



CReMaViLa

- News -

N° 1 - 09/03/2012



Centro di Referenza Nazionale per le Malattie Virali dei Lagomorfi
ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI" - Via Bianchi, 9 25124 BRESCIA (Italy)

Sommario

1. Focolaio di MEV da ceppo RHDVFra2010 in provincia di Trento

Viene riportato e descritto un focolaio di MEV da ceppo RHDVFra2010 verificatosi a Trento in un piccolo allevamento a carattere familiare, caratterizzato dalla contemporanea presenza di malattia in animali selvatici

2. Positività per MEV da ceppo RHDVFra2010 in Sardegna

Sono riportati i dati di tipizzazione di una serie di campioni di conigli e lepri pervenuti ed analizzati dall'IZS di Sassari nel corso del 2011. Viene confermata la positività sia per RHDV "classico" che per RHDVFra2010, con caratteristiche antigeniche e genomiche simili al ceppo identificato nei due casi precedenti a Udine e Trento

3. Aggiornamenti metodi diagnostici

Sono fornite indicazioni su dove reperire il dettaglio dei metodi diagnostici per la diagnosi di MEV/RHD, ivi incluso il nuovo ceppo variante RHDVFra2010.

1. FOCOLAIO DI MEV DA CEPPO RHDVFra2010 IN PROVINCIA DI TRENTO

Nello scorso mese di Gennaio si è registrato, a Trento, in un piccolo allevamento rurale di conigli, un episodio di MEV riconducibile al "nuovo" ceppo variante RHDVFra2010. Alla diagnosi eseguita in prima istanza presso la Sezione di Treviso dell'IZS delle Venezie su due conigli deceduti, è seguita presso il nostro CdR la caratterizzazione antigenica (mediante pannello di Anticorpi Monoclonali, tra cui anche alcuni recentemente prodotti verso la variante RHDVFra2010) e genomica (PCR e sequenziamento), che ha permesso la definitiva tipizzazione del ceppo come RHDVFra2010_UD, altamente correlato al ceppo responsabile dei primi due focolai "italiani" nel giugno/luglio scorso, verificatisi in provincia di Udine.

All'atto dell'invio dei campioni veniva segnalato che si trattava di campioni provenienti da un allevamento rurale situato in zona priva di allevamenti industriali. Nel corso del focolaio, durato circa 7-10gg erano venuti a morte 22 conigli dei circa 30 presenti inizialmente (mortalità del 70% circa). All'atto della visita dell'ASL all'inizio di febbraio l'allevamento era vuoto in quanto tutti i capi rimanenti erano stati già macellati.

Come rilevato dall'indagine epidemiologica prodotta a seguito del focolaio dall'ASL competente per territorio, una consistente popolazione di conigli selvatici era presente nelle immediate vicinanze dei due recinti esterni nei quali erano ricoverati i conigli deceduti per RHDVFra2010. E' inoltre stata riferita dalle guardie del corpo forestale la mortalità di numerosi soggetti selvatici in concomitanza temporale con il focolaio nell'allevamento a carattere familiare. Sono stati pertanto conferiti alla Sezione di Trento dell'IZS delle Venezie e quindi da noi esaminati due animali selvatici provenienti dal biotopo Foce Avisio in località Lavis, situato nelle immediate vicinanze dell'allevamento. Anche in questo caso le indagini di caratterizzazione antigenica e le analisi genetiche hanno confermato la positività di entrambi i conigli selvatici per uno stipite virale riferibile alla variante RHDVFra2010..

Data l'ovvia importanza dei dati epidemiologici, soprattutto in considerazione del naturale coinvolgimento di animali selvatici a vita libera, possibile preludio di un'ulteriore più ampia diffusione dell'infezione, il Ministero della Salute ha provveduto a segnalare il caso all'OIE. Tale comunicazione è peraltro da intendersi anche come atto dovuto da parte di IZSLER, considerando l'obbligo di comunicazione di nuovi focolai cui è tenuto nel suo ruolo di Laboratorio di Riferimento OIE per la Rabbit Haemorrhagic Disease.

Link al sito OIE per la notifica: https://web.oie.int/wahis/reports/en_imm_0000011608_20120209_185552.pdf

2. POSITIVITA' PER MEV DA CEPPO RHDVFra2010 IN SARDEGNA

Lo scorso anno, a seguito della prima comparsa nel nostro paese della variante RHDVFra2010, il Ministero della Salute ha emanato una Nota Ministeriale (prot. 21949 del 6/8/2011) tra le cui indicazioni vi era anche quella primaria di sensibilizzare tutti i potenziali soggetti interessati a segnalare tempestivamente eventuali casi sospetti di MEV e a conferire campioni di carcasse o visceri per esami diagnostici agli IZZSS competenti per territorio e da questi al CdR per le Malattie Virali dei Lagomorfi per una diagnostica di conferma e di tipizzazione antigenica e genica.

