M	Min	Max	Me	Q3
ALPHAHERPESVIRUS / PCR REAL TIME	47	8	2	20	2	8
ANEMIA INFETTIVA EQUINA / AGID Coggins	29	7	0	19	6	9
ANEMIA INFETTIVA EQUINA / AGID Qualitativa	61	5	0	19	3	6
ANEMIA INFETTIVA EQUINA / ELISA ANTICORPI	1.561	3	0	17	3	5
ANEMIA INFETTIVA EQUINA / ELISA ANTICORPI IGG	14	8	1	22	1	9
ANEMIA INFETTIVA EQUINA / IMMUNOBLOTTING	5	8	5	9	6	9
ARTERITE VIRALE EQUINA / PCR REAL TIME	66	6	1	13	5	7
ARTERITE VIRALE EQUINA / SIERONEUTRALIZZAZIONE (SN)	374	8	0	26	7	9
BABESIA CABALLI / ELISA ANTICORPI	135	3	0	12	3	5
BABESIA CABALLI / IF INDIRECTA	7	11	2	11	3	12
BABESIA CABALLI / PCR REAL TIME	91	4	0	11	4	5
BLUE TONGUE / ELISA ANTICORPI	3.298	3	0	12	4	4
BLUE TONGUE / PCR REAL TIME	110	4	0	9	3	6
BORDER DISEASE / ELISA ANTICORPI	187	6	1	11	6	6
BORDER DISEASE / ELISA ANTIGENE	10	6	2	8	7	8
BORDER DISEASE / PCR REAL TIME	96	5	1	11	5	6
BORNAVIRUS / PCR REAL TIME	12	6	3	13	5	7

L'attuale programmazione dei giri
dalle sezioni non aiuta a ridurre il
TAIP

M: valore medio; MIN: valore minimo; MAX valore massimo; ME mediana; Q3: terzo quartile





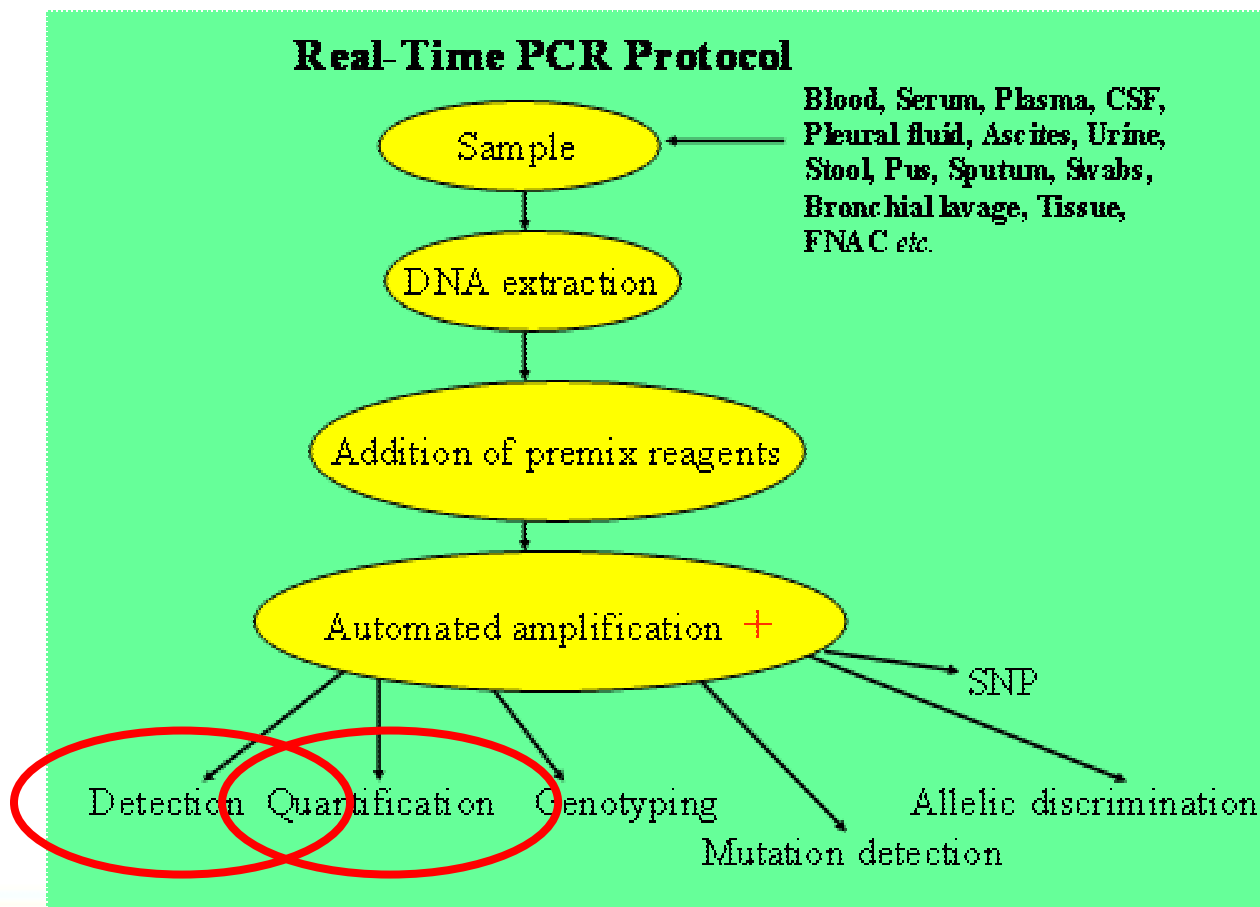
Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



GRAZIE PER
L'ATTENZIONE



La diagnosi diretta mediante real time PCR



2006

Inizia l'attività del laboratorio

Supervisione tecnico-scientifica di Virologia Speciale:

Messa a punto nuovi metodi

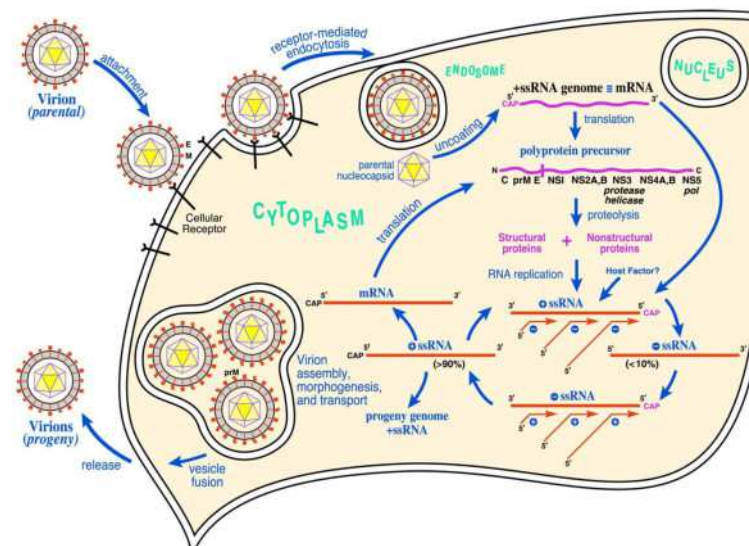
Validazione

Valutazione kit commerciali

1 sola metodica:

