



Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



# STUDI DI PREVALENZA DI ALCUNE MALATTIE GENETICHE IN POPOLAZIONI DI EQUINI



<https://courses.opened.uoguelph.ca/search/publicCourseSearchDetails.do?method=load&courseId=17924>

**Dott.ssa Francesca Rosone**  
**UOC Virologia - IZSLT - Rome**

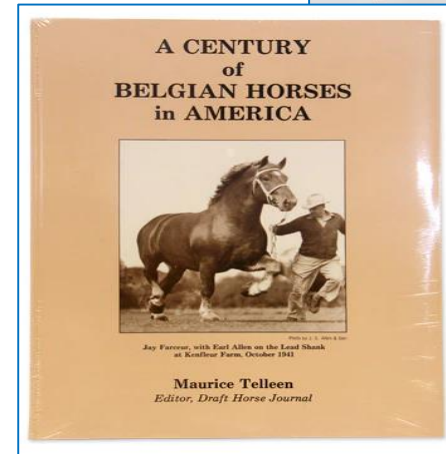
**7 DICEMBRE 2022**  
**Ministero della Salute**  
**Via Giorgio Ribotta, 5 -**  
**ROMA**  
**Sala Auditorium B. Alba**



# PERCHE' TANTO INTERESSE .....

Sempre più stud-books richiedono test genetici per l'iscrizione di puledri, l'autorizzazione alla monta di stalloni e l'utilizzo di fattrici;

- American Quarter Horse Association (AQHA) \_The “five-panel test”
- American Paint Horse Association (APHA)
- Belgian Draft Horse Corporation of America
- Connemara Pony Breeders' Society
- The Fell Pony Society, Westfalen Warmblood
- Germany Riding Pony
- Royal Dutch Warmblood Association of North America
- New Forest Pony Breeding and Cattle Society



**Fornire un adeguato strumento ad allevatori, veterinari ed associazioni di razza per progettare strategie di allevamento appropriate che riducono la prevalenza di soggetti affetti**



# MALATTIA GENETICA vs RAZZA

- **Quarter Horse and Related Breeds:** glycogen branching enzyme deficiency (GBED), lethal white foal syndrome (LWFS), hereditary equine regional dermal asthenia (HERDA), HYPP, immune-mediated myositis (IMM), malignant hyperthermia (MH), and polysaccharide storage myopathy type 1 (PSSM);
- **Arabian and Related Breeds:** cerebellar abiotrophy (CA), lavender foal syndrome (LFS), Occipito atlantoaxial malformation (OAAM), and severe Combined Immunodeficiency (SCID).
- **Friesian:** dwarfism and hydrocephalus
- **Belgian Draft Horse:** epidermolysis bullosa (JEB); PSSM
- **Pony Breeds:** skeletal atavism (SA) in Shetland ponies, hoof wall separation disease (HWSD) in the Connemara pony

[crosseshttps://blog.equus-journeys.com/en/post/40/the-connemara-pony-and-clifden-show](https://blog.equus-journeys.com/en/post/40/the-connemara-pony-and-clifden-show)

## Altre razze:

- **JEB2:** identified in the American Saddlebred
- **Naked foal syndrome (NFS):** Akhal-Teke
- **Warmblood fragile foal syndrome (WFFS):** detected in several warmblood breeds and warmblood breeds related





# HORSES GENETIC DISEASES

Disease	Gene	Alleles	Breeds	Mutation Description <sup>a</sup>	References
GBED	<i>GBE1</i>	<i>N, G</i>	Quarter horse and related	ECA26g.8667651C>A	55
HERDA	<i>PPIB</i>	<i>N, HRD</i>	Quarter horse and related	ECA1g.129307092G>A	56
MH	<i>RYR1</i>	<i>N, MH</i>	Quarter horse and related	ECA10g.9678680C>G	58
HYPP	<i>SCN4A</i>	<i>N, H</i>	Quarter horse and related	ECA11g.15474228C>G	2
IMM	<i>MYH1</i>	<i>N, My</i>	Quarter horse and related	ECA11g.53345548T>C	57
JEB1	<i>LAMC2</i>	<i>N, J</i>	Belgian and related	ECA5g.17498175_17498176insC	76
JEB2	<i>LAMA3</i>	<i>N, Js</i>	American saddlebred	ECA5g.3724_10749del	89
PSSM1	<i>GYS1</i>	<i>N, P1</i>	Many	ECA10g.19203501G>A	59
NFS	<i>ST14</i>	<i>N, NFS</i>	Akhal-Teke	ECA7g.39711541G>T	87
SA	<i>SHOX, CRLF2</i>	<i>N, Del1, Del2</i>	Shetland Pony and American Miniature Horse	<i>SHOX</i> locus (X/Y PAR) <sup>c</sup>	84
SCID	<i>PRKDC</i>	<i>N, SCID</i>	Arabian and related	ECA9g.36395752_36395759del	66
CA	<i>MUTYH</i>	<i>N, CA</i>	Arabian and related	ECA2g.13122415G>A	64
OAAM	<i>HOXD3</i>	<i>N, OAAM</i>	Arabian and related	ECA18g.54652702_54655412del	65
OSCC	<i>DDB2</i>	<i>N, R</i>	Belgian, Haflinger, Rocky Mountain horse	ECA12g.11726667C>T	80
HWSD	<i>SERPINB11</i>	<i>N, HWSD</i>	Connemara pony	ECA8g.83600643_83600644insC	86
Dwarfism	<i>B4GALT7</i>	<i>N, D</i>	Friesian and related	ECA14g.3772591C>T	70
Hydrocephalus	<i>B3GALT2</i>	<i>N, H</i>	Friesian and related	ECA1g.76887901C>T	67
WFFS	<i>PLOD1</i>	<i>N, WFFS</i>	Warmblood and Thoroughbred	ECA2g.39927817G>A	88
FIS	<i>SLC5A3</i>	<i>N, FIS</i>	Fell and Dales pony	ECA26g.31894278G>T	85
Myotonia	<i>CLCN1</i>	<i>N, Mvo<sup>b</sup></i>	New Forest pony	ECA4a.96518592A>C	78

Review

## Equine diseases caused by known genetic mutations

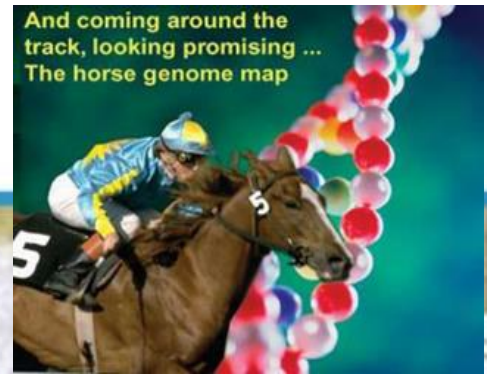
Carrie J. Finno<sup>a,\*</sup>, Sharon J. Spier<sup>b</sup>, Stephanie J. Valberg<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Veterinary Medical Teaching Hospital, University of California, Davis 95616, USA

<sup>b</sup> Department of Medicine and Epidemiology, University of California, Davis, CA 95616, USA

