



CReMaViLa

- News -

N° 2 - 15/06/2012



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. Aggiornamento sulla presenza in Italia del ceppo RHDVFra2010**
- 2. Positività per MEV/RHDV da inizio anno**
- 3. Positività per EBHS in Italia: segnalazione focolai**
- 4. Positività per Rotavirus in coniglietti lattanti**
- 5. Resistenza del virus RHD e modalità di inattivazione: rassegna bibliografica**
- 6. Aggiornamenti bibliografici**

1. AGGIORNAMENTO SULLA PRESENZA IN ITALIA DEL CEPP0 RHDVFRA2010

Dopo la comparsa dei focolai di RHDV da ceppo Fra2010 in conigli rurali e selvatici a Trento (gennaio 2012) e in conigli selvatici e allevati e lepri sarde in Sardegna (fine 2011), non sono più stati segnalati nuovi focolai di malattia riferibili a tale ceppo, ma solo sporadici casi di RHD, soprattutto in allevamenti familiari/rurali, causati dal ceppo classico o dalla variante "RHDVa".

Le attività di sorveglianza, attuate in seguito al focolaio di Trento dalla ASL competente per territorio con il supporto dell'IZS locale, hanno comportato il controllo di 180 conigli selvatici appartenenti alle popolazioni di Trento Nord/Foce Avisio, potenzialmente esposte all'infezione virale. Circa il 10% dei soggetti prelevati ed esaminati è risultato virologicamente positivo per il ceppo RHDVFra2010.

2. POSITIVITÀ PER MEV/RHDV DA INIZIO ANNO

Da inizio anno ad oggi (1/1/2012-31/5/2012) sono stati conferiti al CdR campioni per la diagnosi di MEV da un totale di 28 casi, di cui 2 soltanto da allevamenti cunicoli industriali. La maggior parte dei campioni analizzati erano inviati per diagnosi di prima istanza, prevalentemente dal territorio di competenza dell'IZSLER e da allevamenti rurali/familiari. Di questi 3 erano conferimenti ufficiali dell'ASL (tutti negativi per RHD, ma in un caso positività per Myxomatosi). I conferimenti extra-regioni provenivano da Piemonte (allev. industriale, negativo), Marche (inviato da IZS Ascoli Piceno, all. rurale, negativo) e Sicilia (inviato da IZS Palermo, animale da compagnia, pos. RHDV classico). Un solo conferimento per diagnosi di seconda istanza (conferma e tipizzazione antigenica) da IZS di Treviso (allevamento industriale della provincia di Vicenza, pos. RHDVa). Nel complesso su 28 casi, 14 (50%) sono risultati positivi, di cui 12 per la variante RHDVa e 2 per il ceppo "RHDV" classico".

3. POSITIVITÀ PER EBHS IN ITALIA: SEGNALAZIONE FOCOLAI

Da Gennaio ad oggi i conferimenti per diagnosi di EBHS al CdR sono stati 56, per la maggior parte lepri selvatiche (45) ed i restanti da allevamenti (11). Tuttavia, a fronte di 5 positività in lepri selvatiche trovate morte "in campo" (1 ciascuna nelle provincie di Pavia, Piacenza e Brescia e 2 in provincia di Bologna) c'è da registrare, tra la fine di gennaio e la metà di aprile, il verificarsi di 4 focolai in altrettanti allevamenti di lepri da

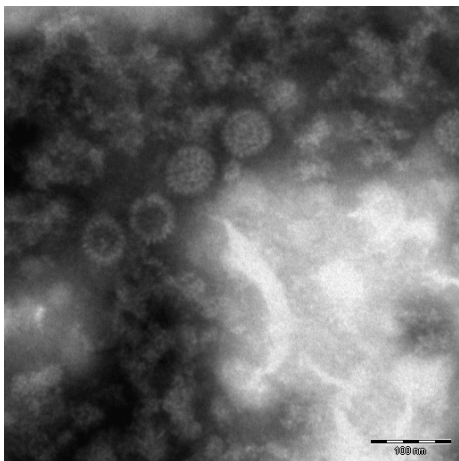
ripopolamento in varie parti d'Italia (Puglia, Basilicata, Abruzzo e Veneto).

Questi casi, con andamento classico - decorso di circa 15gg dall'esordio alla risoluzione e mortalità in soggetti riproduttori e sub-adulti variabile tra il 20-40% - sono per certi versi sorprendenti, soprattutto se riferiti al periodo di comparsa rispetto a quanto normalmente descritto e noto per l'EBHS, che si manifesta solitamente con maggior incidenza nei mesi autunnali.

