



Analisi mediante FACS delle sottopopolazioni lifocitarie in risposta all'infezione sperimentale con virus della peste suina africana - Analysis by FACS of lifocyte subpopulation in response to experimental infection with African swine fever virus

Severi G., Iscaro C., Curina G., Paternesi B., De Mia G.M.

Abstract The African Swine Fever (ASF) is still present in many countries around the world. It is therefore very important to study the mechanisms underlying the regulation and modulation of the immune response of pigs infected with ASF. In this paper, 10 animals were experimentally infected with ASF Virus (Kenya strain 05). Blood samples were subjected to PCR and ELISA assays. Were also carried out cytofluorimetry investigations in lymphocyte subpopulations (CD3, CD4, CD8, CD21). The results show that there is common trend among viral load, clinical signs, antibody response and expression of lymphocyte subpopulations in response to experimental infection.

Riassunto La Peste Suina Africana PSA è ancora oggi presente in molti Paesi del mondo. È quindi molto importante studiare i meccanismi che sono alla base della regolazione e della modulazione della risposta immunitaria del suino in corso di infezione da virus PSA. In questo studio 10 animali sono stati infettati sperimentalmente con Virus PSA (Stipite kenia 05). I campioni di sangue sono stati sottoposti a saggi di PCR ed ELIS. Sono state inoltre eseguite indagini citofluorimetriche relativamente a 4 sottopopolazioni linfocitarie (CD3, CD4, CD8, CD21). I risultati mostrano come ci sia accordo tra viremia, segni clinici, risposta anticorpale ed espressione delle sottopopolazioni linfocitarie in risposta all'infezione sperimentale.

Introduzione

La Peste Suina Africana (PSA) riveste ancora oggi un ruolo cruciale e condizionante rispetto alla zootecnia di moltissimi paesi del mondo. Per tale motivo risulta quanto mai importante indagare i meccanismi che sono alla base della regolazione e della modulazione della risposta immunitaria del suino in corso di infezione da virus PSA.

