



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Corso teorico pratico sull'infezione da virus dell'Anemia infettiva equina: studio in vitro dell'immunità cellulo- mediata"

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana M. Aleandri

05 e 07 aprile 2022



Italian National
Reference Centre
for Equine Infectious
Anaemia



OIE Reference Laboratory
for Equine Infectious
Anaemia



CeRME

Centro di Riferenza Nazionale
per le Malattie degli Equini

Presentazione del progetto LT0917 - Studio del ruolo dell'immunità innata del cavallo nel controllo dell'infezione dell'Anemia Infettiva Equina

Dott. Roberto Nardini - IZS Lazio e Toscana, UOC Virologia



Corso teorico pratico sull'infezione da virus dell'Anemia infettiva equina: studio in vitro dell'immunità cellulo- mediata"

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana M.Aleandri
05 e 07 aprile 2022

Responsabile Scientifico: Maria Teresa Scicluna; Responsabile
del OIE Reference Laboratory for Equine Infectious Anaemia

Unità Operative:

| Ente appartenenza | | Responsabile scientifico |
|-------------------|---|--------------------------|
| UO 1 | Istituto Zooprofilattico sperimentale del Lazio e della Toscana | Maria Teresa Scicluna |
| UO 2 | Università degli studi di Torino | Sergio Rosati |
| UO 3 | Instituto de Agrobiotecnología (CSIC-UPNA) | Ramsés Reina |



Corso teorico pratico sull'infezione da virus dell'Anemia infettiva equina: studio in vitro dell'immunità cellulo- mediata"

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana M. Aleandri
05 e 07 aprile 2022

Premesse: Alcuni fattori della risposta immunitaria innata individuano modelli molecolari associati ai patogeni (PAMP) attraverso recettori di riconoscimento (PRR).

A seguito del riconoscimento è indotta l'espressione di una serie di fattori per affrontare il processo di infezione.

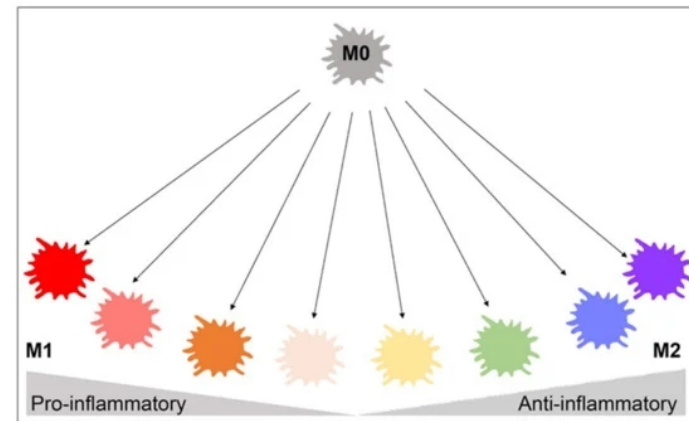
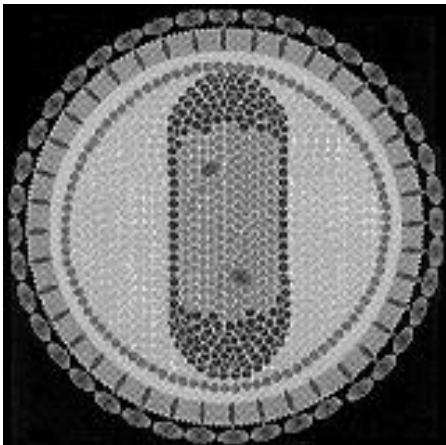
È sempre maggiore l'interesse e lo studio nei confronti dei differenti sistemi di blocco documentati per altri lentivirus, in particolare HIV e lentivirus nei piccoli ruminanti.



Corso teorico pratico sull'infezione da virus dell'Anemia infettiva equina: studio in vitro dell'immunità cellulo-mediata"

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana M. Aleandri
05 e 07 aprile 2022

Obiettivo generale: ricerca diretta/indiretta della presenza nel cavallo dei geni responsabili del sistema di restrizione innato e la valutazione "in vitro" dei suoi meccanismi di azione nei confronti di EIAV.



Obiettivi specifici:

- messa a punto di protocolli standardizzati per l'isolamento e la coltura del virus;
- verifica sulla capacità di differenziazione dei macrofagi e conseguente espressione dei geni responsabili dei meccanismi di restrizione in animali sani e naturalmente infetti;
- caratterizzazione degli stipiti virali isolati mediante NGS ai fini degli studi filogenetici e per la messa a punto di metodiche molecolari.
- verifica sulla capacità di questi stipiti virali a modificare la differenziazione di macrofagi equini.



WP.1 Isolamento di ceppi di campo [UO1 e UO2]

- reclutamento dei casi di infezione per ottenere isolati di campo e sequenze complete tramite NGS.

Fasi: Tentativo di isolamento macrofagi da **biopsia splenica**;

Come **ipotesi alternative** saranno valutati:

- a) l'**isolamento** di macrofagi da **sangue** e coltura in vitro;
- b) l'**infezione** di colture di **macrofagi** da **animali negativi** con **siero/plasma** proveniente da **animali con EIA in fase acuta**
- c) l'amplificazione del RNA virale da siero.



WP.1 Fasi:

- **Considerata la diffusione endemica di Equine Herpesvirus 2 e la sua possibile interferenza nella coltura delle cellule primarie** necessarie all'isolamento, saranno condotte **indagini mirate** e, in caso di positività, valutato l'impiego di **antivirali**.

Il successo nell'isolamento sarà valutato mediante un **saggio dell'attività della retrotrascrittasi virale**. Sequenziamento in caso di risultato positivo.



WP.2 Epidemiologia molecolare [U01 e U02] Fasi:

- Analisi dei dati per la caratterizzazione molecolare.
- Identificazione delle varianti aminoacidiche nelle regioni variabili / ipervariabili come marker epidemiologici e diagnostici.
- Aggiornamento delle relazioni filogenetiche ed evolutive dei ceppi circolanti rispetto alle referenze depositate.



WP.3 Caratterizzazione dei pattern di polarizzazione della linea macrofagica [UO2 e UO3]

Il WP prevede l'ottenimento di colture di macrofagi non infetti per valutare la polarizzazione nelle diverse sottopopolazioni mediante stimolazione con IFN- γ (M1) e IL-4 (M2). In seguito saranno condotti esperimenti per valutare l'espressione differenziale dei geni già identificati come marker di polarizzazione.



WP.3 Fasi

- Caratterizzazione dei marker di polarizzazione mediante microarray o RNAseq.
- Conferma dei marker dei fattori di restrizione e di immunità naturale con RT-PCR quantitativa.
- Caratterizzazione dei pattern di espressione in seguito a infezione con stipiti di referenza e/o di campo.
- Quantificazione dei livelli di produzione virale in macrofagi polarizzati



Corso teorico pratico sull'infezione da virus dell'Anemia infettiva equina: studio in vitro dell'immunità cellulo-mediata"

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana M. Aleandri
05 e 07 aprile 2022

Diffusione dei risultati

I risultati saranno diffusi tramite diversi mezzi come le **pubblicazioni internazionali** in riviste scientifiche specializzate, **congressi nazionali e internazionali** e anche **eventi in ambito locale** o tramite **pubblicazioni divulgative** tra i veterinari professionisti





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Corso teorico pratico sull'infezione da virus dell'Anemia infettiva equina: studio in vitro dell'immunità cellulo- mediata"

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana M. Aleandri
05 e 07 aprile 2022

Grazie