4. POSITIVITA' PER ROTAVIRUS IN CONIGLIETTI LATTANTI

E' stato recentemente osservato e diagnosticato, in prima istanza presso l'IZS di Perugia, un caso di rotavirus in corso di enterite in coniglietti lattanti. Si trattava di soggetti di 16gg di età, figli di primipare, che presentavano all'esame necroscopico, enterite catarrale con liquefazione del tessuto ciecale. L'anamnesi riportava il fenomeno clinico come ricorrente in allevamento, a carico delle sole primipare. L'esame virologico, condotto in prima istanza con tecnica di ME in colorazione negativa, ha permesso di identificare la presenza, in concentrazione rilevante, di particelle riferibili a Rotavirus. I successivi esami presso il CdR hanno confermato trattarsi di rotavirus di gruppo A con profilo elettroforetico 4-2-3-2.

Di seguito riportiamo alcune informazioni relative alla rotavirus del coniglio tratte dalla pubblicazione: "Cerioli M., Lavazza A. *Ruolo dei virus nelle patologie enteriche della moderna conigliocultura*. Rivista di Zootecnia e Veterinaria, 34(1) 23-28. (2006)".



Tra i vari agenti virali identificati in conigli con enterite il rotavirus è certamente il più diffuso. L'infezione da rotavirus è caratterizzata da un'elevata morbilità e comparsa di sintomi clinici quali diarrea anoressia, depressione e vomito.

Compare con maggior frequenza in conigli all'ingrasso di 4-8 settimane di età, ma sono state osservate anche infezioni tardive in conigli di 10-12 settimane e, più di rado, infezione di soggetti ancora lattanti di 8-21 giorni di età. Nel corso delle prime 4 settimane di vita, si possono avere anche infezioni sub-cliniche con eliminazione di virus con le feci per un periodo di tempo limitato (3 giorni), laddove, invece, nei conigli con sintomi clinici l'escrezione può durare per 6-8 giorni. Tenuto conto quindi del fatto che la persistenza di anticorpi di origine materna fino ai 30-45gg può ridurre il decorso dell'infezione e la gravità dei sintomi, la diarrea, che compare all'esordio della malattia e coincide con l'escrezione virale, può assumere gravità e durata variabile ed è generalmente seguita da stipsi.

Il quadro anatomo-patologico, osservabile in corso di queste forme, non è caratteristico e dipende dalla sede d'infezione (principalmente intestino tenue ma anche cieco) ed estensione delle lesioni, a sua volta condizionata dalla carica infettante e da infezioni concomitanti che agiscono in sinergia. Si possono quindi osservare: enterite catarrale emorragica o enterotiflite necrotica e impaccamento ciecale.

La diagnosi virologica di routine è basata sull'identificazione delle particelle virali nelle feci o nel contenuto intestinale, mediante tecniche di microscopia elettronica in colorazione negativa ed ELISA.

Il rotavirus del coniglio è stato isolato da diversi Autori e viene considerato un debole patogeno che può causare alta mortalità e perdite importanti solo quando l'infezione virale è complicata e aggravata da agenti di irruzione secondaria quali E.coli enteropatogeni (EPEC).

In base alle indagini sieroepidemiologiche condotte, il rotavirus sembra essere molto diffuso e può essere considerato endemico negli allevamenti industriali di conigli. Nel corso di nostre precedenti indagini, che abbracciano un periodo di tempo compreso tra il 1982 e il 1999, ed anche dai dati più recenti in nostro possesso, la percentuale annua di riscontro di rotavirus in conigli con enterite variava dal minimo del 5,8% nel 1993 al massimo del 26,9% nel 1996, con un valore medio intorno al 16-18%, che è di gran lunga inferiore al dato medio di 35,4% fornito da Peeters come risultato di un indagine di campo.

Recenti indagini condotte in Italia, hanno permesso di rilevare che il ceppo di rotavirus di coniglio più diffuso, identificato su base molecolare, è il tipo G3P[22].

In conclusione, l'enterite da rotavirus nei coniglietti lattanti, pur non essendo un fenomeno molto frequente, va tenuta in debita considerazione nel formulare una diagnosi differenziale, ricorrendo quindi ad indagini diagnostiche specifiche.

5. RESISTENZA DEL VIRUS RHD E MODALITÀ DI INATTIVAZIONE: RASSEGNA BIBLIOGRAFICA

Si riportano di seguito alcune note estratte da lavori in letteratura relative alla capacità di resistenza ambientale del virus RHDV (ed EBHS) ed alle modalità di inattivazione.

