
Studio del potere interferonizzante di un vaccino IBR Marker Live

Annalisa Stefani, Stefano Nardelli



In collaborazione con



INTRODUZIONE

Per **VACCINO** si intende una “**preparazione antigenica**, costituita o dal microrganismo (virus, batteri o protozoi) o da frazioni glicoproteiche del microrganismo stesso o da sue tossine, che, somministrata all’ospite, induce una reazione immunitaria specifica, di tipo mucosale, umorale o cellulo-mediata

→ Risposta immunitaria acquisita:

- **Immunità umorale**
- **Immunità cellulo mediata**

INTRODUZIONE

Risposta immunitaria umorale: interazione tra i precursori dei **linfociti B** e l'antigene. Questo legame porta infatti alla differenziazione in cellule secernenti **anticorpi** (plasmacellule).

Risposta cellulo mediata: i **linfociti T** riconoscono l'antigene esposto sulla superficie della cellula tramite il complesso maggiore di istocompatibilità.

- I linfociti T helper (CD4+) riconoscono gli antigeni legati al complesso MCH II e producono **citochine** che promuovono o inibiscono la divisione cellulare o l'espressione dei geni.
- I linfociti T citotossici (CD8+), riconoscono gli antigeni legati all'MCH I, una volta attivati dai T helper, si differenziano in **linfociti citotossici** con la funzione di distruggere le cellule infettate dal virus

INTRODUZIONE

Risposta	Effettori	Attività
Cellulo- mediata	Cellule T helper (CD4+) e linfociti T citotossici (CTLs, CD8+)	Secrezione di INF e induzione dello stato antivirale
	Linfociti T citotossici (CTLs)	Distruzione delle cellule infette
	NK e macrofagi	Distruzione delle cellule infette direttamente o attraverso la citotossicità cellulo mediata anticorpo dipendente

Flint et al., 2000 (modificata)

INTRODUZIONE

Fattori solubili: **citochine**

Messaggeri proteici che regolano il sistema immunitario:

- Breve emivita
- Diversa struttura e diversi recettori
- Agiscono localmente e/o a livello sistemico
- Pleiotropiche: agiscono su diversi tipi cellulari con effetti diversi
- Ridondanti: agiscono sulle stesse cellule amplificando il loro effetto
- Azione sinergica o antagonista

INTRODUZIONE

Tra le citochine, gli **interferoni**, svolgono un ruolo fondamentale nella risposta immunitaria contro i virus → inducono le cellule a resistere a infezioni virali

La produzione di interferoni è innescata dalla associazione tra l'acido nucleico del virus e i ribosomi cellulari, che esita nella attivazione dei geni codificanti per l'INF. Gli interferoni stimolano la produzione di oltre 100 nuove proteine innescando così uno "stato antivirale"

INF di tipo I (IFN- α e IFN- β): attività antivirale e regolatoria

INF di tipo II (IFN- γ): primariamente attività di **regolatore del sistema immunitario** e secondariamente **attività antivirale**

INTRODUZIONE

L'IFN- γ viene liberato dalle cellule NK e dai linfociti T stimolate dall'antigene e ha come bersaglio gli stessi linfociti T, i linfociti B e i macrofagi

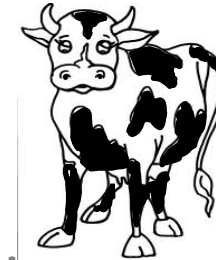
- Potente attivatore dei macrofagi (→ fagocitosi)
- Aumenta espressione di MHC classe I e stimola anche l'espressione di MHC di classe II
→ amplifica la fase di riconoscimento della risposta immunitaria
- Promuove la proliferazione dei linfociti T e B
- Attiva i neutrofili (*burst* respiratorio)
- Stimola l'attività citolitica delle cellule NK
- Attiva le cellule endoteliali vascolari e promuove l'extravasazione delle cellule regolatrici e effettrici

OBIETTIVO

**Valutare l'effetto della vaccinazione per IBR
sull'immunità anticorpale e sull'immunità
cellulo mediata**

DISEGNO SPERIMENTALE

42 animali: vacche di razza frisona



Gruppo 1



- somministrazione vaccino Hipra Marker Live
- richiamo a 21 gg

Gruppo 2 :