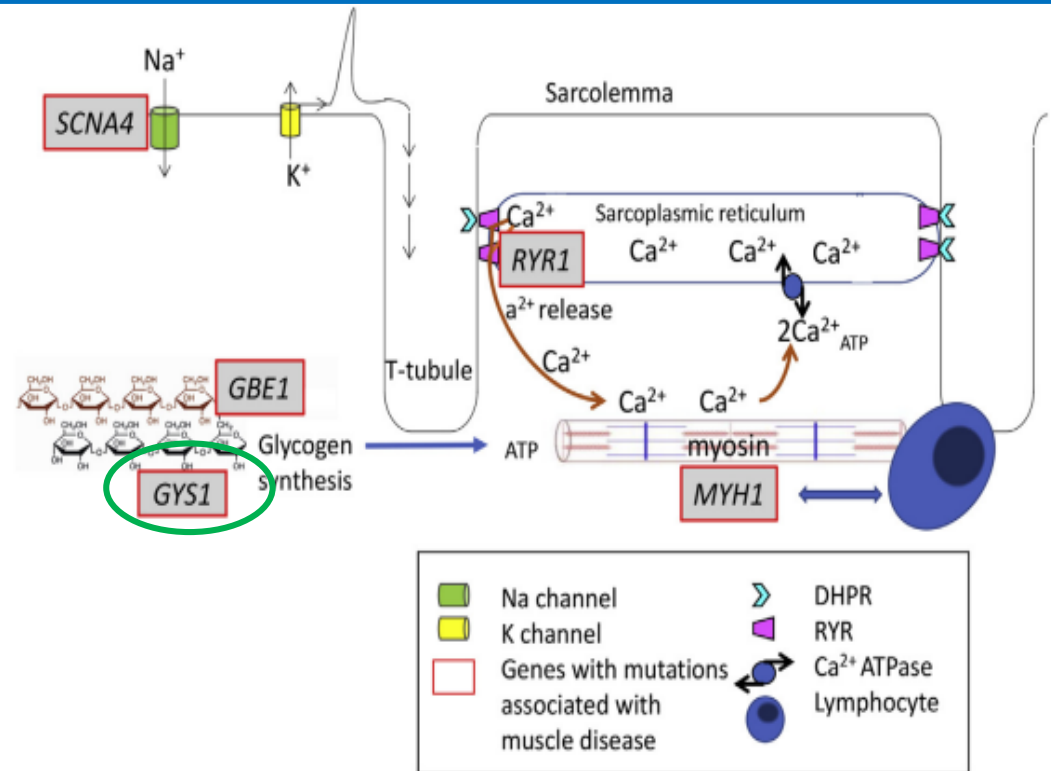
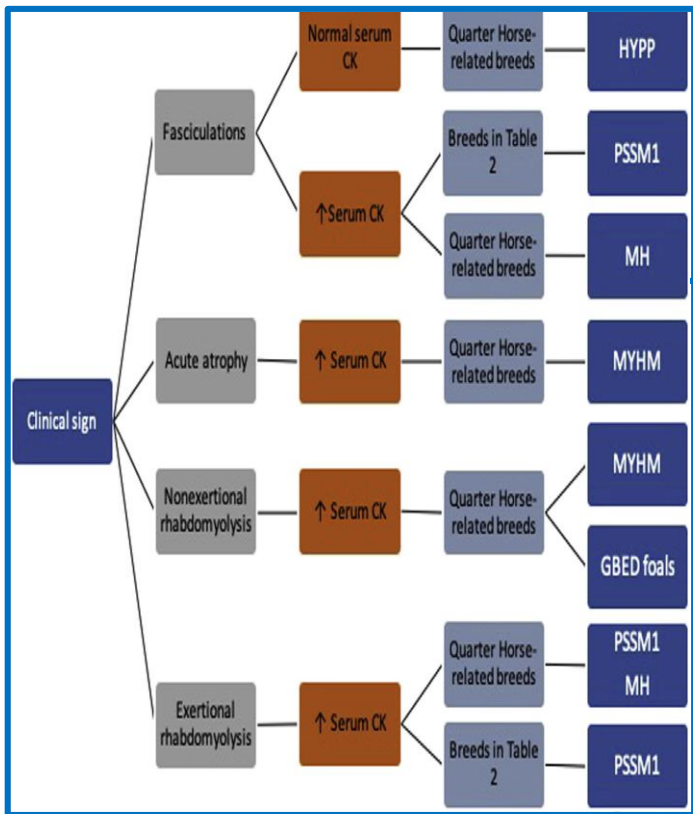
<sup>c</sup> Department of Veterinary Population Medicine, College of Veterinary Medicine, University of Minnesota, St. Paul, MN 55108, USA

Accepted 25 March 2008



# Genetics of Equine Muscle Disease

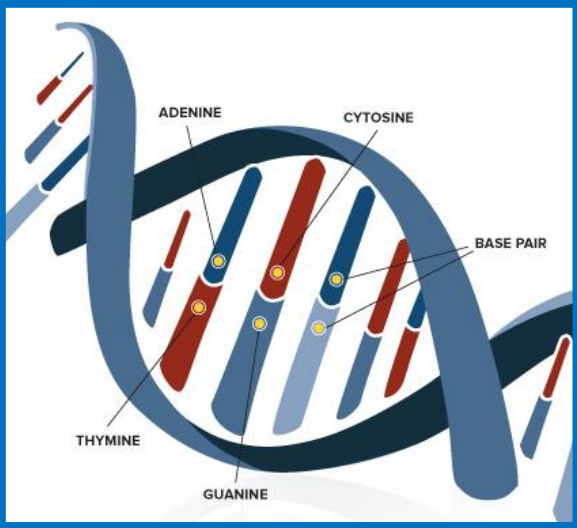
Stephanie J. Valberg, DVM, PhD



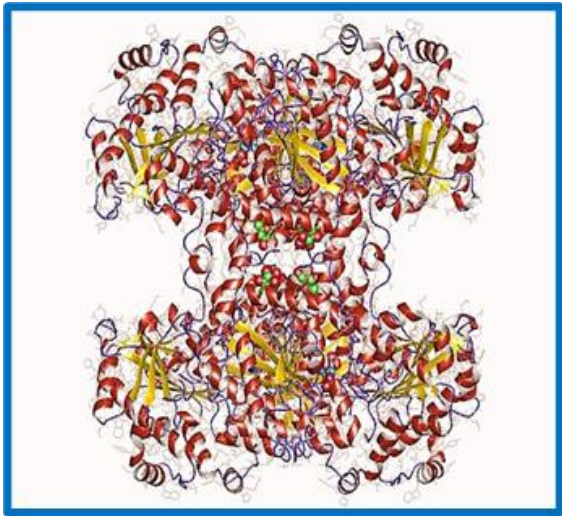
**Fig. 1.** The cellular locations of the 5 monogenic mutations that cause muscle disease in horses. The mutation causing hyperkalemic periodic paralysis (HYPP) occurs in the *SCNA4* gene encoding the sodium channel, the mutation causing glycogen branching enzyme disease (GBED) occurs in *GBE1* encoding glycogen branching enzyme, the mutation causing PSSM1 occurs in *GYS1* encoding glycogen synthase, the mutation causing malignant hyperthermia occurs in *RYR1*, and the mutation causing myosin heavy chain myopathies (MYHM) immune-mediated myositis and nonexertional rhabdomyolysis occurs in *MYH1* encoding the type 2X myofiber myosin heavy chain. DHPR, dihydropyridine receptor.

- **PARALISI IPERCALIEMICA**
- **MALATTIA ENZIMA RAM.GLICOGENO**
- **IPERtermia MALIGNA**
- **PSSM**
- **MIOPATIE A CATENA PESANTE DELLA MIOSINA**

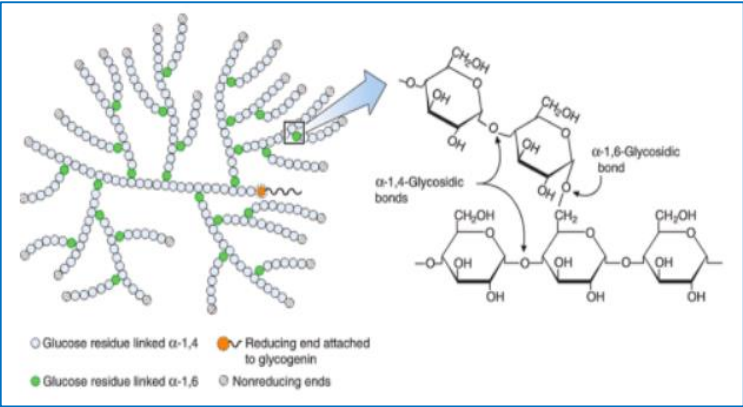
- La miopatia da accumulo di polisaccaridi equini (PSSM) è una glicogenosi a trasmissione autosomica dominante caratterizzata dall'accumulo di complessi anormali di glicogeno nelle cellule muscolari scheletriche (Finno et al., 2009; McCue et al., 2009);
- sostituzione di base da guanina (G) ad adenina (A) nell'esone 6 della **glicogeno-sintasi** (GYS 1) che determina una sostituzione aminoacidica (da AR a H) al codone 309 ➡ aumento della funzionalità dell'enzima;
- la glicogeno-sintasi è l'enzima responsabile della produzione di glicogeno, unendo monomeri di glucosio tramite legami alfa 1.4, sotto l'influenza dell'insulina e del glucosio-6 fosfato;
- produzione non regolata di molecole di glicogeno (Valberg et al. 1999) e di un polisaccaride amilasi resistente (lineare e non arborescente), all'interno del muscolo scheletrico (McCue et al. 2008) che si accumula con gli anni.



<https://www.osservatoriomalattierare.it/>



GLICOGENO (AMIDO) SINTASI





# DATI SULLA PREVALENZA

-Belga e razze derivate: 90%, molto alta la % degli omozigoti

-North American Belgians e Percherons: 36% and 54%

-Shires and Clydesdales: molto bassa

-Quarter horses: 6% to 10%

-American paint e Appaloosa horses: 6% to 8%

-Haflinger e Gypsy Vanner breeds at about 18% to 20%

-molto bassa se non assente : Arabians, trottatori americani e purosangue inglese



<https://horse-canada.com/breeds/clydesdale/>



La mutazione Arg309His si riscontra in più di 30 razze di cavalli domestici, inclusi cavalli leggeri e razze da tiro divergenti sia fenotipicamente che geneticamente (McCue et al. 2008, 2010; Stanley et al. 2009; Baird et al. 2010; Annette M. McCoy et al. 2014).