1. RHDV è molto stabile e persiste nell'ambiente: la sua infettività non viene ridotta al trattamento con etere o cloroformio e tripsina, alla esposizione a pH 3.0 o al riscaldamento a 50°C per 1 ora. Il virus sopravvive almeno 225 giorni in una sospensione d'organo conservata a 4°C, almeno 105 gg allo stato di essiccazione su tessuto a temperatura ambiente e almeno 2gg a 60°C sia in sospensioni d'organo, sia allo stato di essiccazione [SMID B., VALICEK L., RODAK L., STEPANEK J. & JURAK E. (1991). *Rabbit haemorrhagic disease: an investigation of some properties of the virus and evaluation of an inactivated vaccine. Vet. Microbiol.*, 26, 77–85].
2. In un successivo lavoro è riportato che il virus RHDV può sopravvivere nelle carcasse di coniglio “in campo” per almeno 3 mesi, mentre il virus esposto direttamente alle condizioni ambientali atmosferiche sopravvive per un periodo inferiore ad 1 mese. In un lavoro di campo sulla sopravvivenza di RHDV, il virus essiccato esposto direttamente alla luce solare su un striscia di cotone è risultato infettante in conigli sensibili per >10 gg ma <44 gg [HENNING J., MEERS J., DAVIES P.R. & MORRIS R.S. (2005). *Survival of rabbit haemorrhagic disease virus (RHDV) in the environment. Epidemiol Infect.*, 133, 719–730].
3. RHDV conserva la sua infettività alle basse temperature e rimane abbastanza stabile durante cicli di congelamento/scongelo. RHDV viene inattivato dal trattamento con 1% idrossido di sodio e da altri agenti (es. candeggina) che determina una distruzione della componente proteica mediante innalzamento del pH >12. I trattamenti con formaldeide al 1.0–1.4% o beta-propiolattone al 0.2–0.5% a 4°C inattivano il virus ma non riducono l'immunogenicità e sono quindi indicate per la preparazione di vaccini spenti.
4. RHDV può essere inattivato dai raggi ultravioletti (UV) usando un “electronic UV crosslinker” con una dose UV di 168.48 W-s/cm² e una intensità UV di 0.0078 W/cm². [HENNING J., MEERS J., DAVIES P.R. *Exposure of rabbits to ultraviolet light-inactivated rabbit haemorrhagic disease virus (RHDV) and subsequent challenge with virulent virus. Epidemiol Infect.* 2005 Aug;133(4):731-735].

6. AGGIORNAMENTI BIBLIOGRAFICI

1. MARTELLA V., MOSCHIDOU P., PINTO P., CATELLA C., DESARIO C., LAROCCA V., CIRCELLA E., BÀNAYI K., LAVAZZA A., MAGISTRALI C., DECARO N., BUONAVOGLIA C. Astroviruses in rabbits. *Emerging Infectious Diseases*. 2011 Dec; 17(12):2287-93. doi: 10.3201/eid1712.110967.

In questo lavoro viene riportata l'identificazione di un astrovirus nel coniglio a partire da campioni di feci di soggetti sia affetti da forme enteriche che asintomatici. Il virus identificato è abbastanza distante in termini genetici (19.3%–23.7% identità aa) dagli altri astrovirus dei mammiferi inclusi nel genere Mamastrovirus. L'identificazione è avvenuta mediante rt-PCR utilizzando primers specifici che riconoscono una regione conservata all'interno della ORF1b degli astrovirus, in 10 (43%) su 23 campioni da animali con enterite e da 25 (18%) su 139 conigli asintomatici, prelevati in varie parti d'Italia tra il 2005 e il 2008. Nei primi il quantitativo di virus presente era mediamente di 100-1000 volte superiore. Questi risultati suggeriscono di includere gli astrovirus tra gli agenti da sottoporre ad indagine in corso di enteriti del coniglio, ma anche della necessità di acquisire con prove sperimentali maggiori informazioni sugli aspetti epidemiologici e sul loro potenziale ruolo patogeno.