ricerca del West Nile Disease Virus

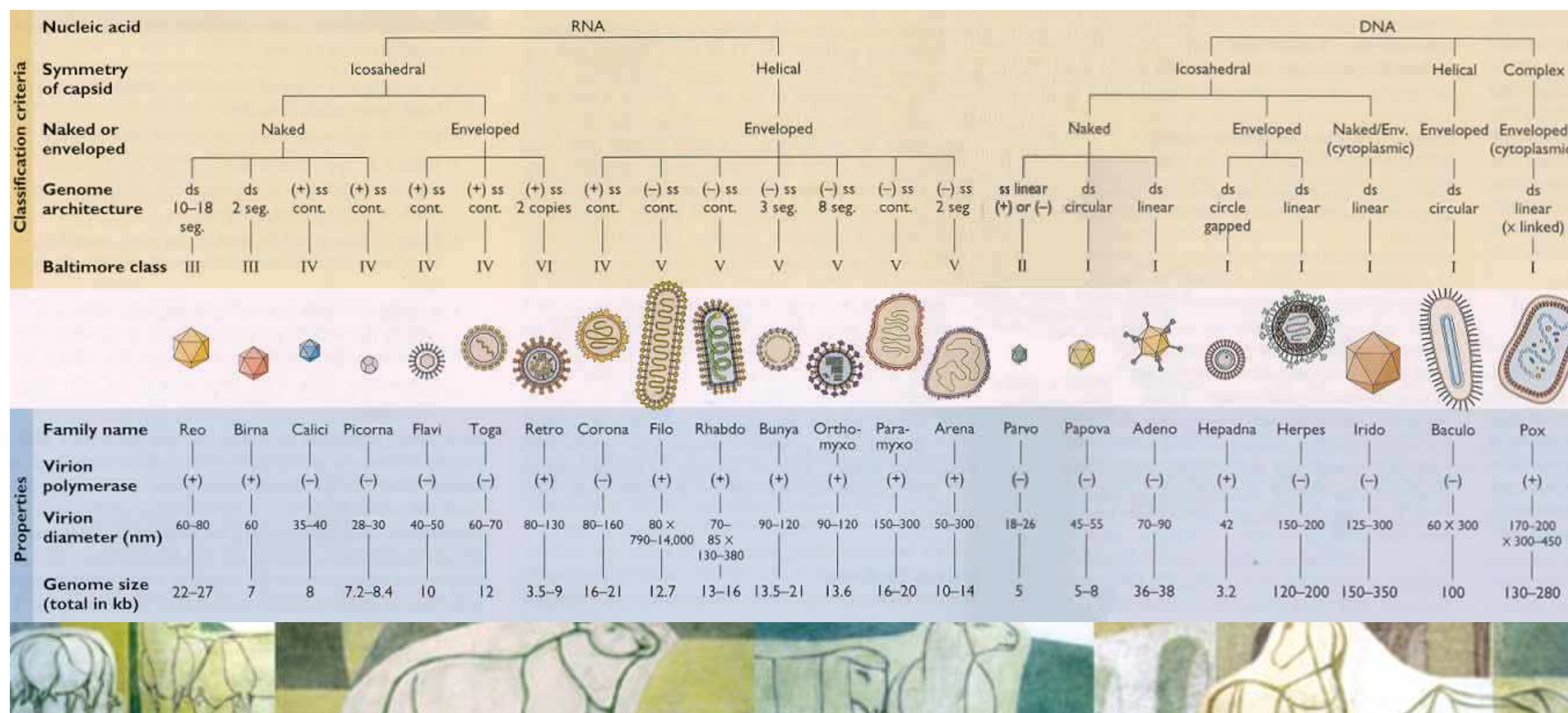
c.a. 400 campioni anno



2013

Gestiamo PCR per circa 40 patogeni diversi

c.a. 8000 campioni anno





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana

Le PCR disponibili



Agenti abortigeni

- qPCR per *Leptospire patogene* spp
- qRT-PCR per AVE
- qPCR per EHV1
- qPCR per Alphaherpesvirus
- qRT-PCR per BD/BVD
- qRT-PCR per Schmallenberg virus
- qRT-PCR per Blue Tongue

Virus neuropatogeni

- qPCR per EHV1 neurop.
- qRT-PCR per Rabbia
- qRT-PCR per Bornavirus
- PCR per OvHV-2 (FCM)
- qPCR per OvHV-2
- qRT-PCR per West Nile Disease
- qRT-PCR per Usutu virus
- qRT-PCR per Flavivirus

Patogeni equini

- qRT-PCR per AIE
- Nested RT-PCR per AIE
- qPCR per Peste Equina
- qPCR per *Theileria equi*
- qPCR per *Babesia caballi*

Virus respiratori

- qPCR per EHV4
- qRT-PCR per Equine Rhinovirus A
- qRT-PCR per Equine Rhinovirus B
- qRT-PCR per Influenza equina
- qRT-PCR per Influenza tipo A
- qRT-PCR per AI
- qRT-PCR per AI H5, H7, H9
- qRT-PCR duplex per VRSB e PI 3 Bov
- qPCR per BHV4

Patogeni aviari

- qRT-PCR per Newcastle Disease

Virus Patogeni suini

- qRT-PCR per Peste Suina Classica
- qPCR per Peste Suina Africana
- qPCR per Circovirus 1 del Suino
- qPCR per Circovirus 2 del Suino
- qRT-PCR per PRRSV
- qRT-PCR per Pseudorabies Virus