**Table 2**

The number of North American and European horses tested and the percentage of horses testing positive (heterozygous and homozygous) for the *GYS1* mutation in breeds sampled using random and nonrandom sampling

	Breed	No. Tested	Prevalence (%)
<b>North America</b>			
Random Sample <sup>25</sup>	Percheron	149	62
	Belgian	149	39
	Clydesdale	132	0
	Shire	195	0.5
	Quarter horse	335	7
	Paint	195	8
	Appaloosa	152	6
	Morgan	214	1
	Thoroughbred	96	0
	Arabian	100	0
	Norwegian fjord	46	0
	Icelandic horse	45	0
<b>Europe</b>			
Nonrandom Sample <sup>24</sup>	Belgian trekpaard	38	92
	Netherlands trekpaard	23	74
	Comtois	88	80
	Breton	51	63
	Swedish Ardenne	29	38
	Rhenish German coldblood	44	68
	South German coldblood	265	20
	Hanoverian	214	0
	<b>Hafliinger<sup>27</sup></b>	50	18
<b>Additional Breeds</b>			
Neuromuscular Diagnostic Laboratory <sup>a</sup>	Rocky Mountain horse	—	Present
	Tennessee walker	—	Present
	Mustang	—	Present
	Dutch warmblood	—	Present
	Hanoverian	—	Present
	Irish sport horse	—	Present
	Selle Français	—	Present
	Gypsy Vanner	—	Present
	Cobb	—	Present
	Suffolk punch	—	Present
	Normandy cob	—	Present
	American cream	—	Present

<sup>a</sup> Personal communication, Stephanie Valberg, Michigan State University.

## Glycogen Synthase 1 mutation causing PSSM in 2 Austrian Haflingers<sup>1</sup>

B. SCHWARZ and R. VAN DEN HOVEN

received July 20, 2010  
accepted for publication November 3, 2010

### Penetrance of PSSM1

- Some breeds have high prevalence of PSSM1 and many asymptomatic horses
- Gypsy Vanners, Haflingers
  - ~18% prevalence
- Why?
  - Impact of exercise, diet
  - Impact of 20,00 other genes in the body which interact with *GYS1*
  - *Very common that not all genetic mutations express themselves fully*



Schwarz et al *Vet Rec* 2011  
Johlig *Equine Vet J* et al 2011

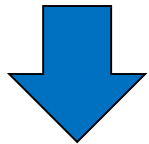
extension MY HORSE UNIVERSITY



<https://www.galoppoecharme.it/wordpress/editoriali/news/24401/15112016-oggi-vi-presentiamo-il-gypsy-vanner-conosciuto-anche-come-gypsy-o-irish-cob-tinker-e-gypsy-horse-e-originario-delle-terre-dirlanda-e-gran-bretagna-e-un-cavallo-caratterizzato-da-stru>



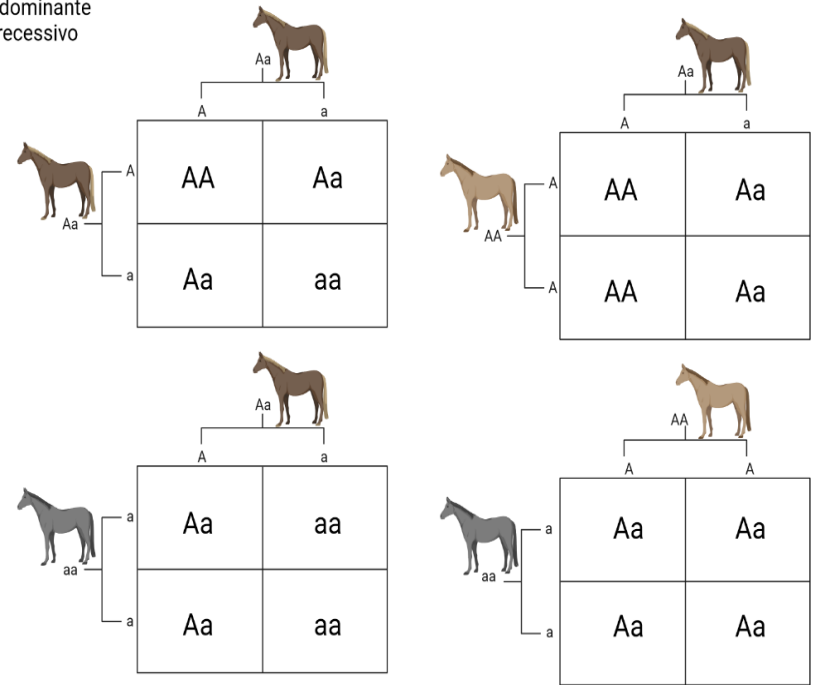
- **Genotipo N/N:** un soggetto con questo genotipo è sano e non presenta l'allele mutato responsabile di PSSM-1. Non trasmetterà la PSSM alla sua prole che risulterà esente da questa patologia;
- **Genotipo N/PSSM:** un soggetto con questo genotipo presenta invece una copia dell'allele mutato e ha un alto rischio di sviluppare PSSM. C'è una probabilità del 50% che passerà la mutazione alla sua progenie;
- **Genotipo PSSM/PSSM:** la mutazione passerà al 100% alla sua prole.



*Da un punto di vista pratico, un accoppiamento che includa anche un solo genitore malato causerà la nascita di una progenie in parte o totalmente malata.*

#### PSSM 1 trasmissione *autosomica dominante*: esempi di trasmissione genetica

A: allele dominante  
a: allele recessivo



Created in BioRender.com

**Tuttavia, i fattori ambientali, vale a dire la dieta e l'esercizio fisico, svolgono un ruolo importante nell'insorgenza dei segni clinici.**



# SEGNI CLINICI

- Nei cavalli di razza leggera, i segni clinici di PSSM1 possono svilupparsi durante o dopo un esercizio leggero ed in media intorno ai 5 anni di età (range di età 2-14 anni)
- i segni clinici acuti comprendono addome retratto, lo stiramento della regione dei fianchi, la rigidità muscolare, la sudorazione, le contratture muscolari evidenti ➡ TYING-UP
- generalmente risulta essere maggiormente interessato il tratto posteriore, possono essere coinvolti anche i muscoli epiaassiali, l'addome e gli arti anteriori
- i segni di dolore di solito iniziano dopo 15-20 minuti di esercizio e possono persistere per più di 2 ore;
- nei casi più gravi che rappresentano circa il 10% i soggetti possono sviluppare una colica, piuttosto che decubito temporaneo;
- gli episodi acuti sono generalmente associati a un aumento marcato dell'attività sierica della CK, LDH ed AST.



<https://cennutrition.com.au/tying-up-in-horses/>



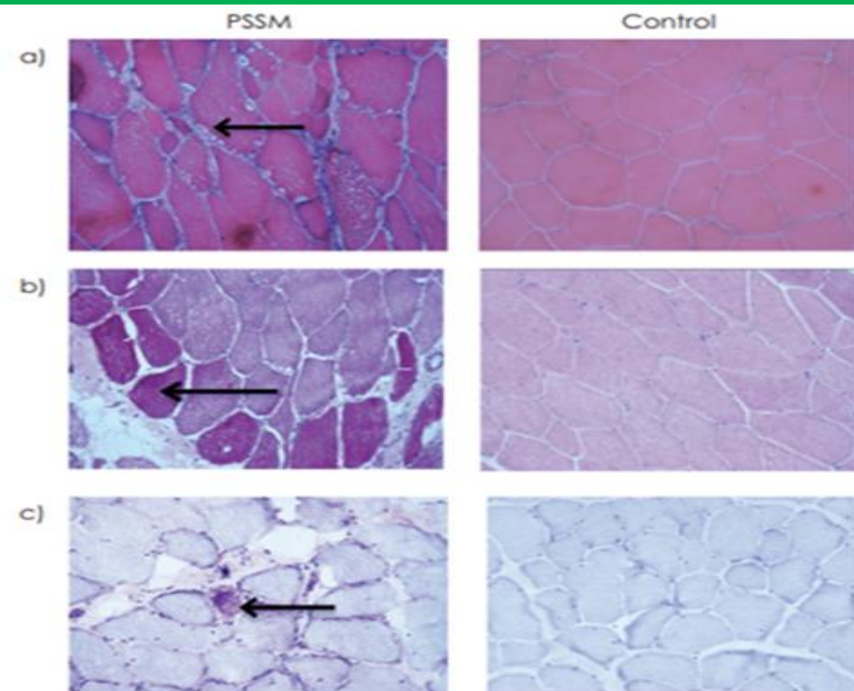
# DIAGNOSI

- Il gold standard per la diagnosi di PSSM1 è l'identificazione della sostituzione della base da G ad A nell'esone 6 del GYS1, che causa una sostituzione R309H nella glicogeno-sintasi;
- la biopsia muscolare fornisce un altro mezzo per diagnosticare PSSM1 nei cavalli;
- le caratteristiche distintive di PSSM1 nei campioni di biopsia muscolare sono i numerosi vacuoli sub-sarcolemmal e inclusioni dense, cristalline PAS-positive, resistenti all'amilasi nelle fibre a contrazione rapida;
- può verificarsi una diagnosi falsamente negativa di PSSM di tipo 1 mediante biopsia muscolare se i campioni biotici sono piccoli o se i cavalli hanno meno di 2 anni di età.