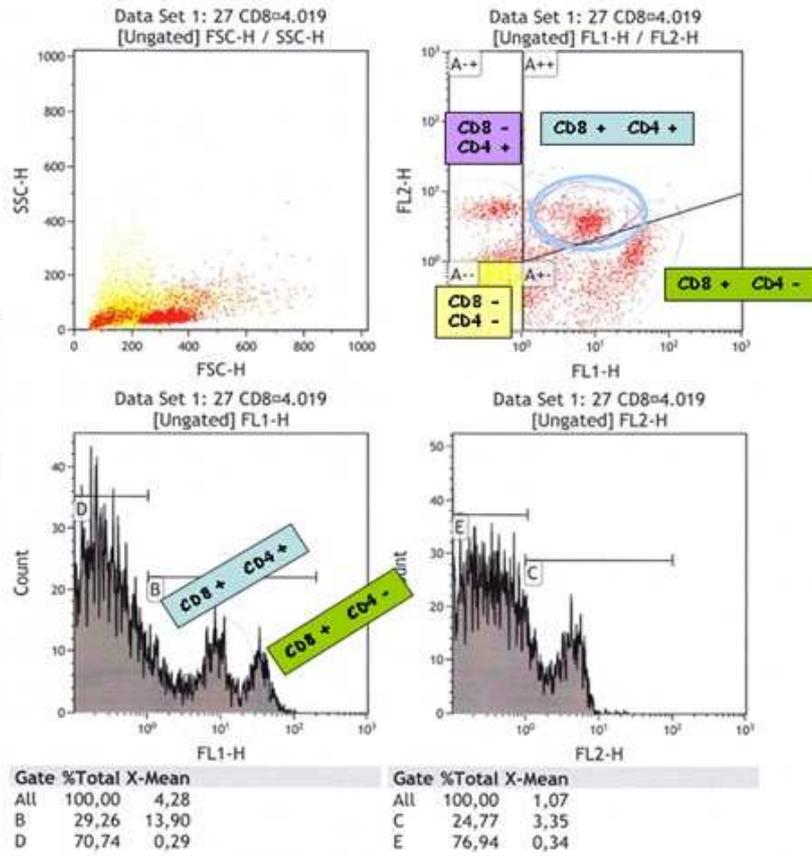
Materiali e metodi

10 animali sono stati sottoposti a infezione sperimentale con virus PSA stipite Kenia 05, eseguita per via oro-nasale (10 UHA). Sui 10 suini, stabulati presso l'unità BSL3 dell'IZSUM sono stati effettuati prelievi ematici a tempo 0 e, dopo l'infezione, prelievi ogni 72 ore per tutta la durata dell'esperimento.

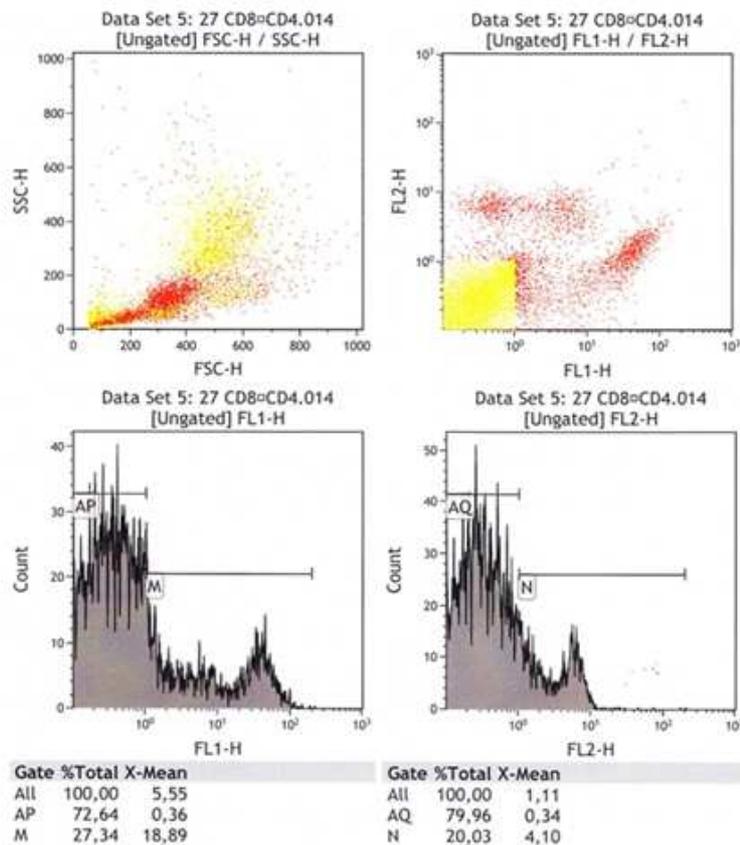
Giornalmente è stata rilevata la temperatura corporea e sono stati osservati i segni clinici. I campioni sono stati sottoposti a saggi di PCR ed ELISA Ab.

Utilizzando l'analizzatore laser FACS (fluorescence activated cell scanning) sono state inoltre eseguite indagini citofluorimetriche relativamente a 4 sottopopolazioni linfocitarie (CD3, CD4, CD8, CD21) (Fig. 1).

