

## **I TEST PER LA RICERCA DI ANTICORPI VACCINALI PROTETTIVI**

**Le riposte del Prof. Nicola Decaro, Dipl ECVM**

**Facoltà di Medicina Veterinaria - Bari**

**1) In cosa consistono esattamente i kit per la determinazione degli anticorpi vaccinali?**

I kit per la determinazione degli anticorpi vaccinali sono test immunoenzimatici su base solida, basati sulla tecnologia ELISA, che possono essere utilizzati per verificare la necessità o meno di sottoporre cani e gatti ai richiami periodici (annuali o triennali a seconda dell'agente patogeno e del tipo di vaccino). La presenza degli anticorpi è svelata da una reazione colorimetrica, su base enzimatica, la cui intensità, confrontata con una scala di riferimento, fornisce una stima approssimativa del titolo anticorpale. In commercio esistono kit per la determinazione degli anticorpi per le principali malattie infettive ad eziologia virale del cane (parvovirosi, cimurro, epatite infettiva) e del gatto (panleucopenia, rinotracheite infettiva e calicivirosi).

**2) Sono da considerarsi accurati? Quale è il "Gold Standard" per la determinazione degli anticorpi vaccinali?**

Questi kit, pur essendo affidabili, sono sicuramente meno accurati rispetto ai test sierologici tradizionali, come la virus-neutralizzazione (VN), che rappresenta il gold standard per la titolazione anticorpale. Il test VN rileva gli anticorpi neutralizzanti, che sono in genere quelli realmente protettivi, in quanto neutralizzano gli agenti virali, impedendone l'ingresso nelle cellule e bloccando l'infezione nelle sue prime fasi. Tuttavia, il test VN è complicato da eseguire, poiché richiede la disponibilità di cellule sensibili e di virus titolati, nonché un "know-how" che solo i laboratori di ricerca possiedono. Inoltre, la lettura del test VN richiede un tempo di circa 5 giorni, necessario perché il virus, in assenza di anticorpi specifici nel siero testato, possa replicare nelle cellule infette e determinare la comparsa di effetto citopatico. Solo nel caso dei parvovirus di cane e gatto, che hanno uno scarso effetto citopatogeno ma proprietà emoagglutinanti, si utilizza come test di laboratorio (tranne che per motivi di ricerca) la inibizione dell'emoagglutinazione (HI). Questo test è più rapido (circa 3 ore), ma, esattamente come i kit commerciali, rileva tutti gli anticorpi, non solo quindi quelli neutralizzanti.

**3) Questi kit possono indirettamente fare diagnosi anche di "malattia", oppure servono solo a valutare l'immunità protettiva dei vaccini?**

I kit commerciali, come tutti i test sierologici, non devono essere utilizzati per la diagnosi di malattia, in quanto, almeno per gli agenti patogeni considerati da tali test, durante la fase clinicamente manifesta dell'infezione, il sistema immunitario non ha ancora avuto il tempo di produrre un discreto titolo anticorpale, per cui il test potrebbe risultare negativo pur in presenza del patogeno. Inoltre, nessun test sierologico è in grado di discriminare gli anticorpi da infezione acuta da quelli prodotti a seguito di infezioni pregresse o da vaccinazioni effettuate in passato.

**4) Visto che la valutazione è semiquantitativa, la protezione anticorpale è considerata adeguata anche in caso di debole positività? Ed in caso di negatività come mi devo comportare? Significa che l'animale non è protetto?**

Per i diversi agenti virali sono stati fissati dei titoli anticorpali minimi, al di sopra dei quali l'animale è considerato protetto. Tuttavia, la comunità scientifica internazionale è concorde nel considerare come protettiva, almeno negli animali adulti, la sola presenza di anticorpi specifici, a prescindere dal titolo riscontrato. Infatti, poichè questi anticorpi sono espressione di un'immunità attiva (a differenza di quanto accade per gli anticorpi colostrali), l'animale dovrebbe quasi certamente possedere cellule della memoria pronte ad attivarsi al momento di un nuovo contatto con il patogeno. Inoltre, se ci sono anticorpi specifici, è verosimile pensare alla contemporanea presenza dell'immunità cellulo-mediata, che solo test estremamente complessi potrebbero valutare. Del resto, la possibile presenza di cellule della memoria e di cellule effettrici della risposta cellulare già sensibilizzate fa sì che anche animali completamente negativi al test anticorpale possano essere forniti di adeguata protezione.

