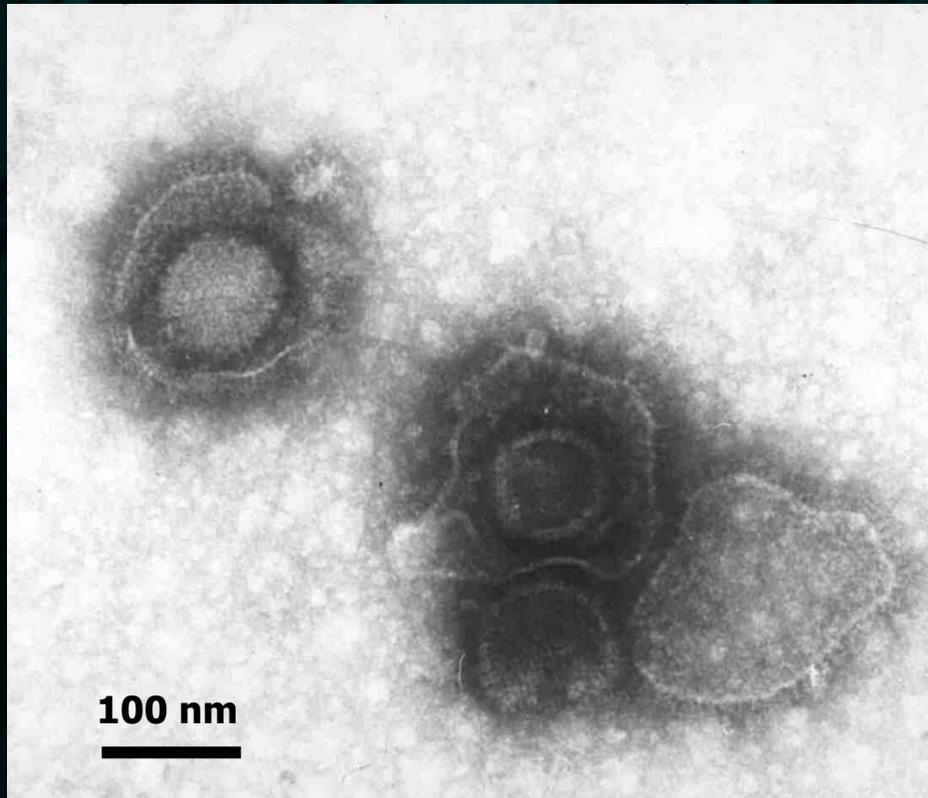


*Scuola di Specializzazione di Patologia suina
"Situazione attuale della Malattia di Aujeszky"*