- somministrazione vaccino Hipra Marker Live, no richiamo

Gruppo 3 :



- somministrazione diverso ceppo vaccinale marker live, no richiamo

Gruppo CTRL :

- animali non vaccinati (controllo)

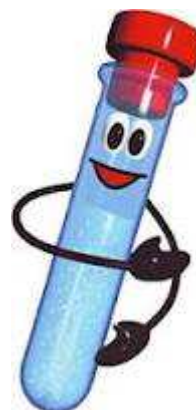
DISEGNO SPERIMENTALE



MATERIALI E METODI

☐ Prelievi ematici:

Siero: **anticorpi totali** e **anticorpi anti-GE**



Sangue in li-eparina per prova γ IFN:

- Virus utilizzato: **BoHV-1** (TCID₅₀ 10^{7,85}/mL)
- Lisato cellulare privo di virus (**Mock**)
- Kit ELISA per la determinazione del **γ IFN**

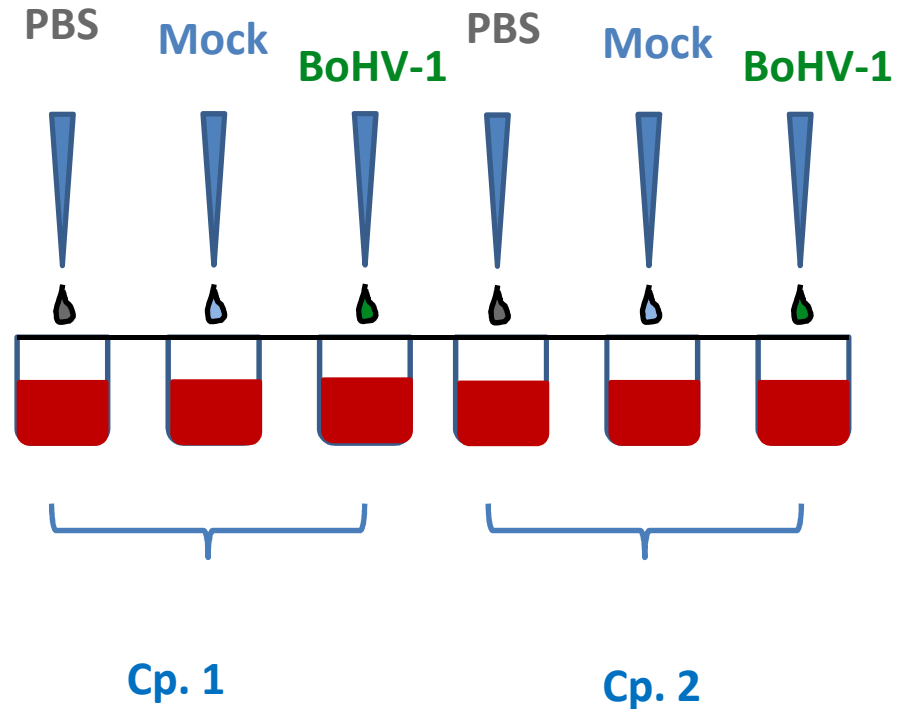


☐ **Analisi statistica dei dati:** modello lineare ad effetti misti (gruppo e tempo di osservazione)