Advances in research: Muscle biopsy technique



EQUINE VETERINARY EDUCATION Equine vet. Educ. (2015) 27 (8) 414-419 doi: 10.1111/eve.12329



**Fig 1:** Characteristic skeletal muscle histopathology in type 1 PSSM compared with muscle from a matched control stained with a) haematoxylin and eosin showing sub-sarcolemmal vacuolation (arrow) and marked variation in fibre size, b) periodic acid schiff (PAS) showing increased glycogen accumulation (arrow) and c) periodic acid schiff following predigestion with diastase revealing abnormal diastase-resistant polysaccharide (arrow).  $\times 20$  magnification.



# PSSM 1 MANAGEMENT

- Lo scopo della gestione dei cavalli con PSSM è limitare la costante sintesi di glicogeno all'interno del muscolo scheletrico riducendo l'insulina circolante e promuovendo il metabolismo del glicogeno attraverso un regolare esercizio fisico;
- inoltre, è possibile fornire una fonte di energia alternativa come il grasso, purché il cavallo non sia sovrappeso;
- gli obiettivi del trattamento nella fase acuta sono alleviare l'ansia e il dolore muscolare, nonché correggere l'equilibrio elettrolitico;
- la prima linea di trattamento dei cavalli con rabdomiolisi dolorosa dovrebbe includere tranquillanti/sedativi (l'acepromazina; xilazina; o, nei cavalli più dolorosi, detomidina combinata con butorfanolo)



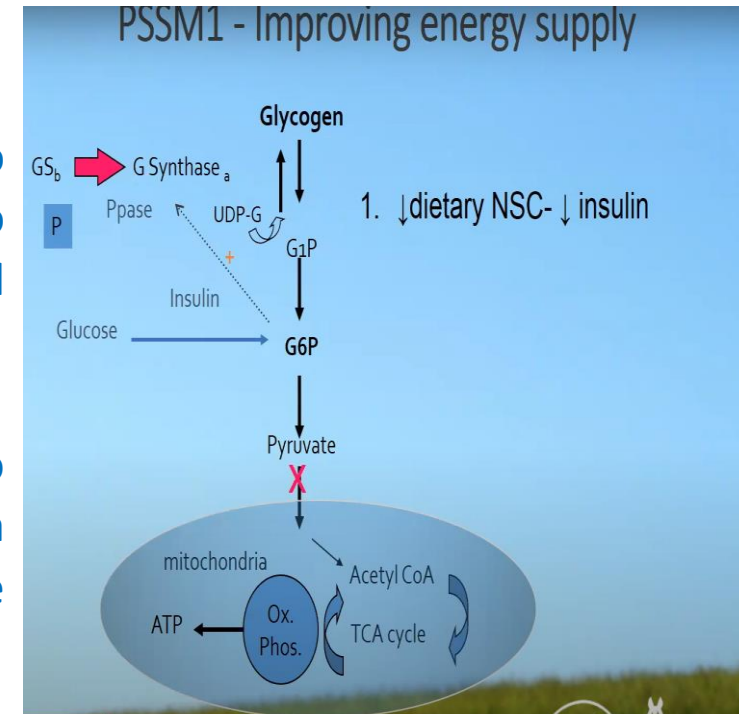
## Managing Horses With Polysaccharide Storage Myopathy

*The Educated Horseman: Health Series*



# DIETA

- cavalli con PSSM1 dovrebbero essere alimentati con fieno con meno del 12% di carboidrati non strutturali per prevenire un aumento della concentrazione sierica di insulina, che stimolerebbe il già iperattivo enzima glicogeno-sintasi;
- un'alimentazione a basso contenuto NSC offre spazio per aggiungere grassi (sotto forma di olio vegetale/grasso in polvere) senza superare il fabbisogno calorico giornaliero;
- i cavalli con PSSM1 che richiedono un apporto calorico maggiore di solito mostrano miglioramento se la dieta è integrata con almeno il 13% dell'energia digeribile giornaliera sotto forma di grassi omega-3;
- supplemento con vitamina E (1000-5000 U/die) per ridurre lo stress ossidativo aggiuntivo dei grassi.



# Dietary Management of PSSM1

## *Normal weight- moderate – heavy exercise*

- Forage
  - Grass hay <12% NSC at 1.5% body wt
- Supplemental fat
  - Low starch, high fat concentrate
  - Feed an adequate amount to supply 13% daily calories as fat
- Turn out and gradually increase exercise
  - Grazing muzzle in lush pastures
- If you are confused about developing a diet consult a nutritionist!



Ribeiro et al JVIM 2004

## ESERCIZIO

- Con la sola gestione nutrizionale migliora il 50% dei cavalli affetti da PSSM
- Integrando una dieta corretta ed esercizio fisico, miglioramento nel 70-90% dei cavalli interessati dalla malattia.

## Dietary Management of PSSM1

### *Calories First!*

- Overweight
  - Hay <12% Nonstructural carbohydrate (1.5% body wt)
  - Increase circulating fatty acids
    - Fast for 6 -8 h prior to exercise
  - Vitamin/mineral ration balancer
- Turn out and gradually increase exercise
  - The more free movement the better
  - Grazing muzzle



## Diet is ineffective without daily exercise

- ↑ mitochondrial capacity to oxidize fats
- 10 min a day plus turn out has an impact

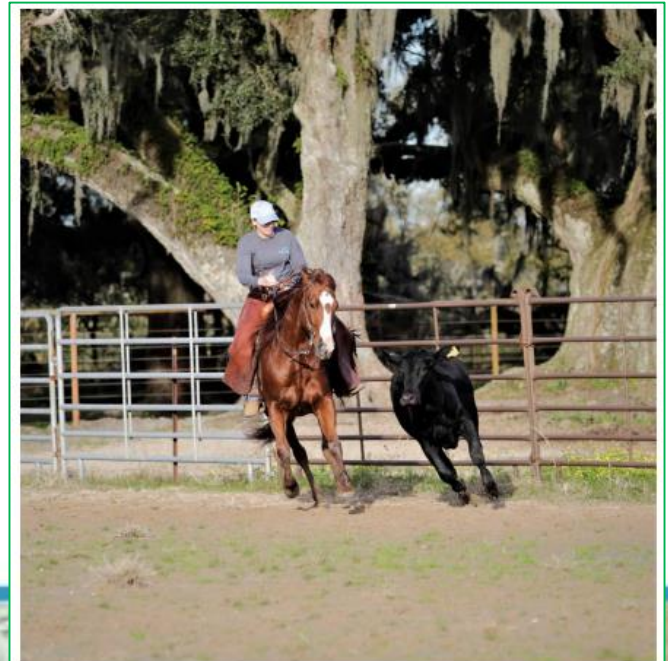




# PROGNOSI

- PSSM1 si può presentare in vario modo da forme asintomatiche a debilitanti;
- i cavalli che presentano la mutazione genetica hanno una situazione di dolore muscolare di fondo;
- se vengono seguite le raccomandazioni sia sulla dieta che sull'esercizio fisico, almeno il 70-90% dei cavalli mostra un notevole miglioramento dei segni clinici e molti ritornano a livelli di performance accettabili

PSSM is a disorder that has previously been viewed as a career-ending condition. However, with advances in nutrition and management techniques, horses with PSSM have increased longevity within their careers. If you suspect your horse may have PSSM, please contact your local veterinarian for diagnosis and to create an effective management plan.



Horses with PSSM benefit from high-intensity, short-duration workouts.  
Photo provided by Judith Gonzales.

# Severe Combined Immunodeficiency Disease (SCID):

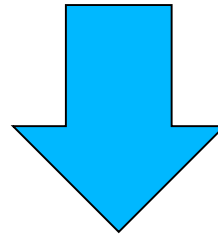
- l'Immunodeficienza Combinata Grave (SCID) è una malattia ereditaria autosomica recessiva;
- descritta nell'uomo (bubble boy), cane, topo e cavallo (1973);
- è una delezione di cinque paia di basi (**TCTCA**) che provoca una mutazione frame-shift al codone 3155, che porta ad una mancata funzionalità nella sub-unità catalitica dell'enzima *protein-chinasi DNA-dipendente* (DNA-PK), localizzato sul cromosoma 9;
- i cavalli portatori sani sono in eterozigosi per il gene difettoso e risultano immunocompetenti anche se maggiore predisposizione allo sviluppo dei sarcoidi.

Normal Gene	.....AATTTATCA <b>TCTCA</b> AATCCCCCTTAA.....
SCID Gene	.....AATTTATCA      AATCCCCCTTAA.....