Salone polifunzionale "S. Giovanni " Moretta (TO) - 23 Novembre 2007

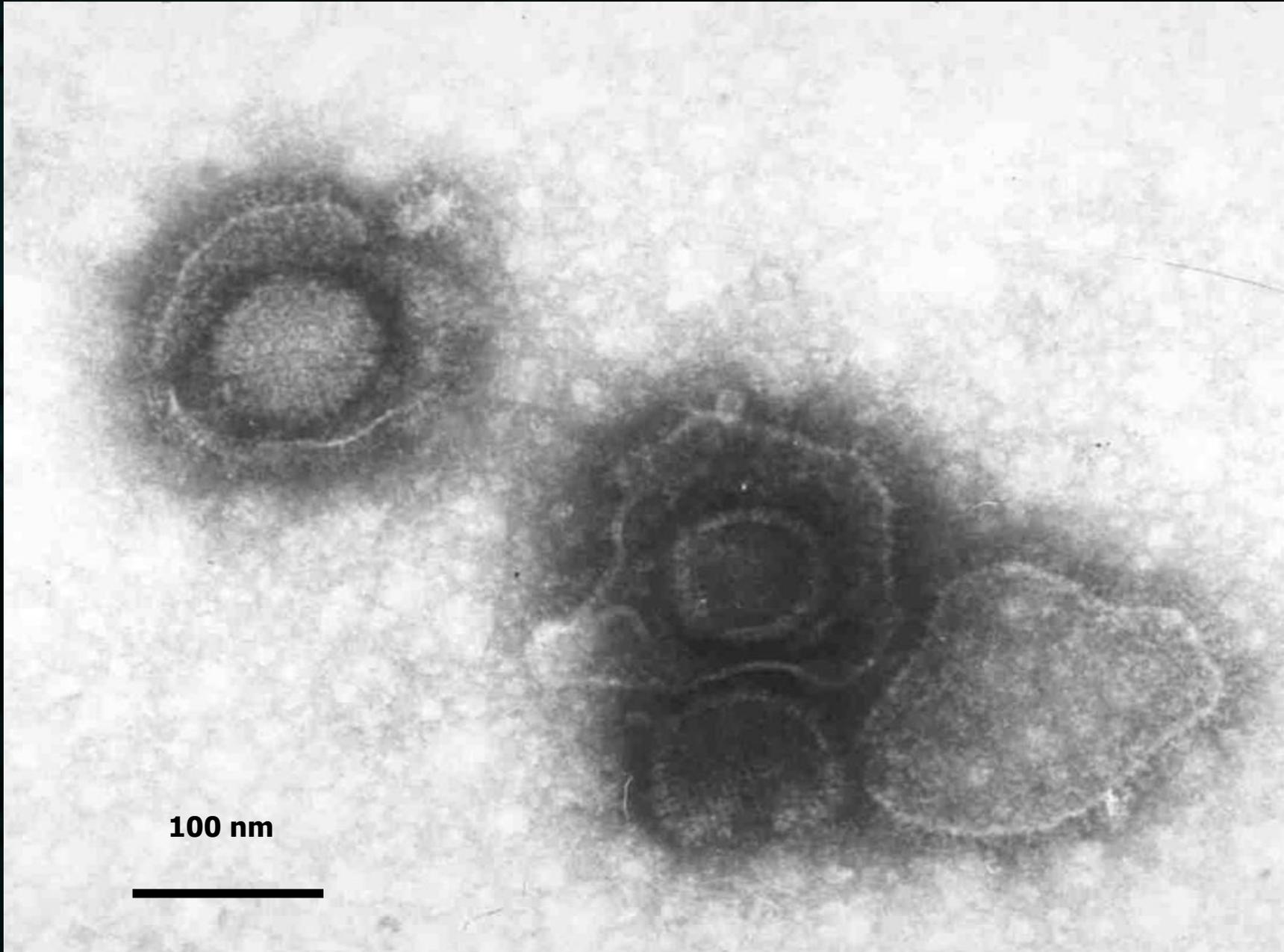


Eziologia e diagnosi della malattia di Aujeszky

Paolo CORDIOLI



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
della Lombardia e dell'Emilia Romagna



100 nm



Principali glicoproteine del virus di Aujeszky

gp	Strutt.	Ruolo nella replicazione virale e virulenza					Immunità	
		Essenz.	Adsorbim.	Penetraz.	Diffusione	Virulenza	Umorale	cellulare
B	+	+	-	+	+	?	++	+
C	+	-	+	+	-	+/-	+++	+
D	+	+	+	+	-	?	++	++
E	+	-	-	-	+	+	+	-
G	-	-	-	-	+	-	-	-
H	+	+	-	+	-	?	+	?
I	+	-	-	-	+	+	?	-
L	+	+	-	+	-	?	?	?