Altri virus patogeni

- qPCR per Canary Circovirus
- PCR per Herpesvirus

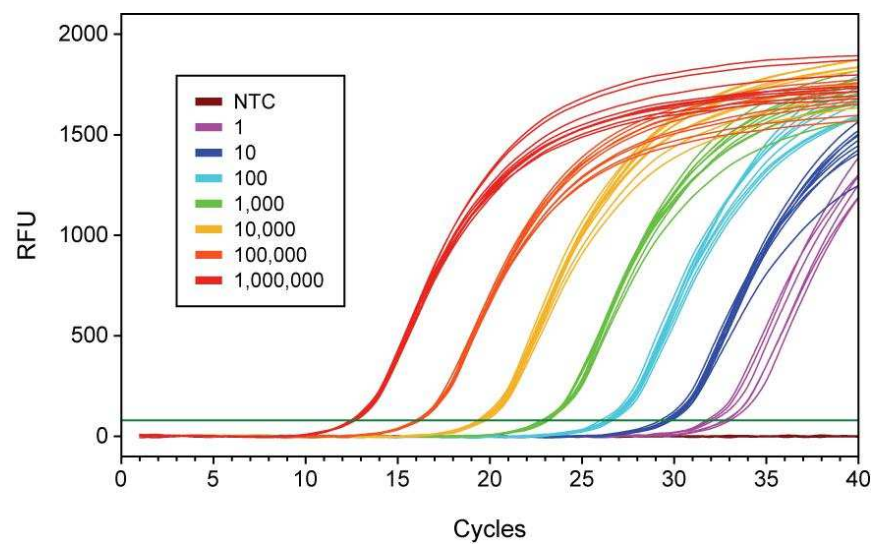




Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Vantaggi real time PCR





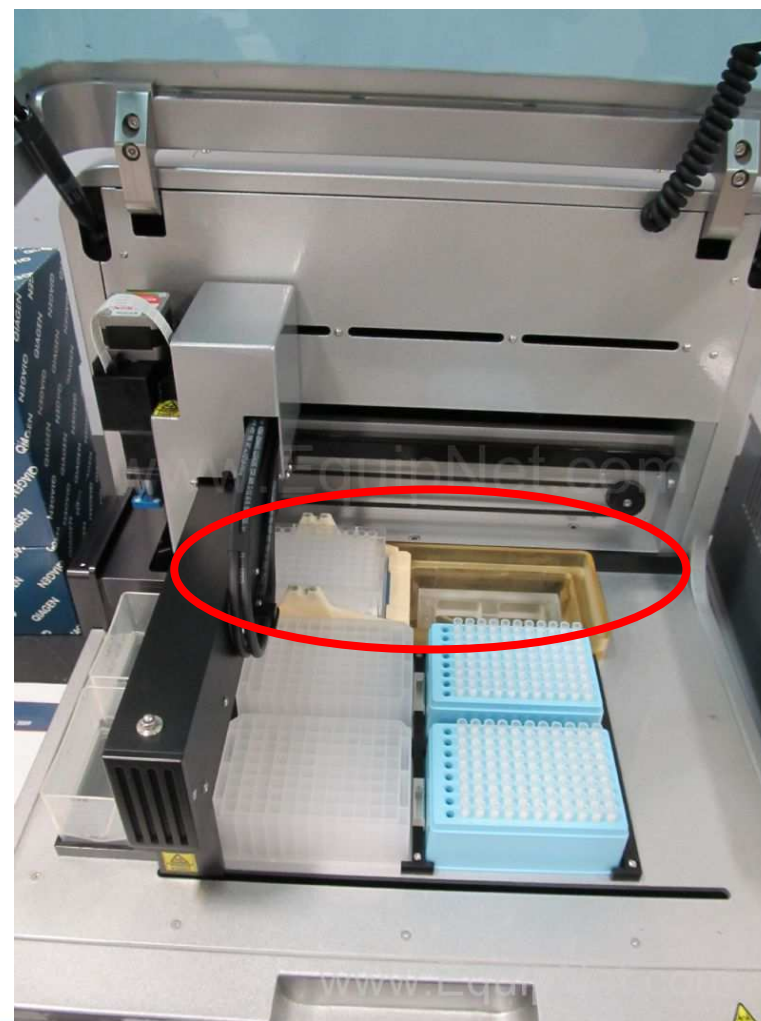
Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Qiaxtractor