Figure 2. Partial sequence of the DNA-PKcs gene showing the 5 base pair deletion in the mutated SCID gene (Shin et al., 1997a). The mutation results in a frame-shift which causes a premature stop.

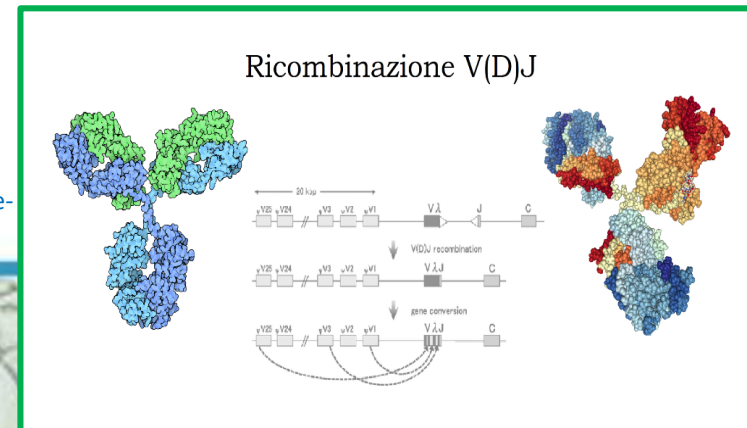
# MECCANISMO MOLECOLARE

-durante la prima differenziazione linfoide, segmenti genici distinti chiamati variable (V), diversity (D) e joining (J), si combinano casualmente tra di loro **per formare le sequenze che codificano per le immunoglobuline e le regioni variabili del recettore dell'antigene**, pertanto la ricombinazione V(D)J è necessaria per l'espressione differenziale dei recettori per l'antigene sui linfociti B e T;



-i puledri con SCID, avendo un enzima proteina chinasi DNA-dipendente non funzionale , necessario per la ricombinazione V(D)J e per la riparazione delle rotture del doppio filamento del DNA (Wiler et al., 1995), presenteranno un'importante deplezione di linfociti B e T nel midollo osseo, milza, timo e linfonodi e quindi una mancata risposta immunitaria antigene-specifica.

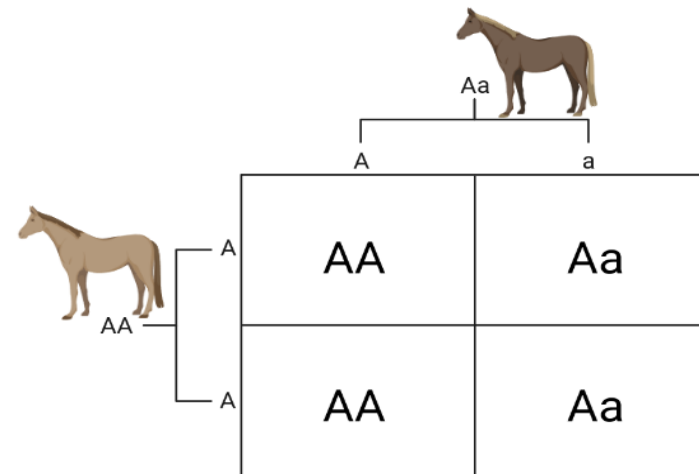
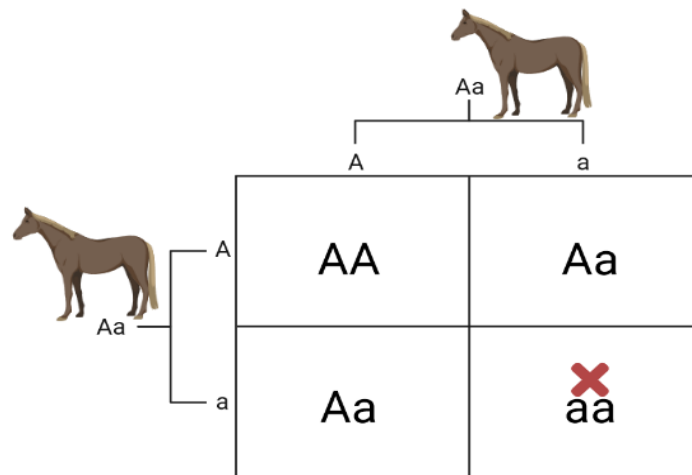
<https://www.microbiologiaitalia.it/immunologia/generare-diversita-come-le-nostre-cellule-producono-anticorpi/>





# MODALITA' DI TRASMISSIONE

**SCID** trasmissione *autosomica recessiva* : esempi di trasmissione genetica



**A**: allele dominante  
**a**: allele recessivo

## SEGNII CLINICI

- I puledri affetti sono clinicamente normali alla nascita fino a 1-3 mesi di età, poiché il trasferimento passivo conferisce loro immunità protettiva;
- generalmente, 6-10 settimane dopo il parto, nel momento in cui gli anticorpi materni scendono al di sotto del livello di protezione, i soggetti malati, iniziano ad essere interessati da infezioni anche banali;
- sono frequenti e comuni infezioni delle vie aeree da *Equine Adenovirus* e *Pneumocystis carinii*, *Cryptosporidium parvum*, and *Rhodococcus equi* accompagnate da infezioni batteriche secondarie;
- sono stati osservati episodi di diarrea intermittente (Studdert, 1978);
- ulteriori lesioni includono necrosi epatica con iperplasia biliare, enterite ulcerosa, necrosi miocardica focale, peritonite, pleurite e pericardite (Perryman et al., 1978);
- documentata anche meningite da listeriosi in un puledro con SCID (Clark et al., 1978);



Arabian Horse Breed Spotlight - Young Rider



# PROGNOSI

- lo scarso sviluppo dei linfociti B e T provoca linfopenia (meno di 1.000 cellule/ $\mu$ L), marcata carenza di IgM e IgA sieriche e ipoplasia dei tessuti linfoidei (timo, linfonodi e milza);
- nei puledri con infezioni batteriche si verifica leucocitosi con neutrofilia;
- molti puledri sviluppano anemia;
- non esiste una cura per la SCID pertanto i soggetti colpiti muoiono o vengono abbattuti entro i primi 5 mesi di vita anche se sottoposti a terapie intensive;
- trattamento a scopo di ricerca in alcuni soggetti affetti (plasma iperimmune/trapianto di midollo osseo)
- identificazione accurata dei portatori è chiave per evitare gli accoppiamenti tra portatori sani e la nascita di puledri clinicamente affetti

## PRIMARY IMMUNODEFICIENCIES OF HORSES

Lance E. Perryman, DVM, PhD





# DIFFUSIONE E FREQUENZA DEI PORTATORI

**Table.** Genetic test results of SCID in some countries.

Country	Methods	Number of horses	Observed Heterozygotes	Reference
USA	PCR	250	21	8
UK	PCR	106	3	9
Brazil	PCR	205	3	10
Morocco	PCR	377	21	11
South Africa	PCR	800	51 (2004)	12
		699	24 (2009)	
Poland	PCR	271	-	18
	Sequencing	808	3	25
Iran	PCR	120	-	15
	PCR	244	4	26
Slovenia	PCR	128	-	17
Romania	PCR	60	-	16
Latvia	PCR	57	-	27
Egypt	Commercial kits	10	-	28
	Sequencing	103	-	1
Syria	SNP Genotyping Assay	250	-	14
Ukraine	PCR	16	-	13
Turkey	PCR	239	-	19

Affected foals have been identified in Australia, Canada, Great Britain and the United States (McGuire and Poppie, 1973; Clark et al., 1978; Studdert, 1978; Whitwell, 1978)

In the US, the prevalence of SCID carriers in the population was originally estimated at 25.7 % (Poppie and McGuire, 1977). However, genetic testing over the last 20 years has reduced the percentage of carriers to 8.4% (Bernoco and Bailey, 1998). Furthermore, screening of equine populations in Slovenia, Turkey and Egypt did not reveal any SCID alleles (Kul et al., 2014; Zavrtnik et al., 2005; AbouEl Ela et al., 2018)

Investigation of the SCID mutant allele in Turkish Arabian horses reared in some private farms of the Eskişehir region in Turkey\_Turk J Vet Anim Sci (2020)



# QUANTO E' VANTAGGIOSO APPLICARE IL TEST

La frequenza dei portatori di SCID negli Stati Uniti è stata del 25,7%, con il 2-3% della popolazione rappresentata da puledri omozigoti affetti.