Malattia di Aujeszky



- ✓ Nel 1839 negli Stati Uniti d'America è stata descritta la prima volta una sintomatologia nel bovino "Mad ich" riconosciuta in seguito come la prima descrizione di una malattia riferibile a pseudorabbia
- ✓ 1902 il Prof. Aladar Aujeszky scopre la natura trasmissibile dell'agente eziologico attraverso l'infezione di conigli, capre e cani e le caratteristiche differenziali rispetto alla rabbia

Prof. Aladar Aujeszky (1869-1933)

Direttiva 97/12/CE

- ✓ Modifica e aggiorna la direttiva 64/432/CEE relativa a problemi di polizia sanitaria in materia di scambi di bovini e suini
- ✓ Allegato E (II) – elenco di malattie per cui è ipotizzabile un programma nazionale di eradicazione:
 - **Malattia di Aujeszky**
 - **Rinotracheite Infettiva del bovino**
 - Infezione da Brucella suis
 - Gastroenterite trasmissibile del suino

Decreto 1 aprile 1997: Piano Nazionale di controllo della Malattia di Aujeszky nella specie suina

Malattia di Aujeszky (SuHV-1)

- ✓ Distribuzione mondiale dell'infezione
- ✓ Fino agli anni sessanta considerata una importante malattia dell'allevamento suino prevalentemente nei Paesi dell'est Europeo
- ✓ Aumento della diffusione e della gravità della sintomatologia dovuta ad una variazione della patogenicità dei ceppi in tutto il mondo nel periodo 1960-1970
- ✓ Inizio di piani di eradicazione

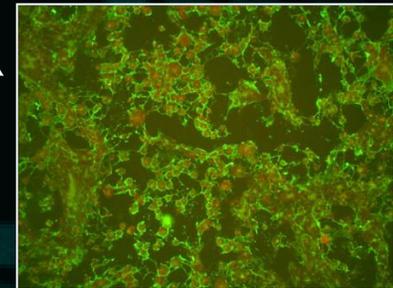
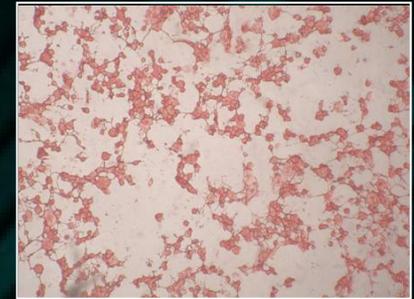
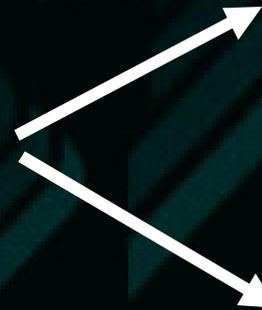
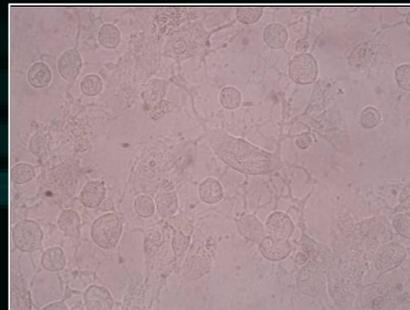
Malattia di Aujeszky (SuHV-1)

- ✓ Antigenicamente unico
- ✓ **Diverse specie animali sensibili (esito fatale)**
- ✓ Suino unica specie serbatoio (latenza)
- ✓ **Introduzione in allevamento**
 - suini portatori latenti
 - vettori
 - via aerea
- ✓ **Sintomi nel suino:** nervosi
respiratori
riproduttivi