Prova produzione γ IFN BoHV-1 specifica

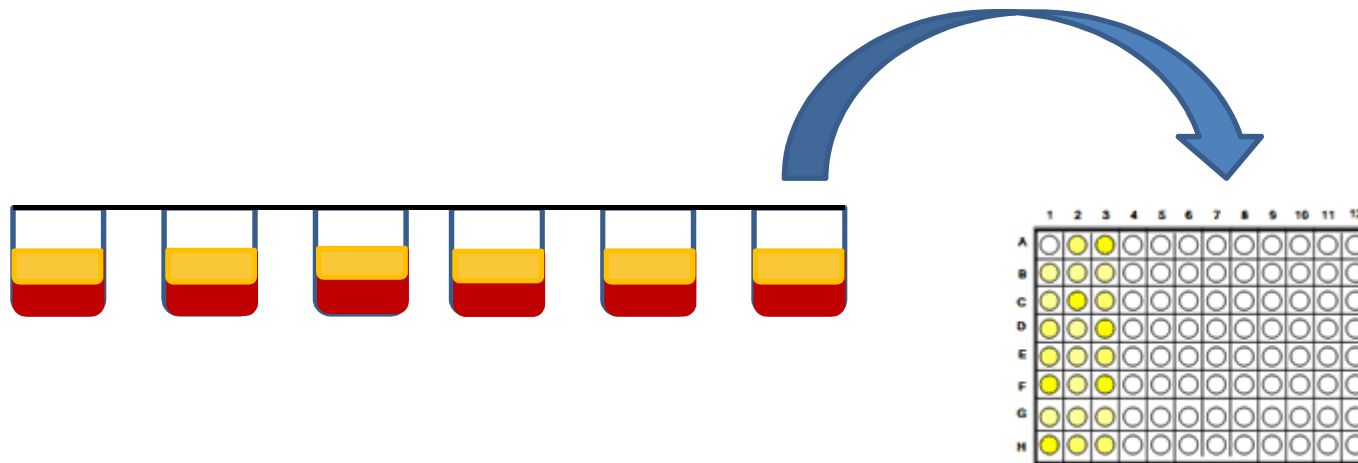


Prova produzione γ IFN BoHV-1 specifica



Prova produzione γ IFN BoHV-1 specifica

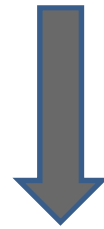
- Incubazione a 37°C con 5% CO₂ overnight
- Centrifugazione piastra e raccolta **plasma**



Kit ELISA per la determinazione del γ IFN

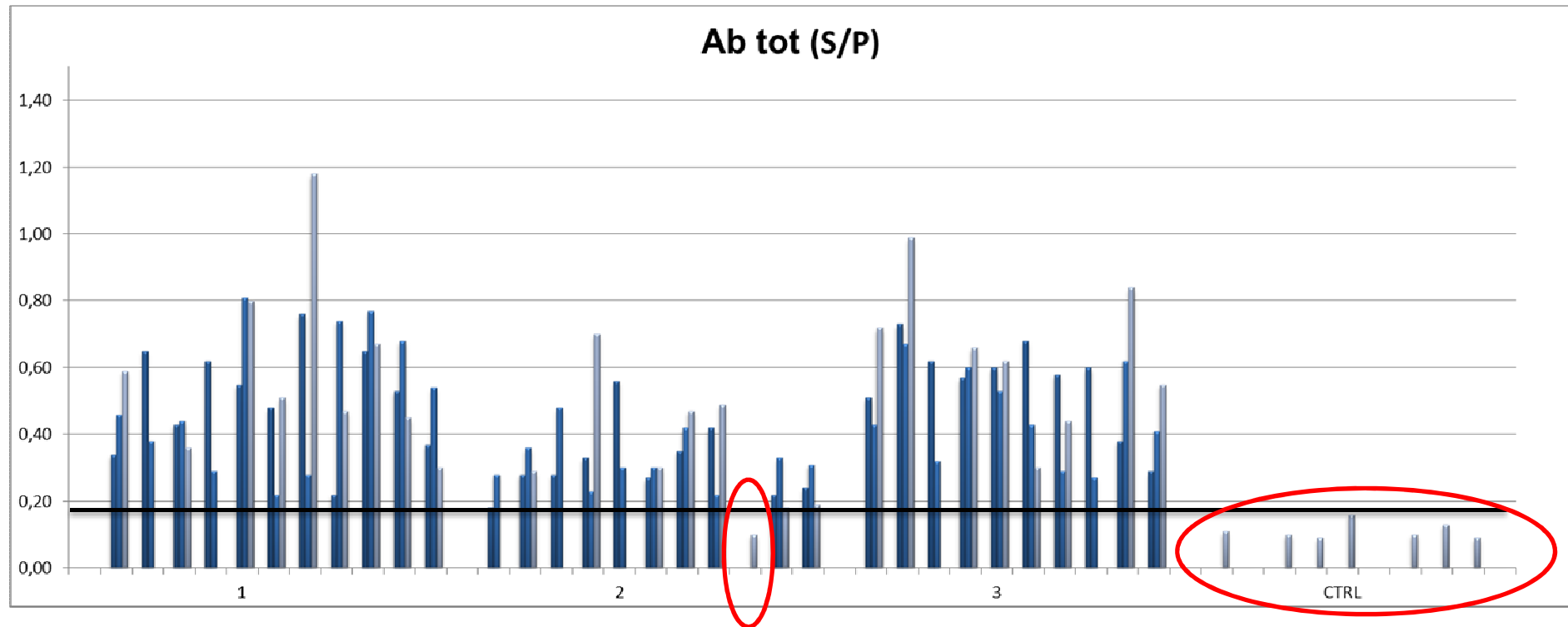
Risultati: sierologia

Anticorpi anti-GE: **NEGATIVI** in tutti gli animali durante tutta la sperimentazione