Dopo l'applicazione del test, la frequenza dei portatori è diminuita drasticamente all'8,4% con solo lo 0,18% di puledri interessati (D. Bernoco, E. Bailey 2002);

## Frequency of the *SCID* gene among Arabian horses in the USA

D. Bernoco, E. Bailey

First published: 06 April 2002 | <https://doi.org/10.1046/j.1365-2052.1998.00237.x> | Citations: 22

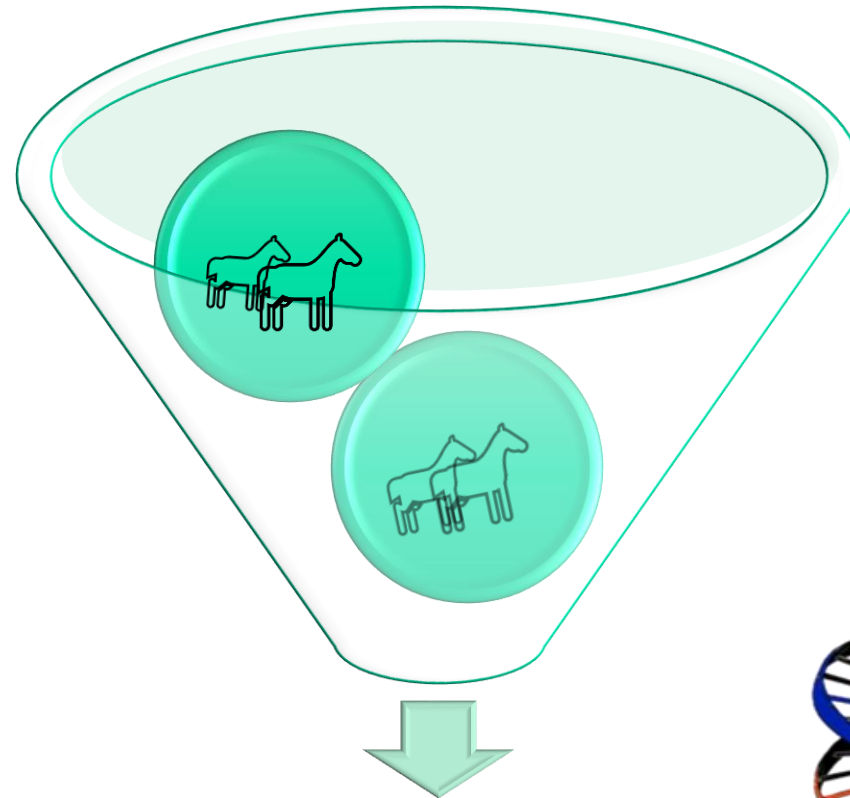
La frequenza di portatori di SCID nei cavalli arabi in Sud Africa nel 2004 è stata del 6,4%, dopo applicazione del test per lo screening genetico nel 2005, nel 2009 è risultata essere del 3,4%.

## **The carrier prevalence of severe combined immunodeficiency, lavender foal syndrome and cerebellar abiotrophy in Arabian horses in South Africa**

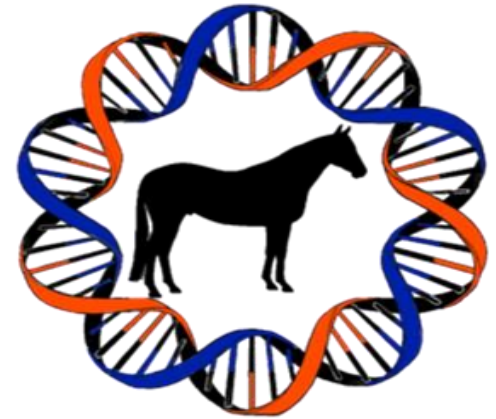
C. J. TARR, P. N. THOMPSON, A. J. GUTHRIE<sup>†</sup> and C. K. HARPER<sup>\*‡</sup>



## RC 09/20 – MALATTIE GENETICHE



**POPOLAZIONE  
OGGETTO DI STUDIO**



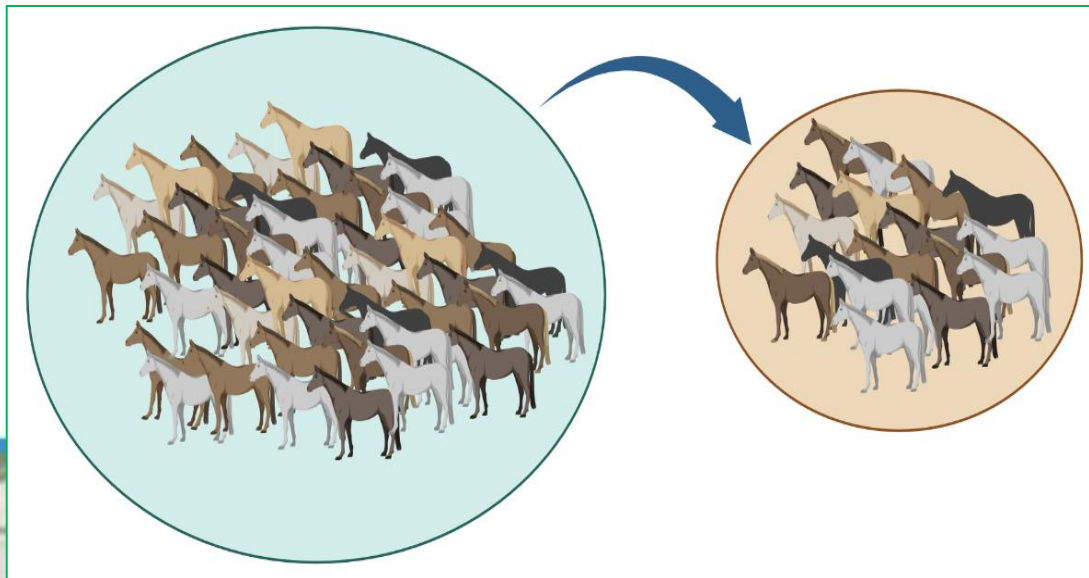


# RC 09/20 – CAMPIONAMENTO

SCENARI DI NUMEROSITA' CAMPIONARIA SU 1068 INDIVIDUI:

- 1) Con un ES del 5% e una IC del 95%, da testare : 443
- 2) Con un ES del 10% e una IC del 95%, da testare : 161
- 3) Con un ES del 10% e una IC del 90%, da testare : 116

Pertanto, con una numerosità di 1068 individui, il primo scenario (ES del 5% e una IC del 95%) prevede l'analisi di **443 campioni di sangue in EDTA**.