Automazione

Qiacube



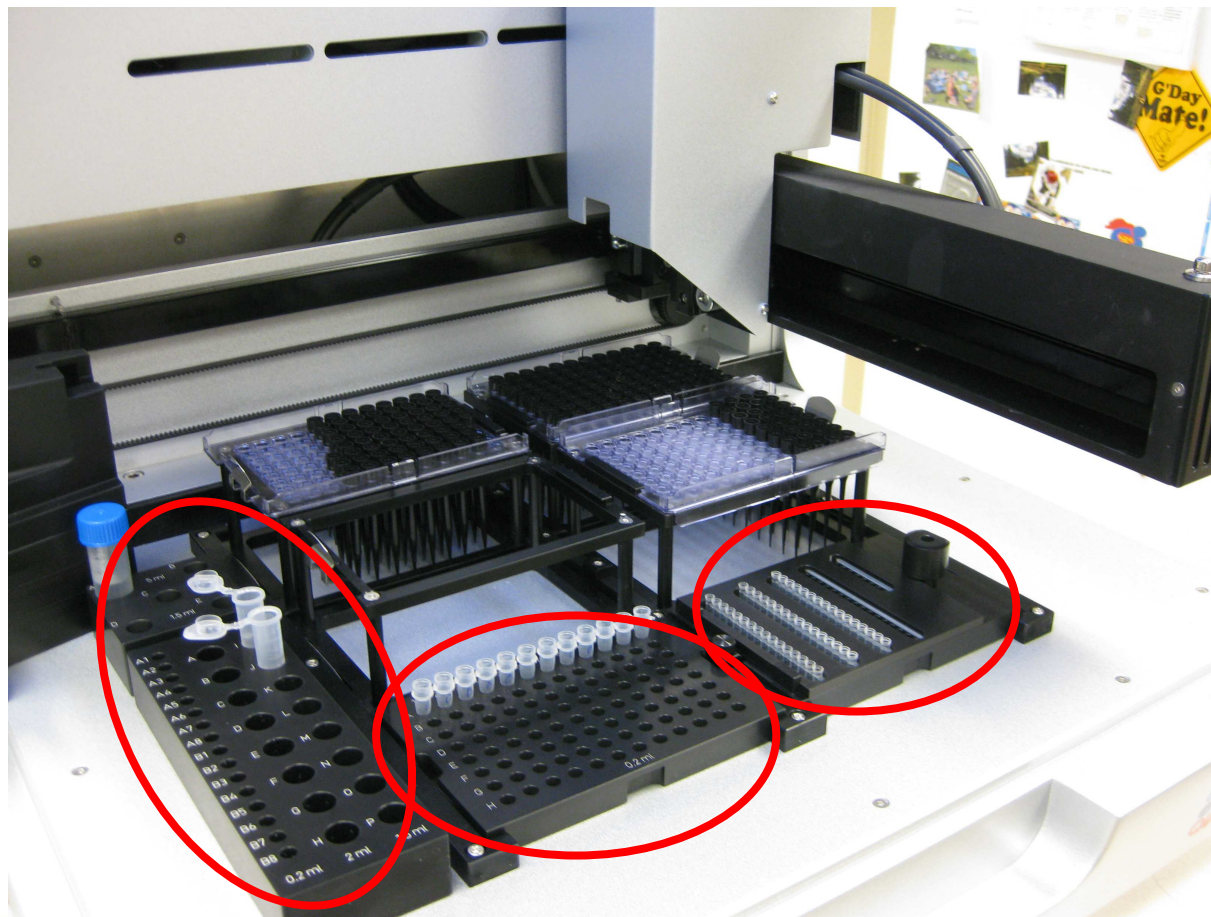


Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Automazione

Qiagility

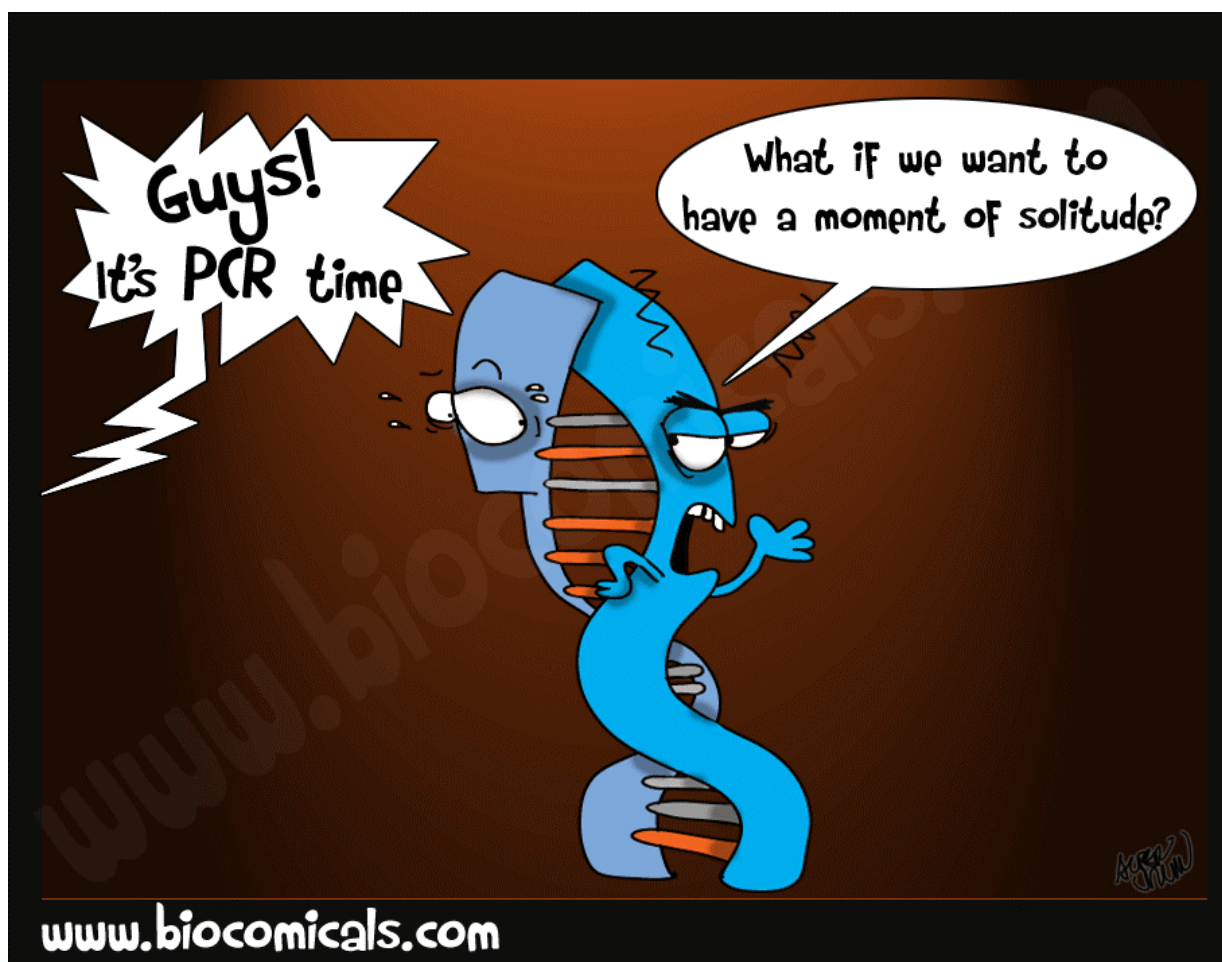




Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Velocità e alta processività



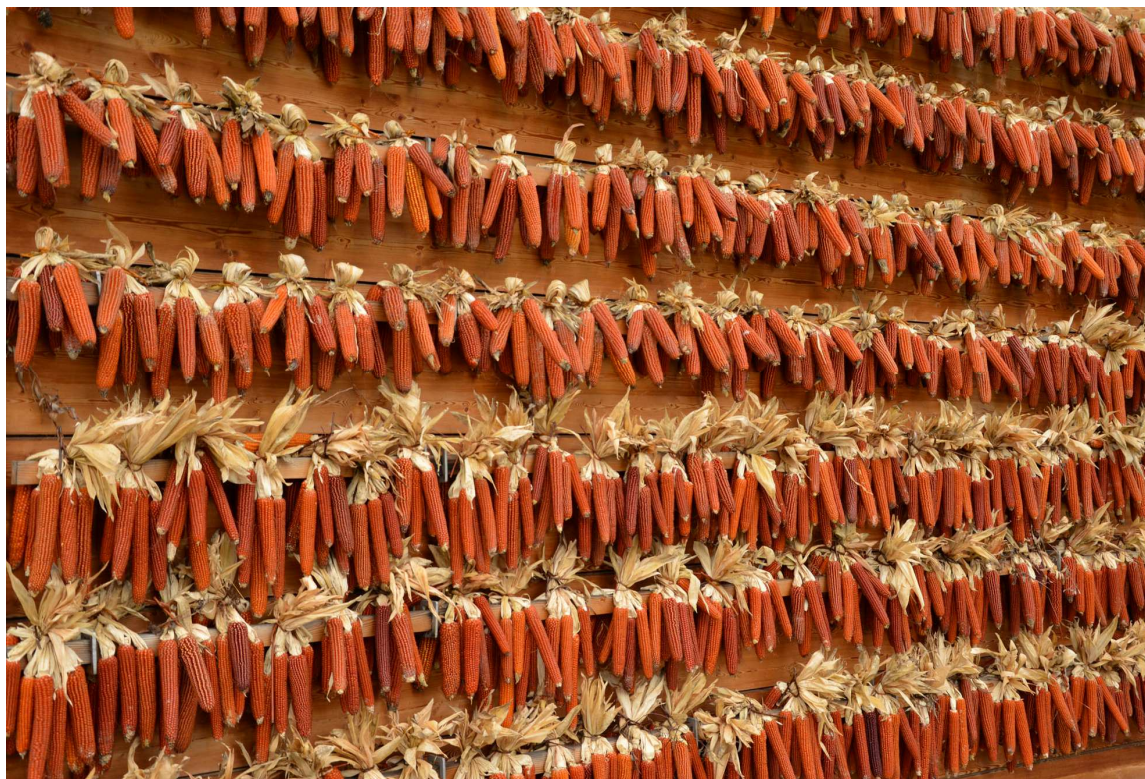


Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Attenzione!