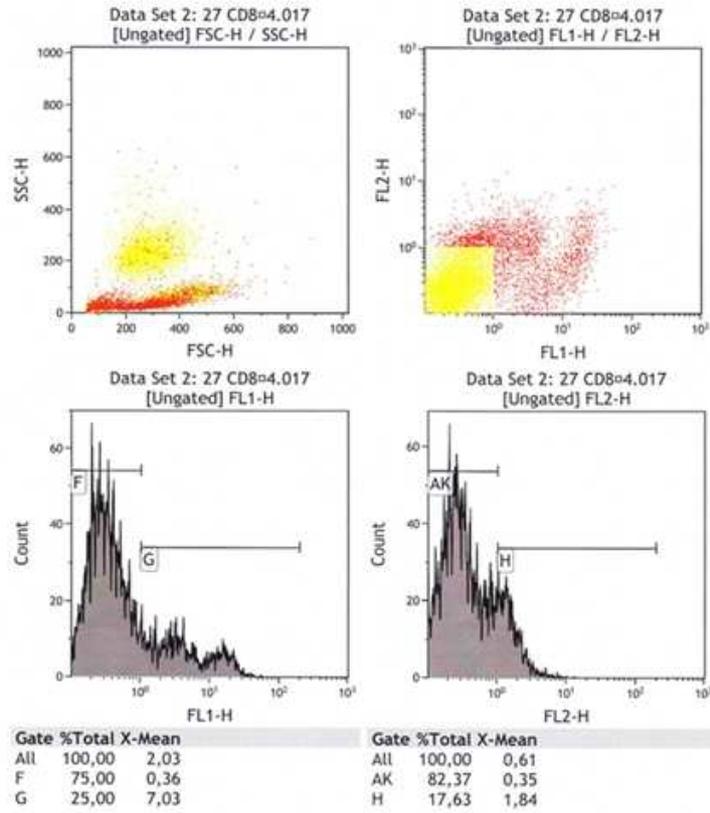
0
DPI



10
DPI



**3
DPI**



**29
DPI**

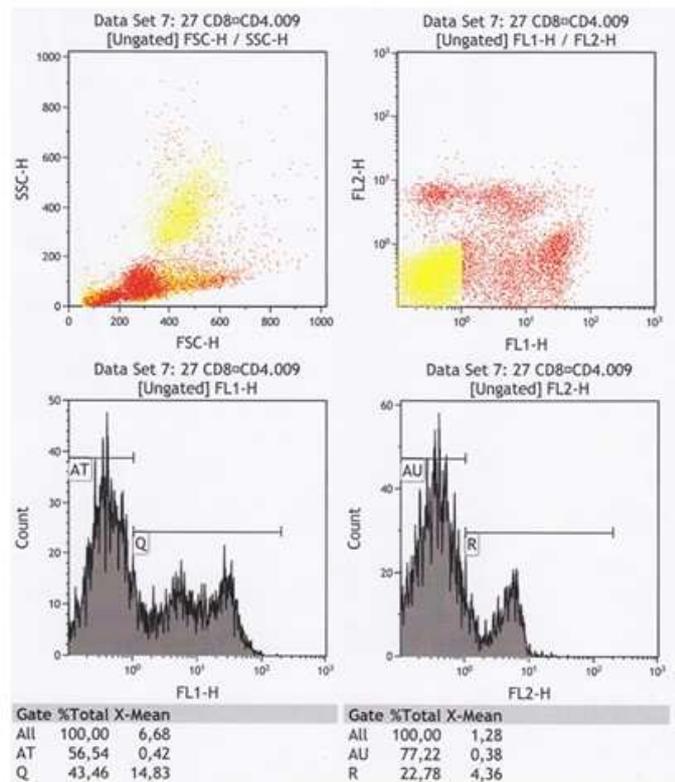


Figura 1. Indagini citofluorimetriche relativamente a 4 sottopopolazioni linfocitarie

Risultati e conclusioni

I risultati relativi all'andamento dell'infezione sperimentale in termini di temperatura corporea, viremia e risposta anticorpale sono riassunti nella figura 2.