# RC 09/20 – CAMPIONAMENTO

POPOLAZIONE REGISTRATA:  
**1103 INDIVIDUI**

CAMPIONAMENTO ATTESO:  
**1103 INDIVIDUI**

CAMPIONAMENTO REALE:  
**1068 INDIVIDUI**

*SELEZIONATI CASUALMENTE PER  
SCID e PSSM1:  
443 INDIVIDUI*

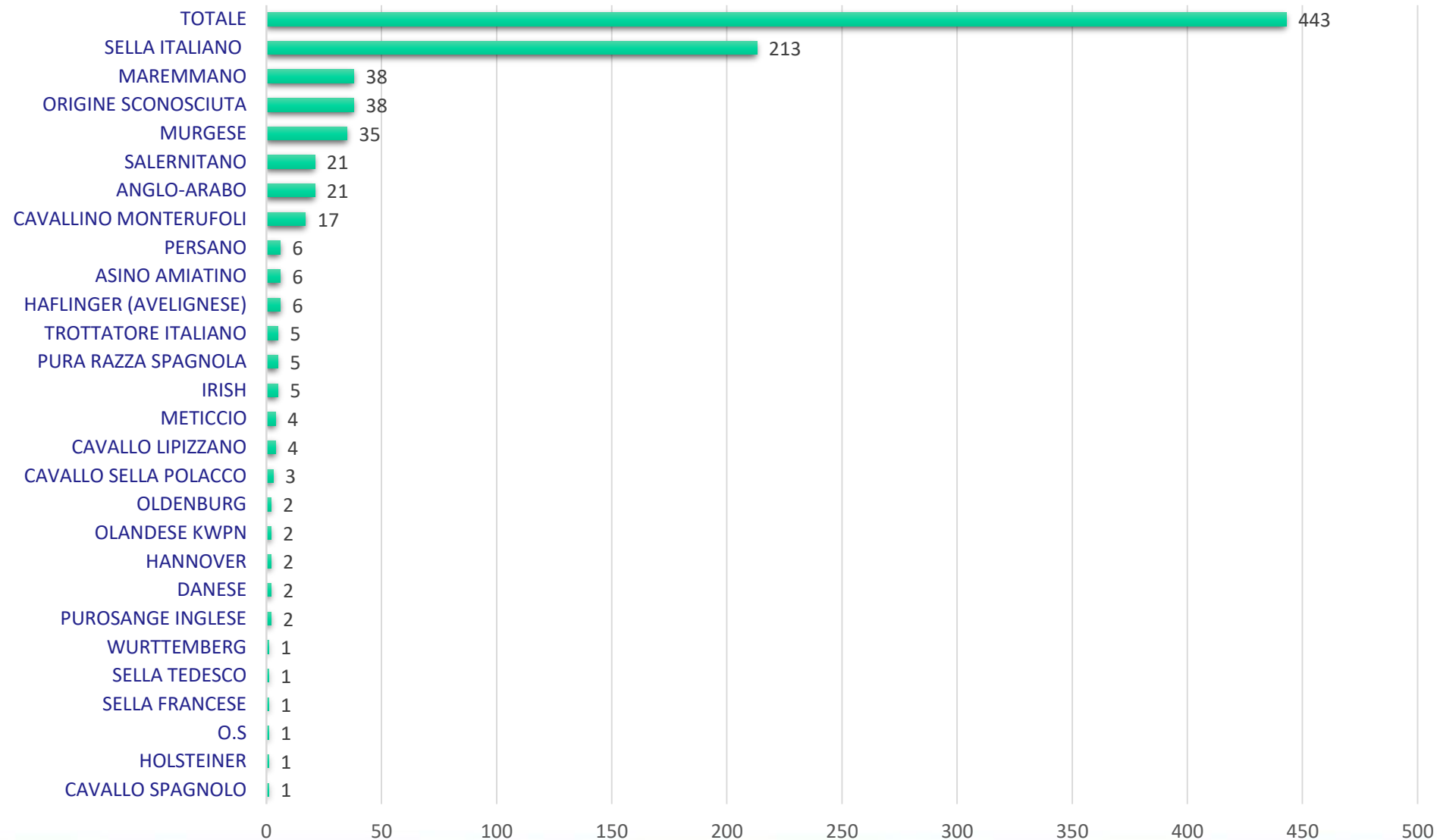


# DISTRIBUZIONE CENTRI DI PROVENIENZA





# % RAZZE ESAMINATE



# RC09/20 – METODI UTILIZZATI

## ***PSSM 1***



***Discriminazione allelica***



Utilizzo di primers e sonde specifiche per rilevare la mutazione puntiforme [G/A]

## ***SCID***



***Discriminazione allelica***



Utilizzo di primers e sonde specifiche per rilevare la delezione [TCTCA]



# FLUSSO ATTIVITA'

## Discriminazione allelica in Real Time-PCR

### 1 Campione sangue+EDTA

Prelievo di sangue equino



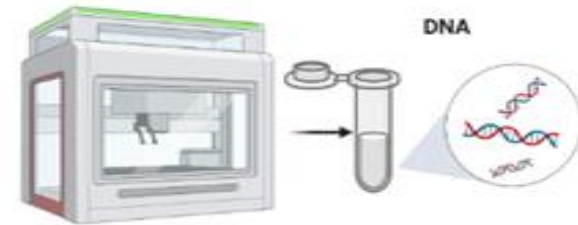
### 2 Raccolta campioni

Il campione viene conservato a -20°C o procedere all'estrazione del DNA



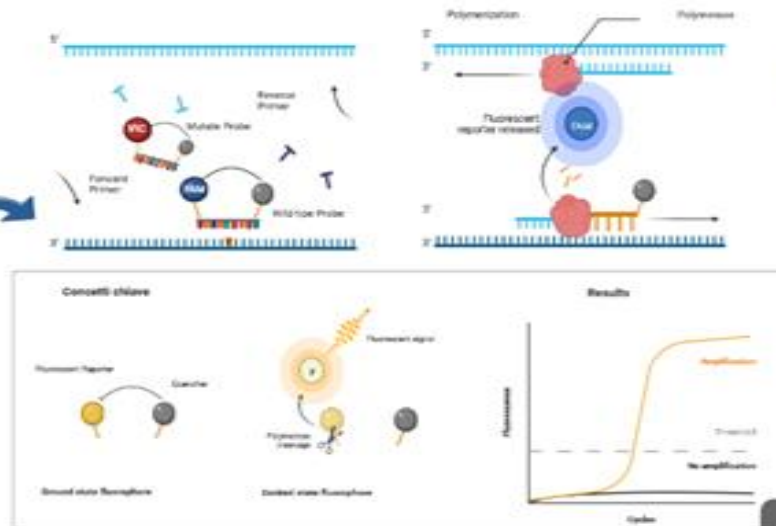
### 3 Estrazione DNA

Estrazione automatizzata DNA



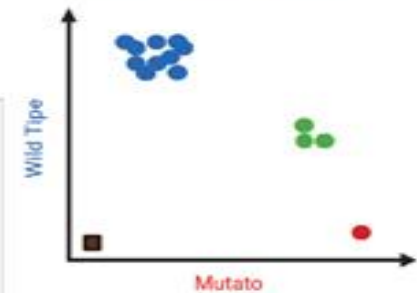
### 4 Genotyper Real-Time PCR

Rilevazione di specifiche variazioni nucleotidiche nelle sequenze



### 5 Risultato finale

Rilevazione di un plot di amplificazione  
WT/WT - Mut/Mut - WT/Mut

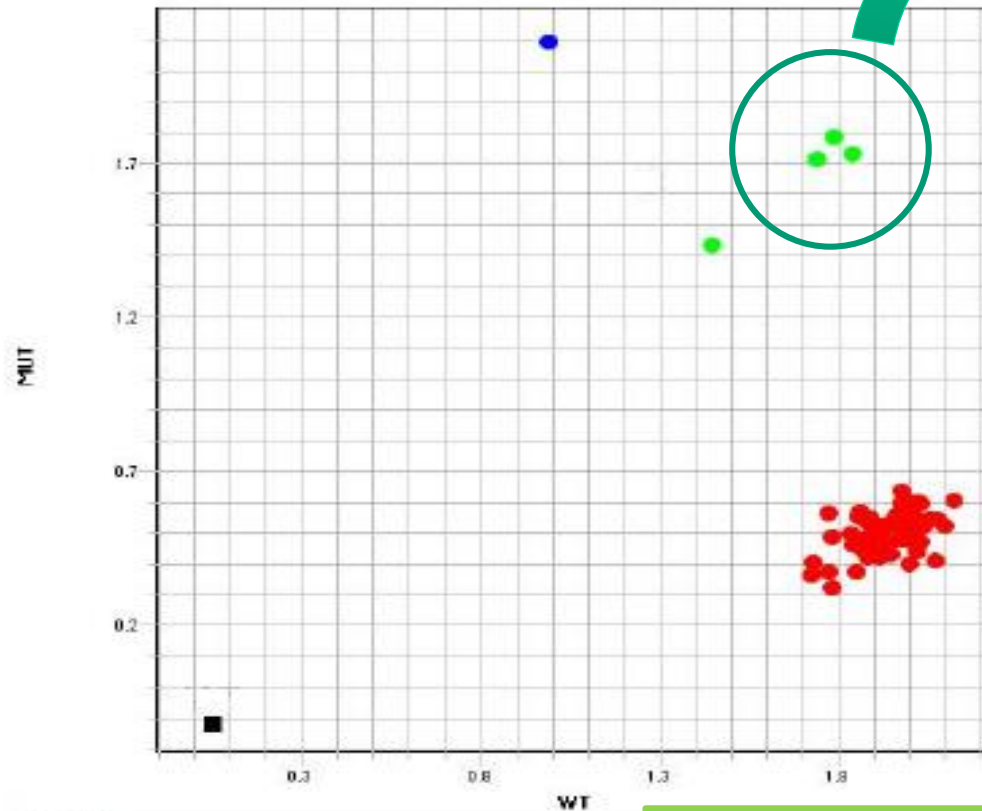




# RISULTATI PSSM\_1

## Allelic Discrimination Plot

Allelic Discrimination Plot (SNP Assay: SNP Assay 1)