Uno degli effetti concreti di tale raccomandazione è stato, all'inizio del 2012, l'invio da parte dell'IZS della Sardegna (Sede di Sassari – Laboratorio di Virologia) in unico conferimento, di campioni di visceri di conigli e lepri, accettati ed esaminati dall'IZS conferente in un arco temporale piuttosto ampio nel corso del 2011. Tutti i campioni inviati erano già risultati positivi al kit ELISA RHDV/EBHSV fornito dall'IZSLER, utilizzato dal laboratorio di virologia di Sassari. L'invio all'IZSLER-CdR per le malattie virali dei lagomorfi/Laboratorio OIE di referenza per l'RHD, era effettuato con la logica di una conferma diagnostica di RHD ed EBHS, e di una più precisa caratterizzazione antigenica e genomica degli stipiti virali.

La caratterizzazione antigenica degli isolati è stata eseguita con un pannello di anticorpi monoclonali (AcM) anti RHDV ceppo classico implementato da nuovi AcM recentemente prodotti verso il ceppo RHDVFra10, di recente comparsa nel nostro Paese.

Per la caratterizzazione genetica si è ricorsi all'amplificazione con PCR e successiva sequenziazione della proteina capsidica (VP 60), e al confronto con sequenze note.

Tutti i campioni prelevati **da conigli** sono stati tutti confermati come positivi per RHDV. Con l'eccezione dei due primi campioni risalenti alla primavera 2011, in cui è stato identificato un ceppo RHDV classico (variante minore del BS89), in 6 altri campioni da 4 distinti casi (1 in un piccolo allevamento rurale, gli altri 3 in conigli selvatici), conferiti dall'ottobre 2011 in poi, è stato identificato il ceppo "RHDVFra10" nella sua variante Udine (RHDVFra10_Ud).

Gli 8 campioni di fegato **da lepri**, provenienti da 7 distinti casi di cui uno, da cui provenivano due lepri, verificatosi in un allevamento estensivo a terra, sono stati tutti confermati come positivi **ma NON per l'EBHSV, bensì per il ceppo RHDVFra10 variante Udine.**

La proteina capsidica (VP60) dei virus rispettivamente presente in un campione di coniglio e uno di lepre è stata sequenziata e comparata con la sequenza dell'isolato RHDVFra10_Udine rivelando una percentuale di omologia del 98,6% e 99,1% rispettivamente. I dati della genetica confermano quindi quelli antigenici, ovvero che l'RHDVFra10 è all'origine dei casi di RHD riscontrati sia nei conigli che nelle lepri.

Il dato di positività per RHDVFra2010 nelle lepri costituisce un'eccezionalità in quanto rappresenterebbe il primo caso di identificazione di un calcivirus del coniglio (RHDVFra2010) in una specie del genere *Lepus*. Ovviamente, vista l'eccezionalità del dato è stato anche verificata in laboratorio l'effettiva appartenenza degli organi alla specie lepre. Si deve evidenziare, inoltre, che l'isolamento è avvenuto soltanto in esemplari di lepre sarda (*Lepus capensis*, subsp. *mediterraneus*).

Va precisato che l'identificazione in Sardegna di RHDVFra2010_Ud non ha alcun particolare significato epidemiologico anche alla luce del fatto che un isolato indistinguibile dalla variante Udine circola anche in Francia ed antecedentemente all'identificazione del focolaio in Friuli. Di fatto l'introduzione di RHDVFra2010 in Sardegna potrebbe essere avvenuta da qualsiasi località geografica, nazionale o non, mediante uno dei tanti meccanismi di diffusione diretta e indiretta conosciuti per i lagovirus e ipotizzati anche per questo virus. Si consideri, infatti, che nonostante l'RHDVFra2010 sia comparso e si stia diffondendo da almeno 2 anni, non esiste alcun dato sulla sua presenza e tantomeno incidenza, a livello Europeo. .