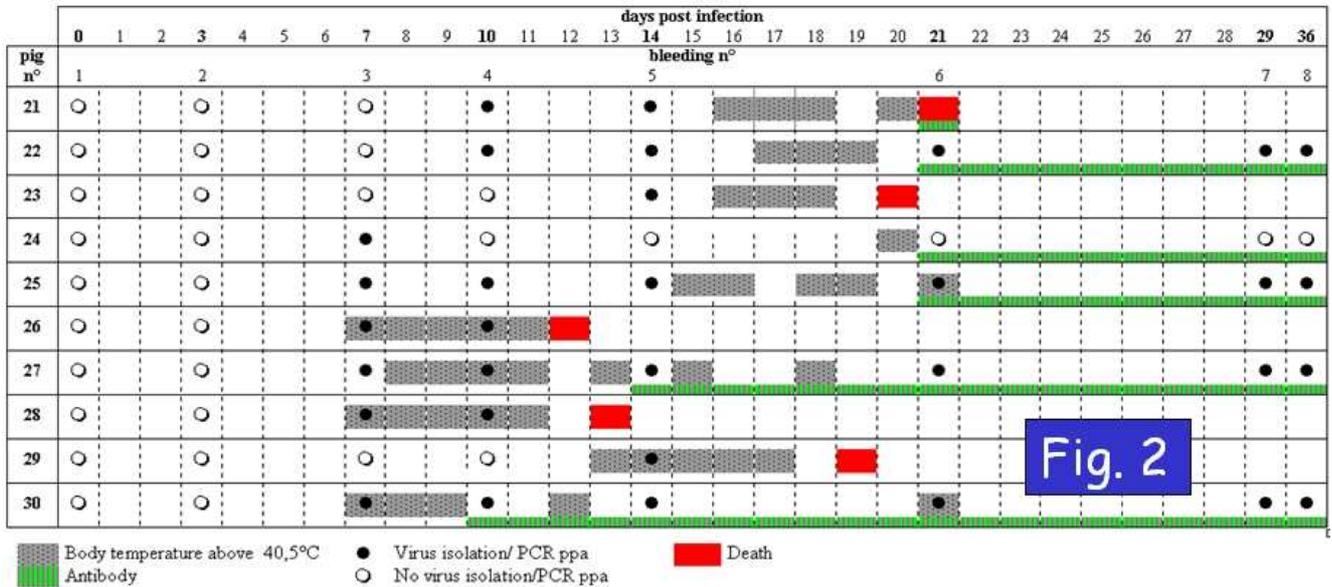


Figura 2. Andamento dell'infezione sperimentale (temperatura corporea, viremia e risposta anticorpale)

I risultati ottenuti utilizzando il citofluorimetro mostrano come 5 suini (22, 24, 25, 27, 30) manifestino un iniziale decremento di tutte le sottopopolazioni linfocitarie seguito da un consistente aumento del numero e della percentuale di attivazione dei linfociti CD4 e CD8; tale risposta consente a questo gruppo di animali di superare l'infezione (Fig. 3).