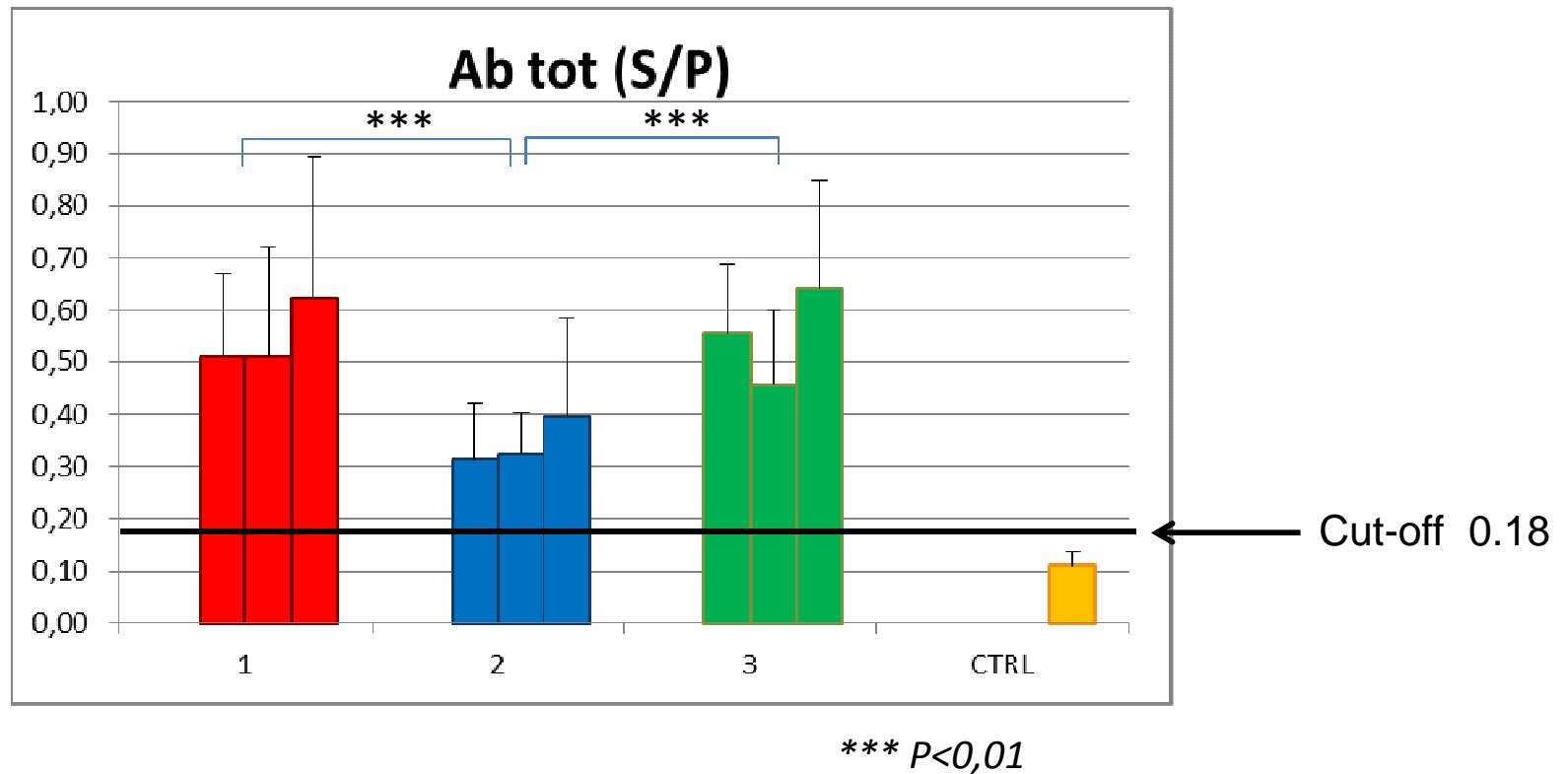


Nessuna infezione di campo durante la fase sperimentale