Metodi in house →



← Metodi commerciali

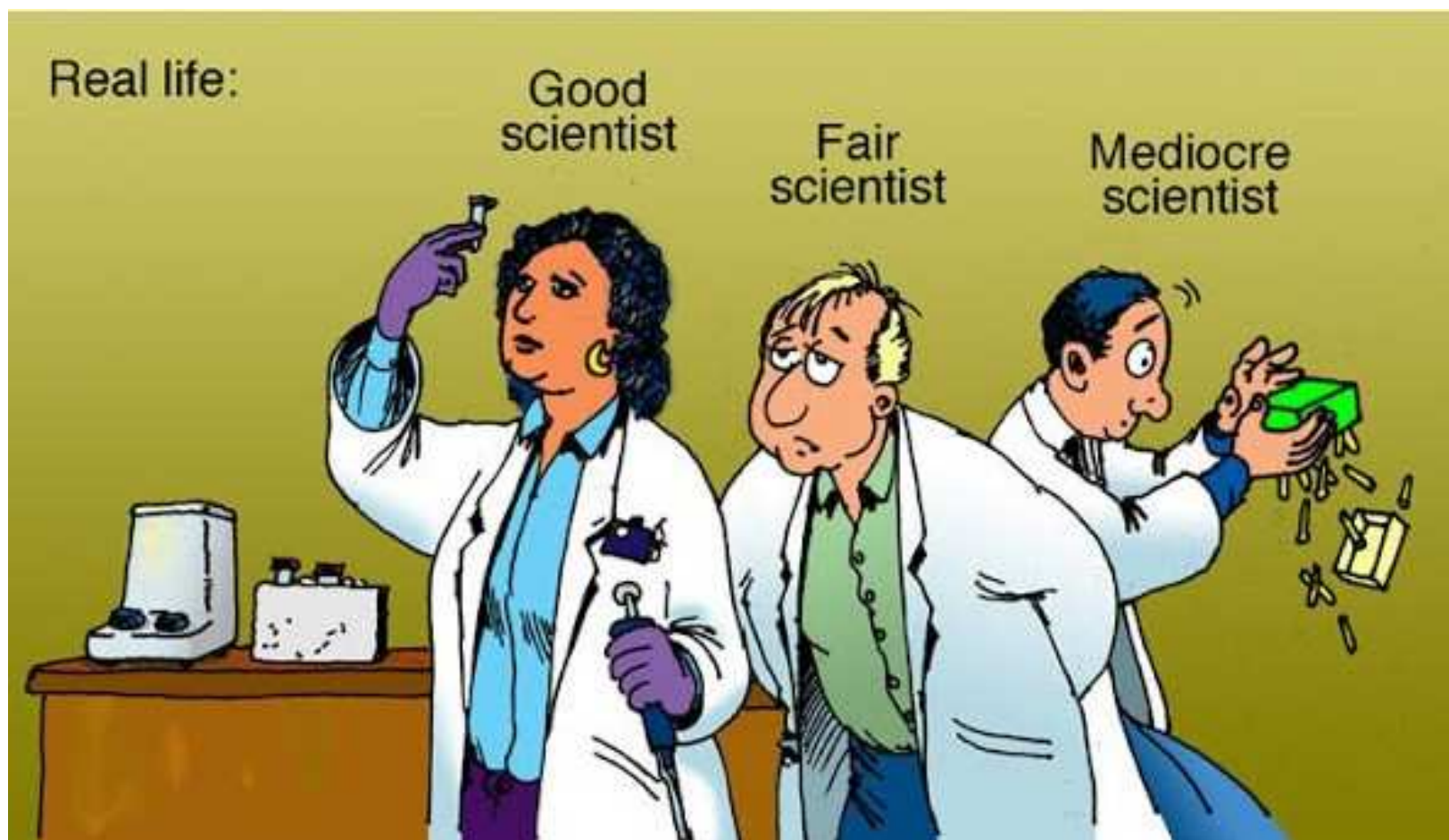




Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Grazie





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana

ORGANIZZAZIONE della UOC



Biotechnologie

Demetrio Amaddeo

- Metodi in house

Lavanderia,
Sterilizzazione

Substrati
cellulari e
Produzione

Katia Barbaro (Resp.)

Microscopia
elettronica e
Virologia speciale

Giusy Cardeti (Resp.)

Marina Cittadini

Giampiero Dante

Stefania Sittinieri

Analisi
biomolecolare e
Genetica

Raniero Lorenzetti (Resp.)

Ingegneria genetica
e
Immunobiochimica

Ugo Marchesi (Resp.)

Centro di Referenza
Nazionale per la
ricerca di OGM

Ilaria Ciabatti (Resp.)

Schema di lavoro nella diagnostica virologica



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Materiale ed anamnesi
(dati epidemiologici, clinici, patologici)

**Dimostrazione diretta
dell'agente patogeno**

Senza coltura del virus

Microscopia Elettronica

Visualizzazione
morfologica

Istologia

Presenza corpi inclusi
Immunofluorescenza
Metodi immunoistochimici

Sierologia

(antigene sconosciuto
anticorpo conosciuto)

Biologia Molecolare

PCR
Western Blotting
Ibridazione in situ

Con coltura del virus

Colture cellulari
Uova embrionate

**Dimostrazione indiretta
dell'agente patogeno**

Metodi chimico-fisici
prova al cloroformio,
acidi, pH, T° C

Proprietà biologiche
spettro ospite sensibile

Metodi sierologici
(antigene conosciuto
anticorpo sconosciuto)

Test

Neutralizzazione
Emoagglutinazione
Fissazione del complemento
Precipitazione
Immunofluorescenza
Radioimmunoassay
ELISA

Lab. Microscopia elettronica e virologia speciale



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Virologia speciale



- **Isolamento Virus animali** su Colture Cellulari cellulari primarie e continue
- **Identificazione e caratterizzazione ceppi isolati** mediante IF
- **Isolamento EAV** in Liquidi Seminali equini sieropositivi (Piano di Sorveglianza; CeRME)
- **Diagnosi Malattie Virali dei pesci:** inoculazione di linee cellulari di pesce a differenti temperature di incubazione; osservazione al TEM di omogenati di branchie, intestino e lesioni cutanee. Partecipazione Ring Trial di IV annuale
- **Produzione Antigeni** virali (EAV, EHV1-4, BoHV1, SBV, CDV), batterici (Ehrlichia), protozoari (Toxoplasma) e fungini (Nosema)
- Mantenimento ceppi isolati e **collezione di virus** di riferimento a -80°C

Materiale patologico

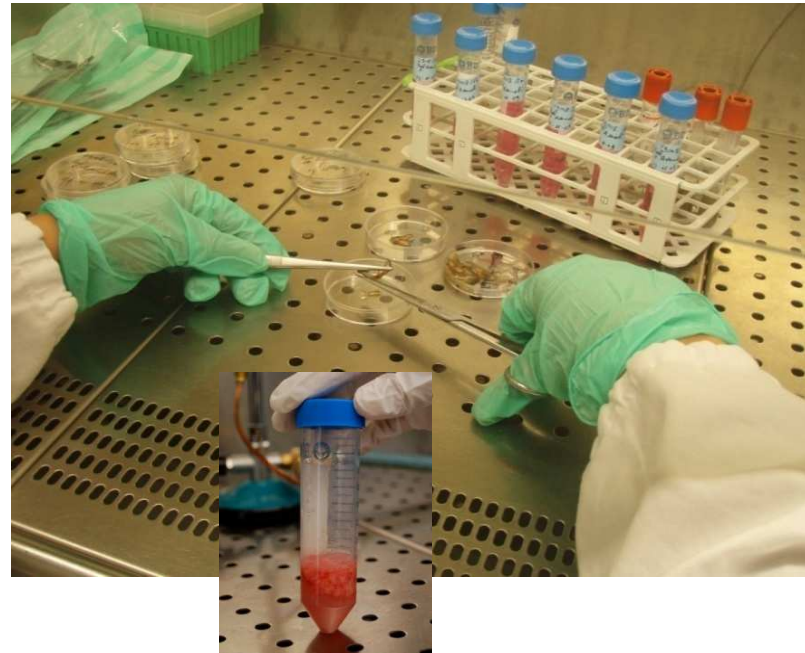


Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana

Intestino



Pesci



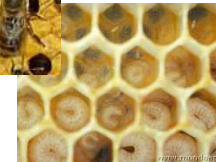
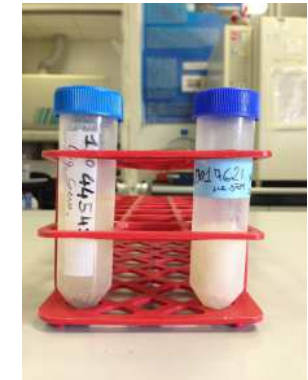
Tampone nasale