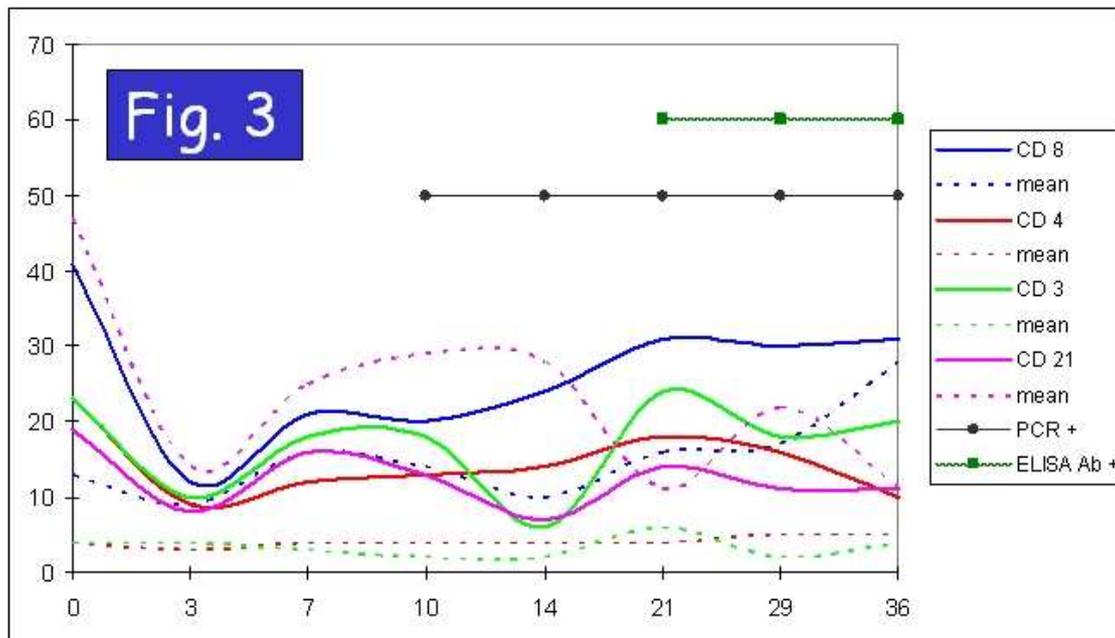


Figura 3. iniziale decremento delle sottopopolazioni linfocitarie seguito da un aumento del numero e della percentuale di attivazione dei linfociti CD4 e CD8

Il suino numero 21 mostra una risposta simile al gruppo dei sopravvissuti nei primi 10 giorni post infezione (DPI), successivamente si evidenzia un decremento soprattutto a carico di CD4 e CD8 e l'animale viene a morte 3 settimane dopo l'infezione (Fig. 4).

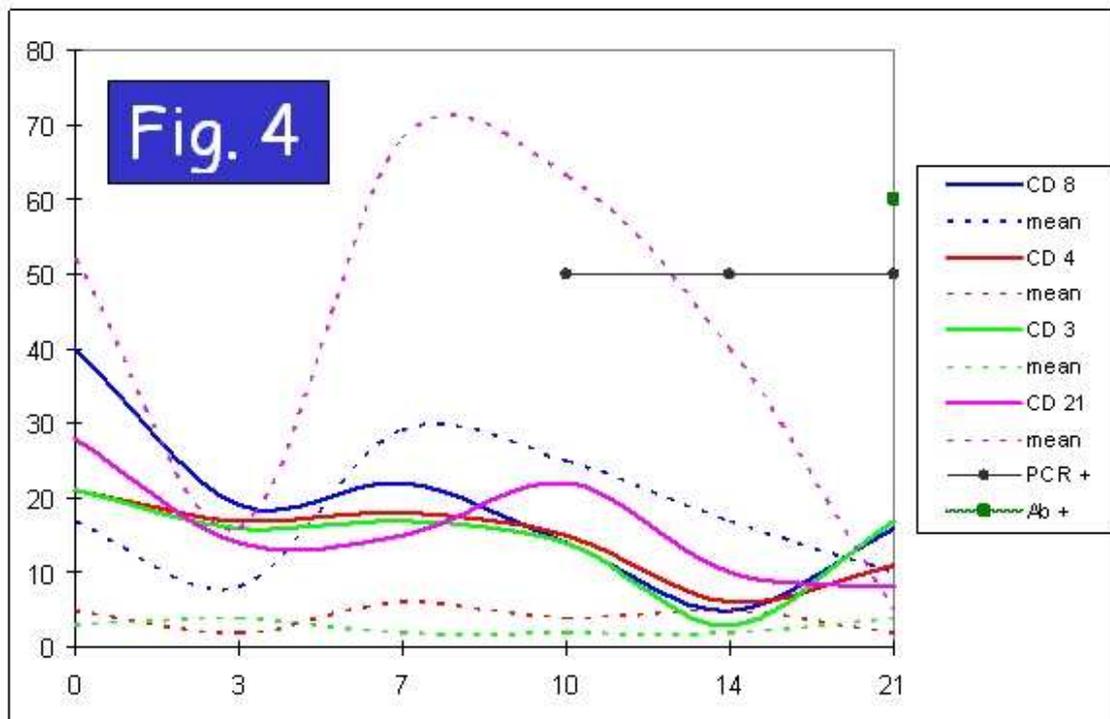


Figura 4. Decremento a carico di CD4 e CD8

Gli animali 23, 26, 28 e 29 mostrano una iniziale riduzione di tutte le sottopopolazioni linfocitarie (3DPI) seguita da una moderata e transitoria ripresa sia in termini numerici che di percentuale di attivazione. A partire da 8 DPI, un nuovo e ancora più drastico decremento di tali sottopopolazioni precede la morte dei soggetti (Fig. 5).