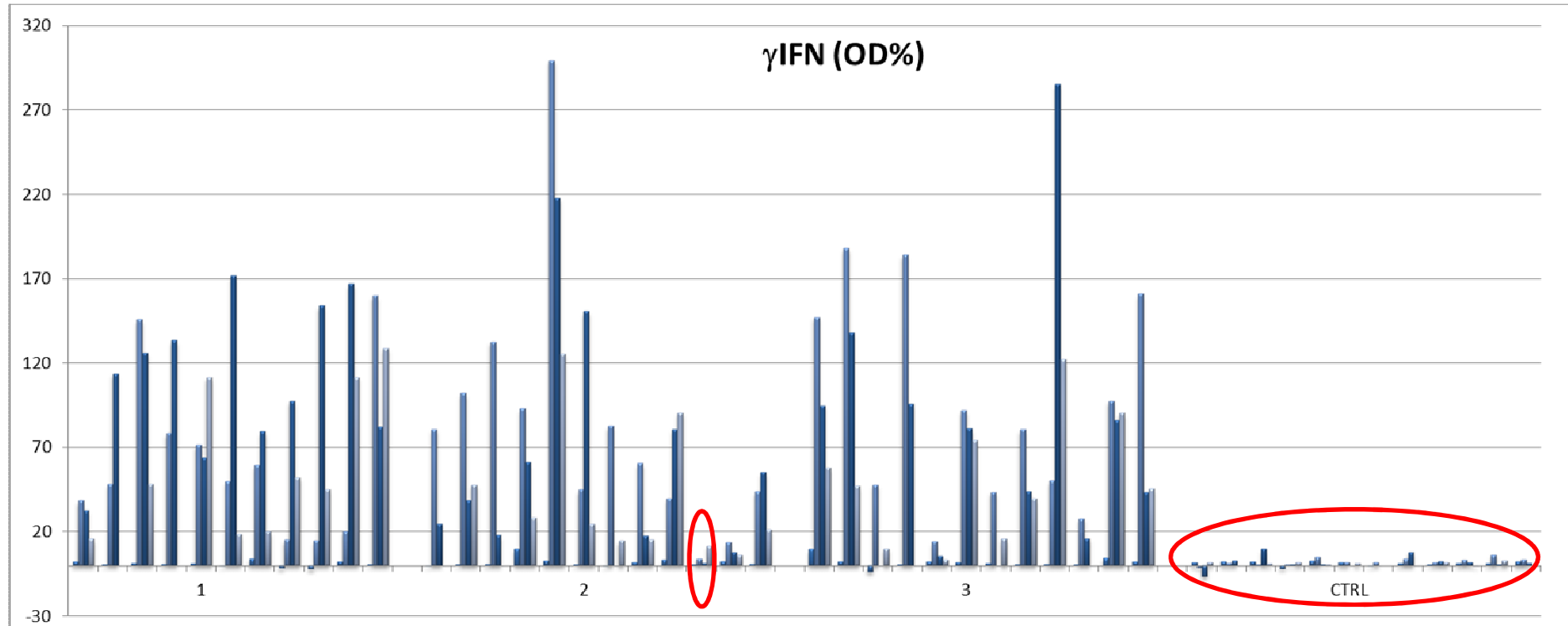
Risultati: sierologia (anticorpi totali anti BoHV-1)