Organi



Liq. seminale



Api

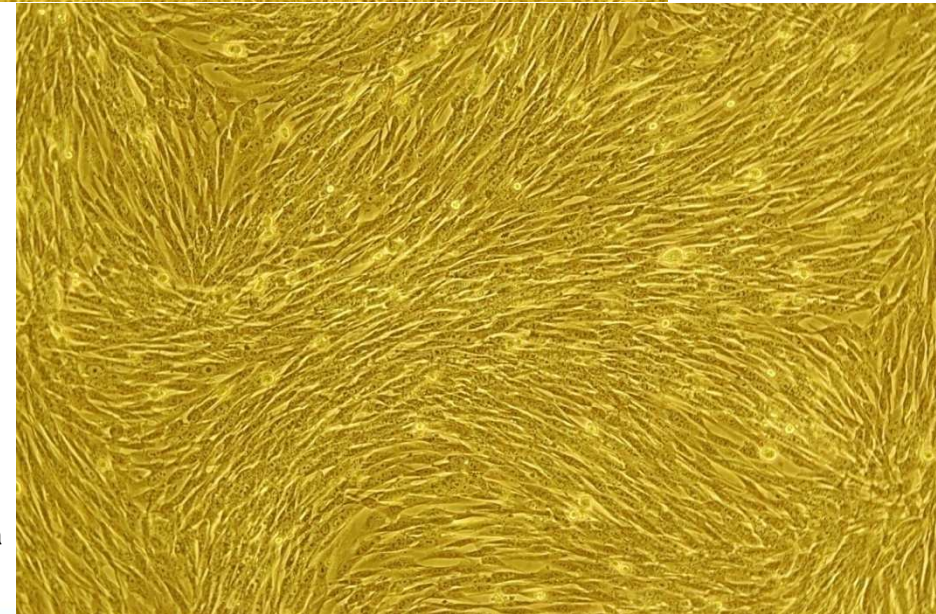
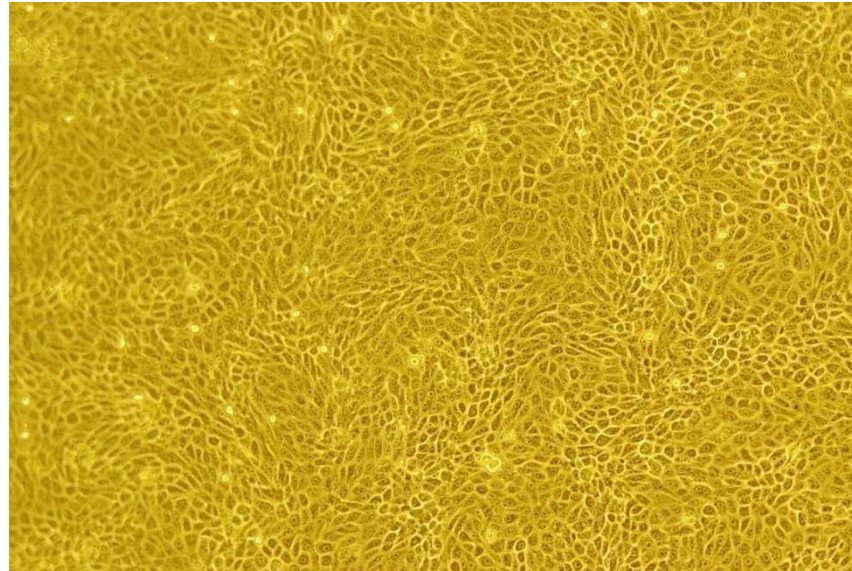
Culture cellulari



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Epitelioide -
MDBK



Fibroblastica
- BHK₂₁



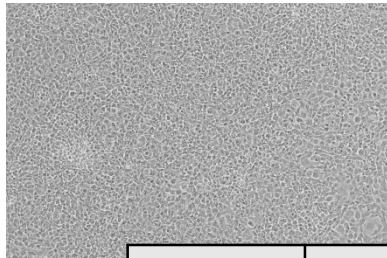
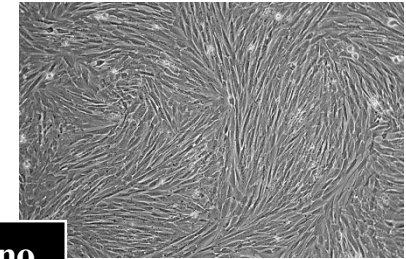
Colture cellulari



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Bovino	Bufalo	Ovino
Aubek		
MDBK	Bu	FLK
EBTr		



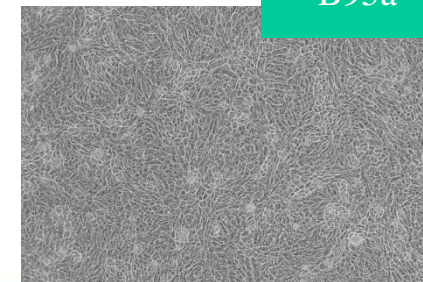
Coniglio	Criceto	Topo
RK13 (ATCC e Ky)	BHK ₂₁	Neuro 2a
		L929

Cavallo	Suino
EDe	PK15
EEL	NSK

Pesci	Rettili	Insetti
BF-2		
EPC	VH-2	SF9
CCB		C6/36
SSN-1		
EK-1		

Cane	Gatto
A72	
MDCK	CRFK
DH82	

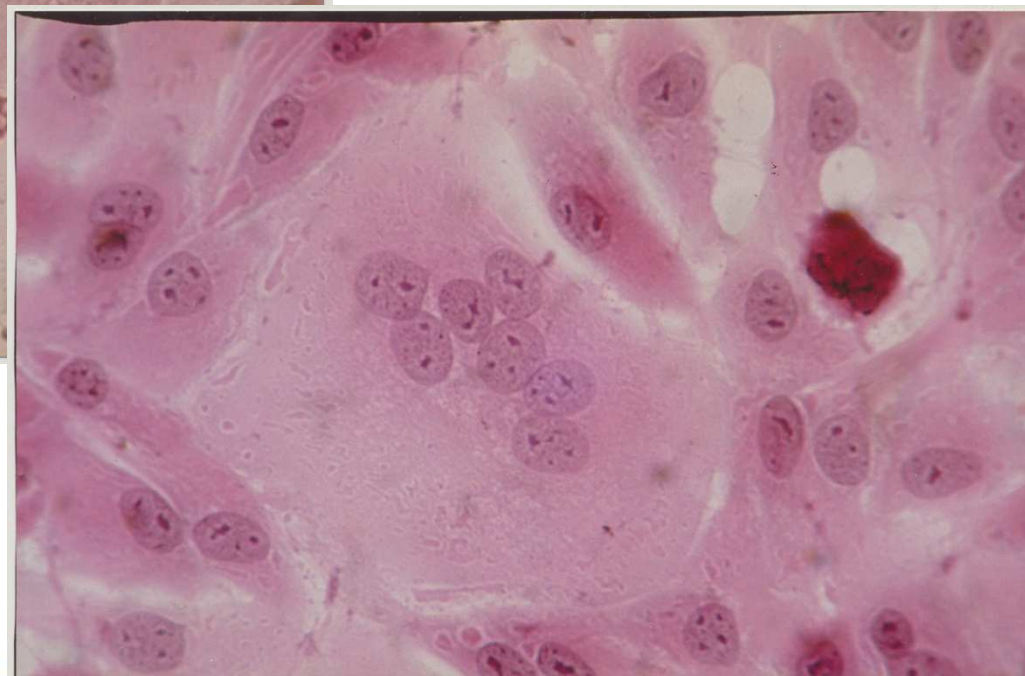
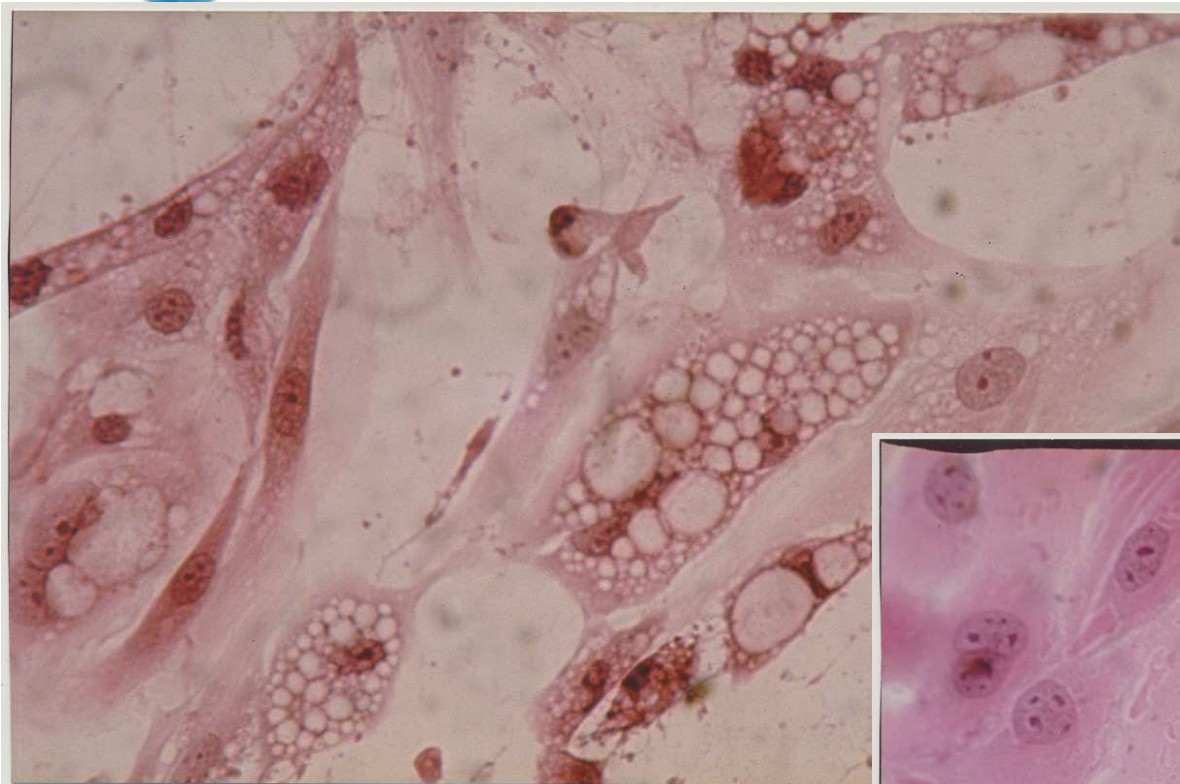
Scimmia	Uomo
Vero	
B95a	Hep2