**2 AVELIGNESE (F)**  
**1 MAREMMANO (M)**

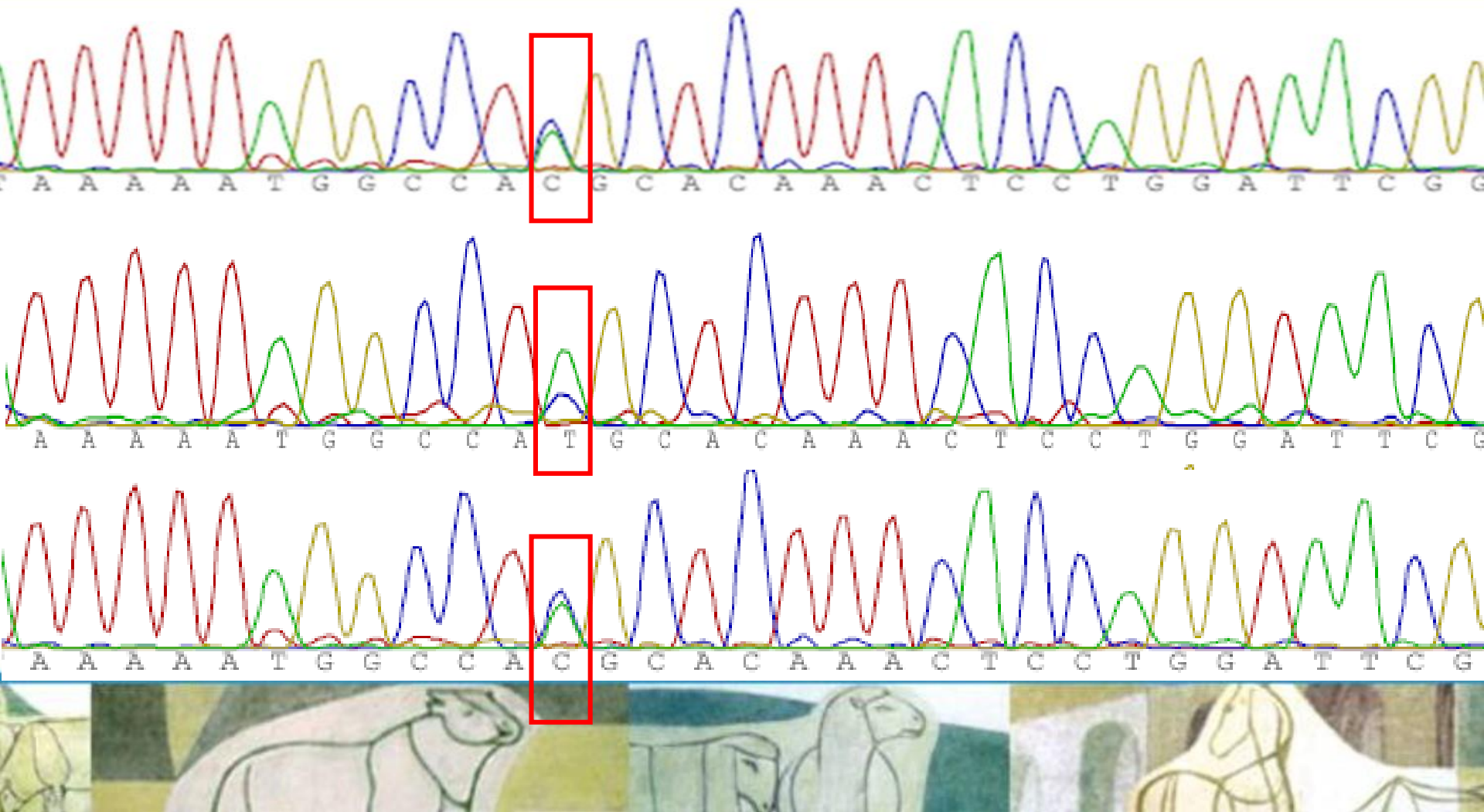
Nella *popolazione* presa *in esame* è stata calcolata una *prevalenza* di **PSSM1** pari allo **0.68%**.

Nel dettaglio, per quanto riguarda la razza **Avelignese** possiamo calcolare una prevalenza del **33.3%**, mentre per la razza **Maremmana** del **2,63%**.



# RISULTATI PSSM\_1

I campioni mutati in eterozigosi per PSSM1 sono stati sequenziati ed è stato confermato il risultato ottenuto in Genotyping Real-Time PCR



# RISULTATI SCID

**Table.** Genetic test results of SCID in some countries.

Country	Methods	Number of horses	Observed Heterozygotes	Reference
USA	PCR	250	21	8
UK	PCR	106	3	9
Brazil	PCR	205	3	10
Morocco	PCR	377	21	11
South Africa	PCR	800	51 (2004)	12
		699	24 (2009)	
Poland	PCR	271	-	18
	Sequencing	808	3	25
Iran	PCR	120	-	15
	PCR	244	4	26
Slovenia	PCR	128	-	17
Romania	PCR	60	-	16
Latvia	PCR	57	-	27
Egypt	Commercial kits	10	-	28
	Sequencing	103	-	1
Syria	SNP Genotyping Assay	250	-	14
Ukraine	PCR	16	-	13
Turkey	PCR	239	-	19

Investigation of the SCID mutant allele in Turkish Arabian horses reared in some private farms of the Eskişehir region in Turkey\_Turk J Vet Anim Sci (2020)

Short Communication

Genetic screening for cerebellar abiotrophy, severe combined immunodeficiency and lavender foal syndrome in Arabian horses in Poland

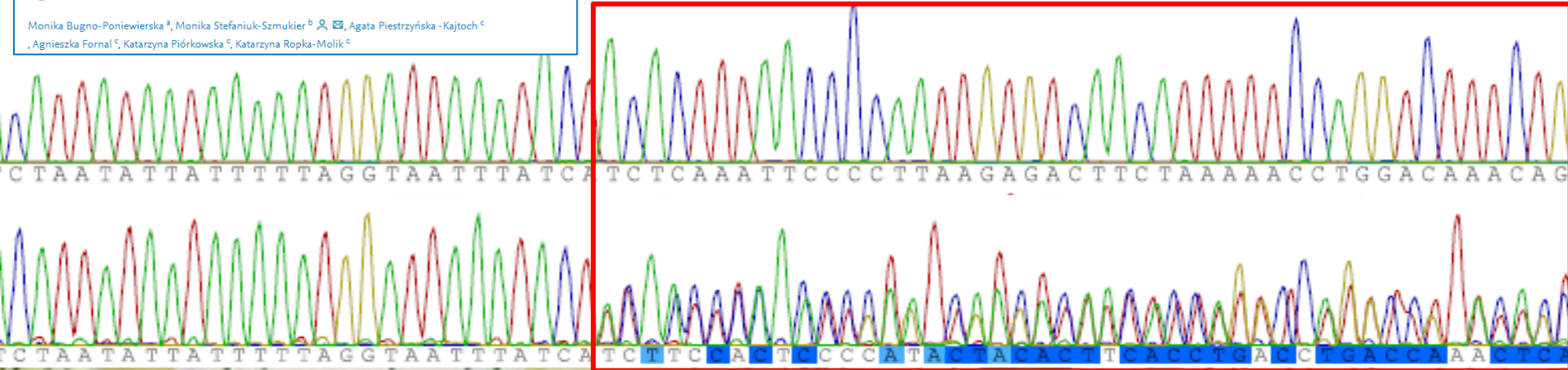
Monika Bugno-Poniewierska <sup>a</sup>, Monika Stefaniuk-Szmukier <sup>b</sup>, Agata Piestrzyńska -Kajtoch <sup>c</sup>, Agnieszka Fornal <sup>c</sup>, Katarzyna Piórkowska <sup>c</sup>, Katarzyna Ropka-Molik <sup>c</sup>

Come si evince dalla letteratura, i metodi comunemente utilizzati per rilevare la delezione SCID sono:

- Sequenziamento
- Varie applicazioni della PCR end-point

Dalla letteratura emerge solo un caso di utilizzo della Discriminazione allelica in Real-Time PCR per questa malattia genetica.

***Il nostro metodo di screening tramite discriminazione allelica in Real-Time PCR è in corso di verifica e validazione***





# CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

- la completa esclusione dei portatori di difetti genetici accelera la rimozione di un problema eliminando la probabilità di trasmissione alle nuove generazioni;
- restringimento del pool genetico a disposizione e possibile perdita di geni desiderabili presenti nei soggetti portatori;
- aumento della frequenza di alcuni difetti ereditari con la pratica dell'inseminazione artificiale;
- possibile introduzione dei test per le movimentazioni (USA-MAROCCO-POLONIA) come strumento di prevenzione;
- maggiori approfondimenti ed implemento degli studi di prevalenza per assenza di dati sul territorio nazionale\*





## Future perfect?

Currently, they  
ed. Use of  
erface slightly  
that we don't  
going to  
make adverse  
be genuine  
and cause  
reactions.  
or such risks  
if prove equine  
genetic editing  
we grow, we  
parental  
effects are  
benefits to  
of breeding  
among "clumpy  
sires," these  
refined purely  
to humans.  
is that  
forward-  
grow under  
targeted. Given  
parental, we  
emphasize its  
and let that the  
works together  
regulate our  
class. HHS

## Engineering an athlete

SOME like equine genetic selection for performance to the production of "human Designer babies," deeming the practice morally repugnant. But it represents an unavoidable human interference with nature. The argument is not that simple. Being able to identify correlations between genetic traits and athletic ability (as Swedish researchers have done for several equine breeds) allows us to breed and train a horse for the discipline for which he has the most natural aptitude. This may have a positive welfare impact, as it then means less time in the paddock and more time in the arena. It may also reduce "wastage" of unsuccessful, unwanted horses.

This reasoning is predicated upon a true correlation between the identification of "desirable genes" and athletic performance, however, which is not guaranteed. Some famous thoroughbreds were retrospectively discovered to be of the "wrong" genotype for the races they won, suggesting it is not so clearly predictable.

If one overall aim is to improve equine welfare, then testing to avoid breeding from animals carrying these genes may be an ethically "good" thing. Yet should we test for other traits which have no direct impact on the future horse's breeding but will affect the foal's usefulness to humans?

The obvious example is testing for the "speed gene" in thoroughbreds, which can be used to inform decisions about breeding and whether horses are better suited to speed or stamina events (see box, left). Genetic testing can also identify the sex of an animal before it is bred, to



Naked foal syndrome requires two affected foals sired from a



no parents to carry the faulty gene, about life expectancies