Una delle motivazioni dell'assenza di dati e segnalazioni è che il quadro complessivo oggi disponibile depone per una circolazione dell'RHDVFra2010 soprattutto fra gli allevamenti famigliari/rurali e i conigli selvatici e in misura minore fra gli allevamenti industriali. A questo proposito va ricordata anche l'esperienza dei primi focolai in provincia di Udine, allorché la percentuale di mortalità nel primo caso è stata di circa il 20% e nel secondo, correlato epidemiologicamente al primo, non è andata oltre quella riscontrata di norma in un allevamento industriale (quindi non rilevabile). Va anche ricordato che entrambi gli allevamenti non vaccinavano per RHDV da tempo, e che le analisi sierologiche eseguite hanno dimostrato l'assenza di calcivirus non patogeni correlati all'RHDV, che avrebbero potuto funzionare come vaccino naturale. Quindi, se l'infezione fosse stata da RHDV "classico", la mortalità avrebbe dovuto essere, come noto e atteso, attorno all'80-90%.

Nell'insieme si conferma quindi l'atipicità del virus RHDVFra2010 rispetto al RHDV classico, ma in ogni caso, la rapida diffusione sul territorio, almeno stando alle date di conferimento ravvicinate e alle diverse zone interessate, fa supporre sia in corso un evento epidemico causato da un virus dall'alta capacità diffusiva.

In conclusione, è indubbio che, per quanto finora emerso, la nuova variante RHDVFra2010 dimostra

di avere caratteristiche genetiche, antigeniche e di patogenesi peculiari e distinte da quelle dell'RHDV classico. Con l'aggiunta della capacità qui dimostrata di infettare e causare malattia nella lepre sarda, prende corpo l'ipotesi che l'RHDVFra2010 possa costituire una nuova entità virale a se stante, diversa sia da RHDV che da EBHSV.

Diverse tuttavia sono le questioni aperte e gli aspetti dubbiosi ancora da chiarire:

1. Le lepri presenti in Sardegna sono peculiari dell'isola e appartengono alla specie *Lepus capensis*, sottospecie *mediterraneus*. Come noto in Italia la specie di lepre prevalente è *Lepus europeus*, la "lepre bruna", diffusa soprattutto nel Nord e Centro dove viene gestita e spesso introdotta soprattutto per fini venatori. Le altre due specie di lepri presenti storicamente nel nostro Paese sono *Lepus timidus*, comunemente conosciuta come "lepre bianca" e tuttora presente in piccoli nuclei nell'arco alpino, e la *Lepus corsicanus*, comunemente conosciuta come "lepre italiana", tuttora presente solo in aree circoscritte della Campania, della Basilicata e della Calabria, dove sono in atto programmi di salvaguardia e di conservazione. Poiché tutte queste citate sono considerate specie di lepre distinte, è tutto da dimostrare che l'RHDVFra2010, identificato nella lepre sarda, possa infettare e dare patologia anche in altre specie di lepre.
2. Per quanto fin qui detto, c'è anche da capire se la sensibilità della lepre sarda (*L. capensis mediterraneus*) all'RHDVFra2010 sia un fatto peculiare e, per quanto noto fino ad oggi, atipico, oppure se è sensibile anche all'RHDV classico (cosa che appare però poco probabile vista la presenza da anni nell'isola del virus nei conigli, come del resto confermato dalla positività per RHDV "classico" in due casi identificati nella primavera 2011 nell'isola). Al di là di possibili sperimentazioni, avrà quindi notevole importanza l'indagine epidemiologica retrospettiva negli anni sulla casistica disponibile, sia per la lepre che per il coniglio (casi di RHDV diagnosticati).
3. D'altra parte, va anche detto che la sensibilità della lepre sarda (*Lepus capensis*) alla EBHS non è conosciuta e anche qui sarebbe interessante recuperare eventuali dati di casistica storici. Non solo quindi è da supporre (vedi sopra) che la lepre sarda non sia sensibile all'RHDV "classico" ma è anche tutto da dimostrare che sia suscettibile all'EBHSV "classico" stante la mancanza, fino ad oggi di evidenze chiare.

Link per scaricare la Nota del Ministero della Salute N°14289 del 6 agosto 2011:

http://www.izsler.it/izs_bs/allegati/695/prot14289_6ago2011_MinSal.pdf

3. AGGIORNAMENTI METODI DIAGNOSTICI

Per avere indicazioni per la diagnosi di RHD da ceppo RHDVFrancia2010 è possibile consultare il documento tecnico prodotto dal CdR: http://www.izsler.it/izs_bs/allegati/695/DiagnosiRHDV_17ago2011.pdf

Per ulteriori informazioni e richieste contattare:

Antonio Lavazza
Centro Nazionale di Referenza per le Malattie Virali dei
Lagomorfi –
Tel. 0302290298 - Fax 0302290623
Email: antonio.lavazza@izsler.it

Lorenzo Capucci
Laboratorio di Referenza OIE per
Rabbit Haemorrhagic Disease
Tel 0302290617 – Fax 0302290559
Email: lorenzo.capucci@izsler.it