2. ABRANTES J., VAN DER LOO W., LE PENDU J., ESTEVES P.J. Rabbit haemorrhagic disease (RHD) and rabbit haemorrhagic disease virus (RHDV): a review. *Veterinary Research* 2012 43:12. doi:10.1186/1297-9716-43-12

In questa complete review dedicata alla Malattia Emorragica Virale / Rabbit Haemorrhagic Disease, sono riportate tutte le più recenti acquisizioni scientifiche disponibili in letteratura relative alla patogenesi, epidemiologia ed evoluzione del virus. In particolare, il contenuto si articola nei seguenti paragrafi:

1. Natural history 2. Aetiological agent 3. Clinical signs and lesions 4. Epidemiology 5. Virus life cycle 6. Mechanisms of resistance to RHD 7. Genetic diversity/RHDV evolution 7.1. Pathogenic RHDV 7.2. Non-pathogenic rabbit calicivirus 8. Host-virus co-evolution 9. Prevention, control and vaccination 10. Therapeutic applications of RHDV 11. Conclusions.

3. SPIBEY N, MCCABE VJ, GREENWOOD NM, JACK SC, SUTTON D, VAN DER WAART L. Novel bivalent vectored vaccine for control of myxomatosis and rabbit haemorrhagic disease. *Vet Rec.* 2012 Mar 24;170(12):309.doi: 10.1136/vr.100366

In questo lavoro sono descritte la messa a punto e le caratteristiche di un nuovo vaccino ricombinante ottenuto da un ceppo di virus della Myxomatosi modificato per "ospitare" ed esprimere il genoma di RHDV in modo quindi da ottenere un vaccino bivalente in grado di proteggere verso entrambe le malattie: Myxomatosi e RHDV.

Sono riportati i risultati degli studi di sicurezza ed efficacia del vaccino a seguito di inoculazione sottocutanea in conigli di età superiore a 4 settimane. Inoltre vengono riportati i risultati di prove di challenge effettuate con entrambi i virus (Myxomavirus e RHDV), che hanno dimostrato una protezione del 100% degli animali.

4. KERR PJ. Myxomatosis in Australia and Europe: a model for emerging infectious diseases. *Antiviral Res.* 2012 Mar; 93(3):387-415.

*Un questa review viene analizzata la storia della Myxomatosi e la natura del virus con le sue modificazioni e adattamenti avvenuti nel corso degli anni. Come ben noto il virus della Myxomatosi è passato da due specie serbatoi nei quali non causa alcun sintomo (*Sylvilagus brasiliensis* e *Sylvilagus bachmani*) al coniglio europeo (*Oryctolagus cuniculus*) nel quale ha dato vita a un malattia mortale ed epidemica ad elevata diffusione. L'uso che è stato fatto di questo virus al fine di controllare in modo biologico le popolazioni infestanti di conigli in Australia, campagna avviata nel 1950, non solo ha dimostrato cosa succede quando un patogeno viene a contatto con una popolazione completamente indenne, ma ha anche portato nel corso degli anni a mutazioni di virulenza del virus e all'acquisizione di resistenza su base genetica da parte dei conigli, con conseguenti profonde variazioni della modalità di diffusione e circolazione del virus nei conigli selvatici e domestici. In questi termini il virus della Myxomatosi rappresenta il paradigma della virulenza di un patogeno e della coevoluzione tra ospite e parassita. Da notare che gli stessi fenomeni osservati in Australia si sono poi ripetuti in Europa (Francia e Italia) una volta rilasciato il virus nel 1952. Studi molecolari hanno indagato il ruolo dei geni di virulenza nella patogenesi della Myxomatosi e ci si augura che i dati genomici e di reverse genetics possano in futuro consentire di capire i meccanismi evolutivi del virus e le modalità di adattamento all'ospite. La review descrive proprio la storia naturale e l'evoluzione del myxomavirus unitamente agli studi di biologia molecolare e di patogenesi, utili ad aggiornare la conoscenza sull'evoluzione delle malattie emergenti. In particolare, il contenuto si articola nei seguenti paragrafi:*

1. Introduction 2. Natural history of myxoma virus 3. Myxoma virus and biological control of the European rabbit 4. Host pathogen coevolution of myxoma virus and the European 5. Enhancing biological control by myxomatosis in Australia 6. Repeating the experiment: Myxomatosis in Europe 7. Similarities and differences between Australia and Europe 8. Pathogenesis of myxomatosis 9. Genetics of resistance 10. Molecular basis of pathogenesis 11. Pathways of host-pathogen evolution 12. Conclusions and further work

Per ulteriori informazioni e richieste contattare:

Antonio Lavazza
Tel. 0302290298 - Fax 0302290623
Email: antonio.lavazza@izsler.it

Lorenzo Capucci
Tel 0302290617 – Fax 0302290559
Email: lorenzo.capucci@izsler.it