

Sviluppo e standardizzazione di un test elisa per la sierologia della mixomatosi

Botti G.¹, Lavazza A.¹, Cristoni S.², Brocchi E.¹, Capucci L.¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia Romagna, Reparto
Biologia Molecolare, Brescia, Italy

²Consulente IZSLER, Ion Source & Biotechnologies srl, Milano, Italy

Corresponding author: Lorenzo Capucci, IZSLER, Via Bianchi 7/9, 25124 Brescia,
Italy - Tel +39 0302290308 - Fax +39 302290369 - Email: lcapucci@bs.izs.it

ABSTRACT: Development and standardization of a serological ELISA test for Mixomatosis. The myxomavirus (MV) is the poxvirus that causes myxomatosis in the European rabbit, a disease responsible of severe losses to rabbit meat industry. The DNA of MV encodes for more than 100 proteins, most of which directly stimulate the immune system of the host. Protection induced by live vaccination is mainly based on cellular immunity but the detection of humoral antibodies is important for epidemiological studies and surveillance programs. We set up and used a competition ELISA based on the use of a monoclonal antibodies (MAb 1E5) that recognises an immunodominant protein of MV, named m71L. Such protein has been identified by immunoprecipitation with MAb 1E5 followed by analysis with mass spectrometry. The antigen was obtained from infected RK13 cell cultures. The ELISA test was initially used to detect antibodies both in vaccinated animals (titres at 1 month p.v. ranged between 1/80 and 1/640) and in convalescent animals (titres up to 1/20480). The validation of such method is not yet completed but preliminary results suggest a good sensitivity and a high specificity.

Key words: Mixomatosis, Diagnosi, ELISA, Sierologia.

RIASSUNTO: Il myxoma virus (MV), genere Leporipoxvirus, famiglia Poxviridae, è l'agente eziologico della mixomatosi del coniglio Europeo (*Oryctolagus cuniculus*), malattia endemica in Europa e causa di ingenti danni per la cunicoltura nazionale. Il DNA del virus codifica per oltre 100 proteine, che in parte interagiscono direttamente sul sistema immunitario, innato e acquisito, dell'ospite, inficiandone le capacità di riconoscere ed eliminare il virus. Sebbene la protezione indotta dai vaccini attenuati sia legata all'attivazione della parte cellulare della risposta immune, la valutazione della risposta umorale è di indubbia necessità per fini epidemiologici e di sorveglianza. E' stata quindi sviluppata e utilizzata un'ELISA competizione basata sull'impiego di un anticorpo monoclonale (MAb 1E5) anti-MV, specifico per la proteina virale immunodominante m71L, che è stato selezionato perché più risentiva della competizione di sieri di coniglio vaccinati o convalescenti. La proteina m71L è stata identificata mediante immunoprecipitazione con il MAb 1E5 e successiva analisi in spettrometria di massa. L'antigene è stato preparato da cellule RK13 infette da MV, criolisate e precipitate con ammonio solfato. La preparazione è conservata in glicerolo al 50% a -20°C (stabilità >1 anno). I titoli anticorpali medi in animali ad 1 mese p.v. variano da 1/80 a 1/640, mentre quelli in animali convalescenti raggiungono 1/20480. L'ELISA è in corso di validazione, ma l'insieme dei dati acquisiti in diversi contesti sperimentali e su numerosi sieri di campo depone già per un buon livello di sensibilità diagnostica ed elevata specificità.