**5) Gli anticorpi vaccinali identificati mediante questi kit sono sempre "protettivi"?**

Come già detto, i test basati sulla tecnologia ELISA non rilevano esclusivamente gli anticorpi protettivi, ma è possibile affermare che esiste una buona correlazione tra positività al test e protezione dalla malattia.

**6) In caso di positività, la memoria immunologica che i test identificano può anche essere la conseguenza di pregressa infezione? Ed in tal caso è memoria immunologica "protettiva"?**

Poiché, almeno nel cane e nel gatto, non esistono test sierologici in grado di rilevare in maniera selettiva i soli anticorpi da vaccinazione, la positività al test si osserva anche se l'animale ha avuto un'infezione pregressa sostenuta dallo stesso patogeno per il quale si stanno cercando gli anticorpi vaccinali. Gli anticorpi prodotti da infezione attiva sono certamente protettivi e, in molti casi, questa protezione può durare per tutta la vita.

**7) Quali sono le informazioni che possiamo ottenere dal risultato di questi kit e come possiamo utilizzarle dal punto di vista pratico?**

I kit per la determinazione degli anticorpi vaccinali forniscono una stima abbastanza attendibile del livello di protezione di cani e gatti nei confronti dei principali patogeni per cui è possibile vaccinare (ad eccezione della leucemia felina per la quale tali test non sono disponibili). Dal punto di vista pratico questi test possono essere utilizzati per stabilire la necessità o meno di sottoporre cani e gatti ai richiami periodici delle vaccinazioni, soprattutto nel caso in cui un animale abbia già sviluppato una grave reazione post-vaccinale. Nel gatto esiste poi la problematica del cosiddetto fibrosarcoma da vaccinazione, la cui reale portata è stata però notevolmente ridimensionata negli ultimi anni, in quanto gli studi epidemiologici su larga scala hanno dimostrato che tutti gli stimoli infiammatori ripetuti, inclusa la inoculazione di altri farmaci, predispongono all'insorgenza di questa patologia letale.

**8) Come devo adeguare la profilassi vaccinale sulla base dei risultati?**

In caso di positività al test anticorpale e soprattutto in presenza di titoli anticorpali elevati, è possibile evitare l'intervento vaccinale relativo agli agenti per cui è stata dimostrata la presenza di

immunità. Il cane o il gatto devono però essere regolarmente vaccinati per i patogeni per i quali la determinazione anticorpale non è stata effettuata per mancanza di test disponibili oppure ha dimostrato l'assenza di immunità specifica.

**9) Questi test sono effettuabili sia nei cuccioli sia negli adulti?**

I test commerciali sono stati standardizzati e sono registrati solo per la determinazione degli anticorpi vaccinali, per cui andrebbero utilizzati esclusivamente negli adulti o nei cuccioli e gattini al di sopra delle 16 settimane. Negli animali di età inferiore la presenza di anticorpi colostrali interferisce con la determinazione degli anticorpi vaccinali, per cui la positività al test potrebbe essere riconducibile all'immunità passiva di origine materna anziché ad una sierconversione post-vaccinale. Tuttavia, un obiettivo futuro potrebbe essere proprio l'impiego dei test commerciali per la titolazione degli anticorpi colostrali nella prospettiva della vaccinazione. Gli anticorpi colostrali, infatti, interferiscono con le vaccinazioni andando a bloccare gli antigeni ed impedendo ad essi di stimolare il sistema immunitario. Se adeguatamente standardizzati per la determinazione dell'immunità colostrale, questi test sarebbero di aiuto nell'individuare il momento più opportuno per effettuare gli interventi vaccinali, quando cioè gli anticorpi materni sono scomparsi o sono presenti ad un titolo talmente basso da non interferire con le vaccinazioni.