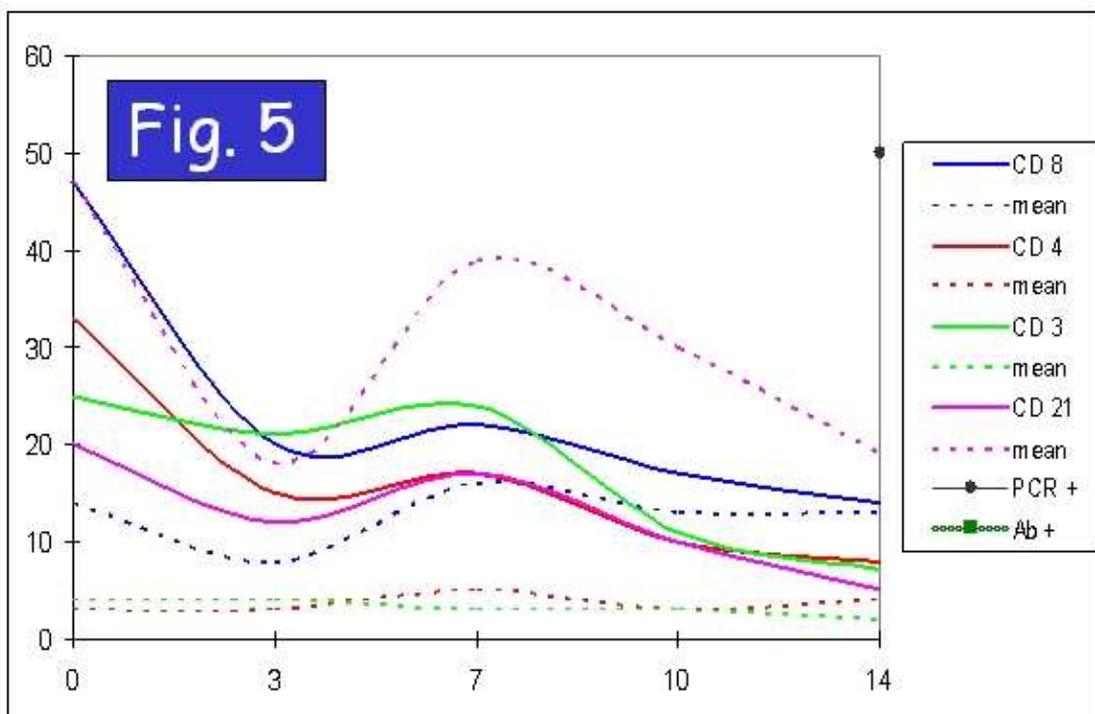


Figura 4. decremento delle popolazioni 3DPI, precedente l'exitus

In conclusione risulta evidente la concordanza tra viremia, segni clinici, risposta anticorpale ed espressione delle sottopopolazioni linfocitarie in risposta all'infezione sperimentale. Tale indagine ha inoltre consentito di individuare la popolazione di linfociti doppi marcati CD4CD8; ulteriori studi seguiranno al fine di individuare il ruolo che questa popolazione non convenzionale potrebbe rivestire nel meccanismo immunitario di risposta all'infezione.



Analisi mediante FACS delle sottopopolazioni linfocitarie in risposta all'infezione sperimentale con virus della peste suina africana by Severi G. et al., 2011 is licensed under a Creative Commons Attribution 2.5 Italia License.
Permissions beyond the scope of this license may be available at <http://indice.spvet.it/adv.html>.

	Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Via G. Salvemini 1. 06126, Perugia - Italy
Centralino Istituto	Tel. +39 075 3431 - Fax. +39 075 35047
Biblioteca	Tel. / Fax +39 075 343217 e-mail: bie@izsum.it
Rivista SPVet.it ISSN 1592-1581	Tel. +39 075 343207 e-mail: editoria@izsum.it ; redazione-spvet@izsum.it http://spvet.it ; http://indice.spvet.it
U. R. P.	Tel. +39 075 343223; Fax: +39 075 343289 e-mail: URP@izsum.it