Esempio di Effetto citopatico

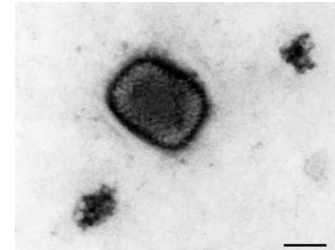


Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana





Microscopia elettronica



- **Visualizzazione diretta** ed identificazione, su base morfologica, di **virus presenti in campioni clinici** (lesioni cutanee e mucose, tamponi, feci)
- **Identificazione** del virus mediante Immunolettromicroscopia (I.E.M.)
- Partecipazione a **Proficiency Test annuale**

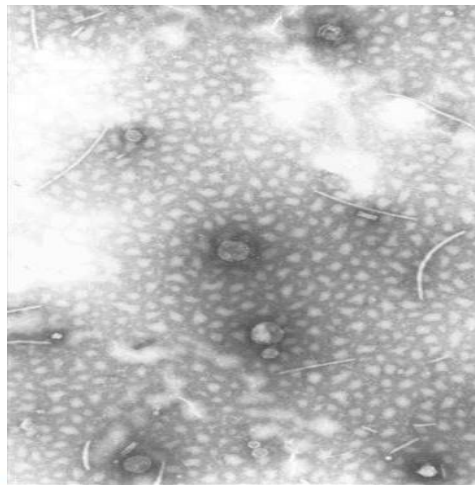
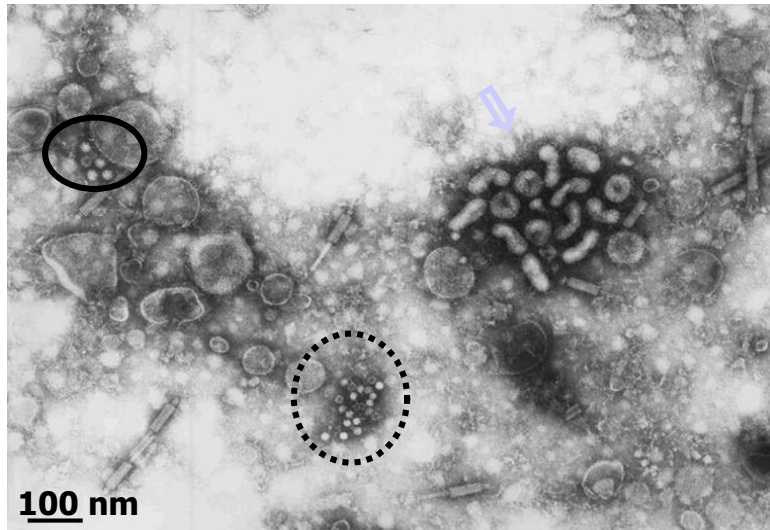




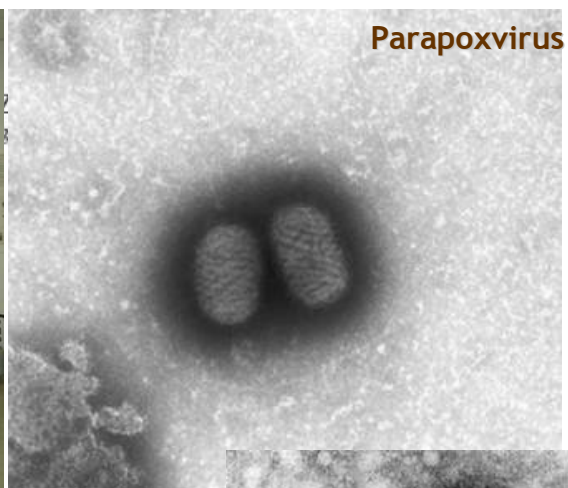
Microscopia elettronica



“catch all - open view”

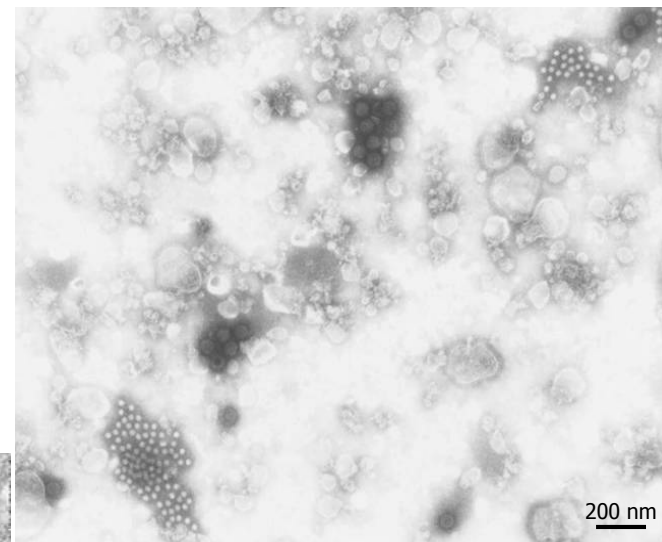


- ✓ Diagnosi rapida di **virus nuovi o emergenti**
- ✓ **Diagnosi differenziale** delle malattie vescicolari dei ruminanti (poxvirus, FMD, Bluetongue, Mammillite erpetica)
- ✓ Diagnosi rapida in caso di infezioni da **virus difficilmente o affatto coltivabili** (api, pesci)
- ✓ Possibilità di evidenziare **più virus diversi** in infezioni associate (virus enterici)
- ✓ Evidenziazione di virus in campioni relativamente “sporchi” e/o **poco concentrati**