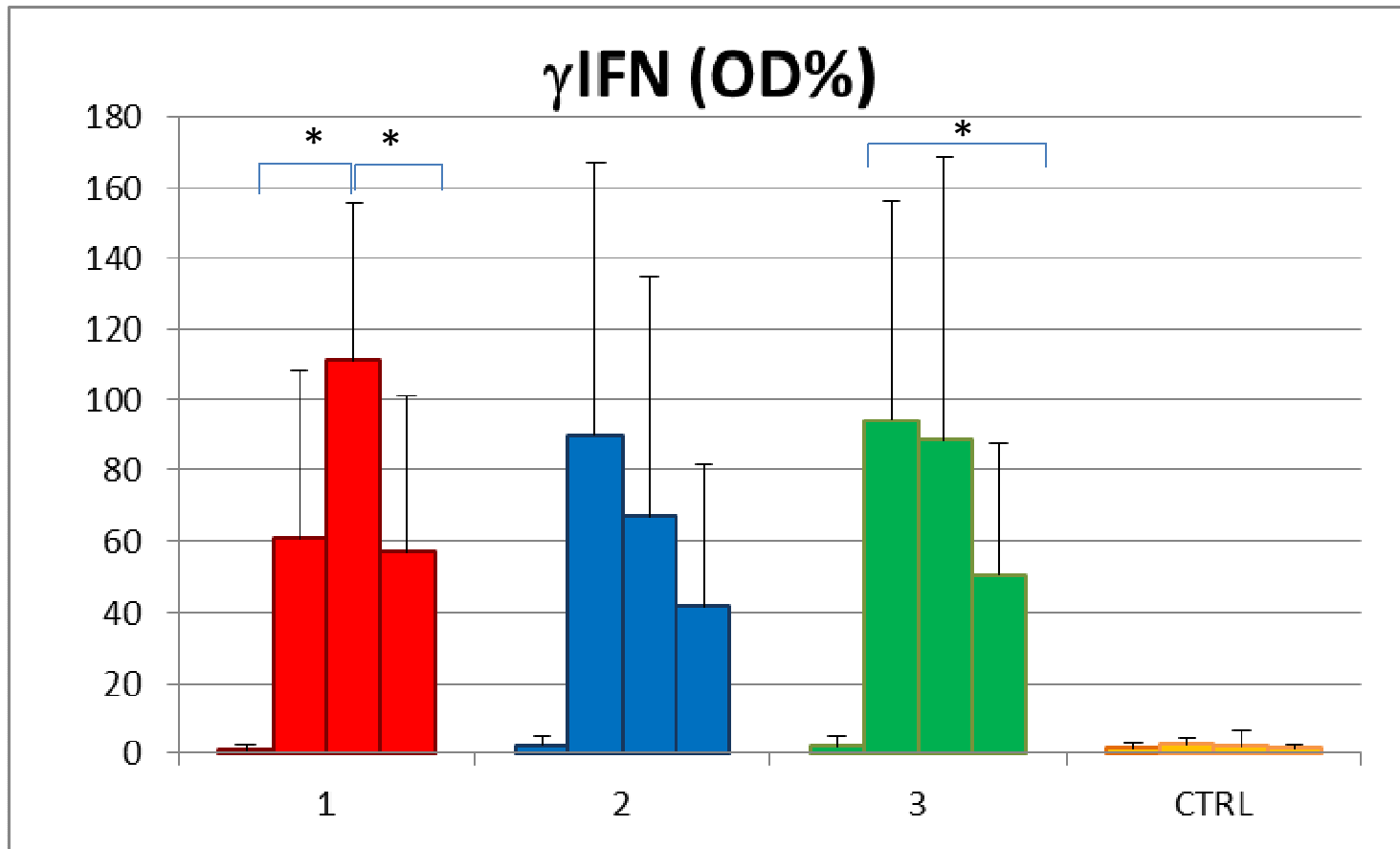
Risultati: sierologia (anticorpi totali anti BoHV-1)



Risultati: prova produzione γ IFN BoHV-1 specifica



Risultati: prova produzione γ IFN BoHV-1 specifica



* $P < 0.05$

CONCLUSIONI

- L'assenza di una risposta anticorpale anti-gE indica che non vi sono stati animali naturalmente infetti nello studio e che la risposta evidenziata è da imputare ai protocolli vaccinali applicati
- Il sistema per la rilevazione del γ IFN quale indicatore di immunità cellulo mediata BHV-1 specifica è stato messo a punto e «funziona» anche a distanza di 6 mesi dalla prima vaccinazione
- La produzione di γ IFN BHV-1 specifica è stata dimostrata nel 100% degli animali vaccinati e richiamati, e nel 95% degli animali vaccinati una sola volta
- Il richiamo vaccinale sembra potenziare la produzione del γ IFN negli animali con scarsa risposta cellulo mediata alla prima vaccinazione