Parapoxvirus

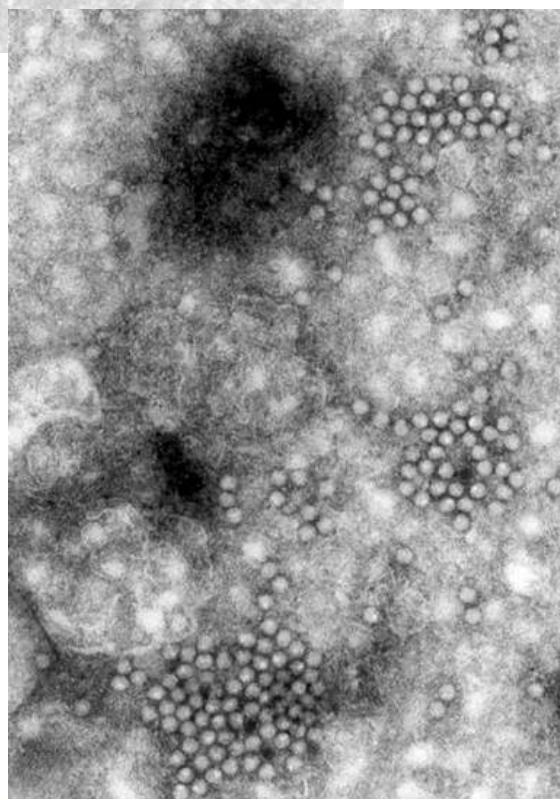
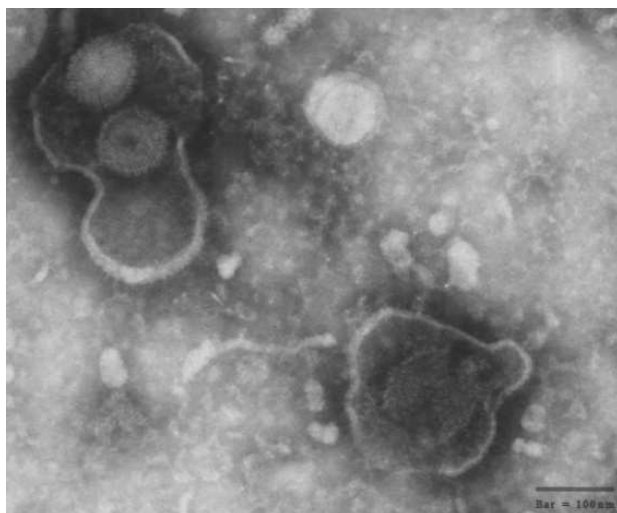
DWV



Rota + Astrovirus

Philips EM 208

Herpesvirus



Rabdovirus





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Lab. Ingegneria genetica ed immunobiochimica

Antonella Cersini

Clonaggio

✓ Produzione controlli
positivi per analisi PCR (end
point e Real Time quali e
quantitativa)

Produzione di proteine ricombinanti (produzione diagnostici)

✓ rP26 EIAV
✓ rVP4 ABPV (virus paralisi
acuta delle api)

Progetti e Network Automazione



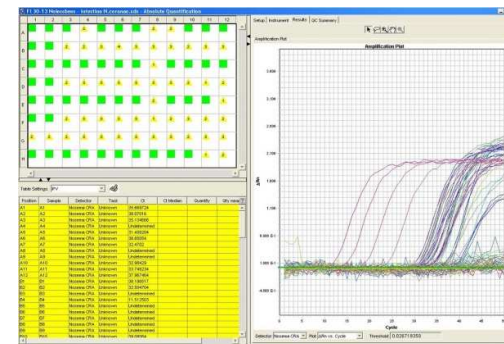


Analisi e diagnosi biomolecolare

- ✓ PCR 7 virus delle api
- ✓ PCR Virus Salmonidi (VHSV, IHNV)
- ✓ PCR Virus Ciprinidi (KHV, CyHV, SVCV)
- ✓ PCR Morbillivirus Cetacei
- ✓ Consensus PCR Herpesvirus Mammiferi e Rettili + Sequenziamento
- ✓ PCR Parvovirus + Pirosequenziamento

Sviluppo e messa a punto di metodi biomolecolari diagnostici

- ✓ PCR x analisi filogenetica EIAV
- ✓ PCR Papillomavirus
- ✓ PCR Virus delle Anguille (EVEX e AngHV-1)
- ✓ PCR Alloherpesvirus (pesci)





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana

Prove gestite



- Microscopia Elettronica
 - goccia -
- ultracentrifugazione

PROVA	VIRUS-Mat.Patologico
PARTICELLE VIRALI (goccia)	Poxvirus da Lesioni Cutanee
PARTICELLE VIRALI (ultracentrifugazione)	Virus da Tamponi, Contenuto intestinale, essudato

- Immunolettromicroscopia

PROVA
ADENOVIRUS
CORONAVIRUS
ENCEFALOMIOCARDITE (EMCV)
MORBILLIVIRUS
PARVOVIRUS
ROTAVIRUS

Colture Cellulari

PROVA
ADENOVIRUS (Cane, bovino, cavallo)
HERPESVIRUS (cane, gatto, bufalo, ovino)
ARTERITE VIRALE EQUINA
EQUINE HERPES VIRUS 4 (EHV-4)
RINOPNEUMONITE
ANEMIA INFETTIVA EQUINA
RINOTRACHEITE INFETTIVA DEL BOVINO (IBR)
PARAINFLUENZA 3 (PI3)
VIRUS RESP.SINCIZIALE BOVINO
BVD
BORDER DISEASE
MORBO D'AUJESZKY (Spp)
ENCEFALOMIOCARDITE (EMCV)
PESTE SUINA CLASSICA
CALICIVIRUS
CORONAVIRUS
CIMURRO
MORBILLIVIRUS Cetacei
VIRUS NECROSI EMATOPOIETICA INFETTIVA (IHN)
VIRUS SETTICEMIA EMORRAGICA VIRALE (VHS)
NECROSI PANCREATICA INFETTIVA (IPN)
VIREMIA PRIMAVERILE CARPA (SVC)
HERPESVIRUS DELLA CARPA KOI (KHV)
INFEZIONE DA IRIDOVIRUS
BETANODAVIRUS
AGENTI VIRALI (x es. SBV, Virus Anguille)



Prove gestite

- PCR Real Time

PROVA
VIRUS ALI DEFORMI DELLE API
VIRUS PARALISI ACUTA DELLE API
VIRUS PARALISI CRONICA DELLE API
VIRUS NECROSI EMATOPOIETICA INFETTIVA (IHN)
VIRUS SETTICEMIA EMORRAGICA VIRALE (VHS)
HERPESVIRUS DELLA CARPA KOI (KHV)

- PCR

PROVA
HERPESVIRUS Mammiferi e Rettili
PARVOVIRUS
MORBILLIVIRUS
MORBILLIVIRUS CETACEI
BETANODAVIRUS
HERPESVIRUS DEI CIPRINIDI (CyHV 1-2-3)
VIREMIA PRIMAVERILE CARPA (SVC)
VIRUS ALI DEFORMI DELLE API
VIRUS CELLA REALE NERA
VIRUS COVATA A SACCO DELLE API
VIRUS ISRAELIANO PARALISI ACUTA DELLE API
VIRUS KASHMIR DELLE API
VIRUS PARALISI ACUTA DELLE API
VIRUS PARALISI CRONICA DELLE API



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



Grazie per l'attenzione



D.O. Diagnosi Malattie Virali e delle Leptosirosi
UOC Biotecnologie

Roma, 28 maggio 2014
Firenze, 11 giugno 2014