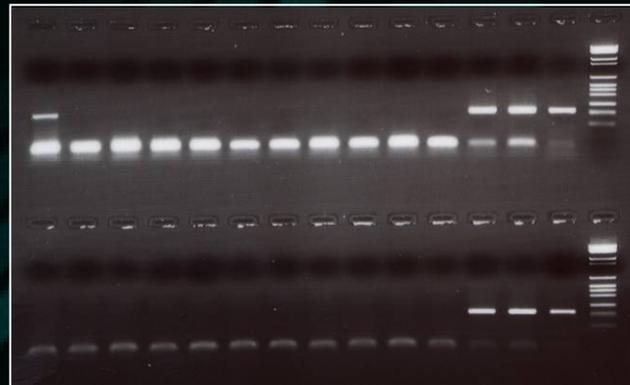
Malattia di Aujeszky / diagnosi diretta

Dimostrazione dell'antigene virale: IF, IP,

Isolamento virale

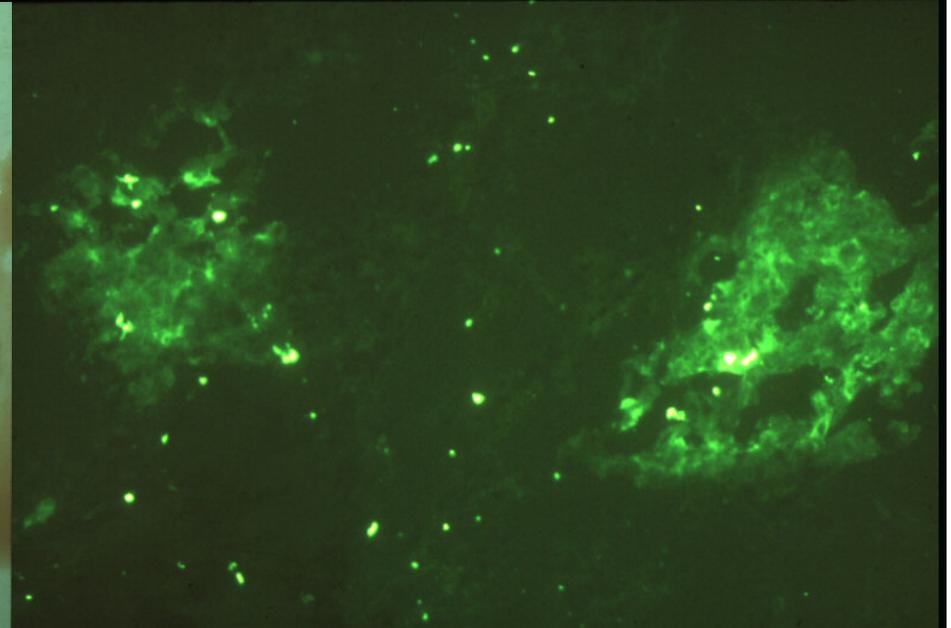
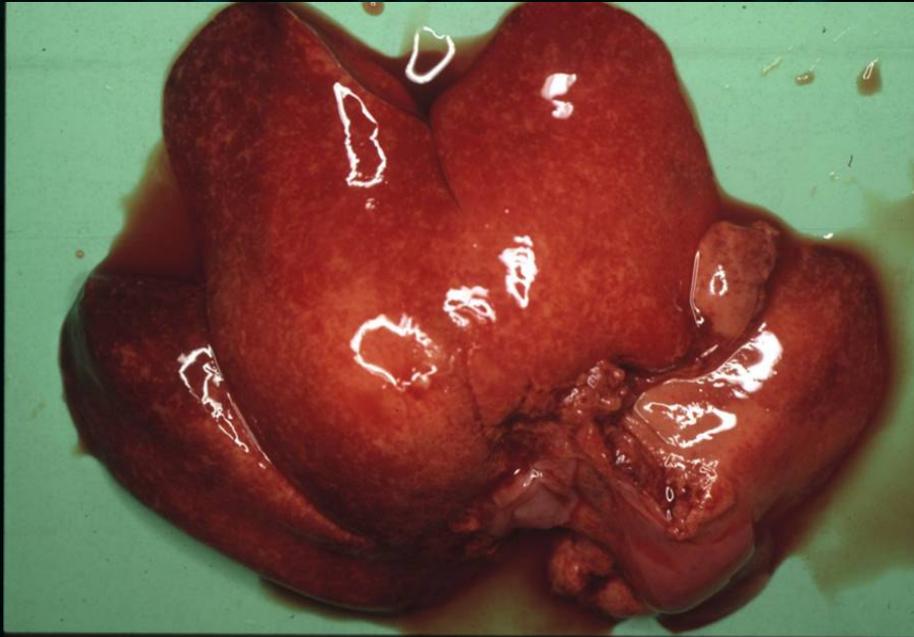


Dimostrazione
genoma virale: PCR



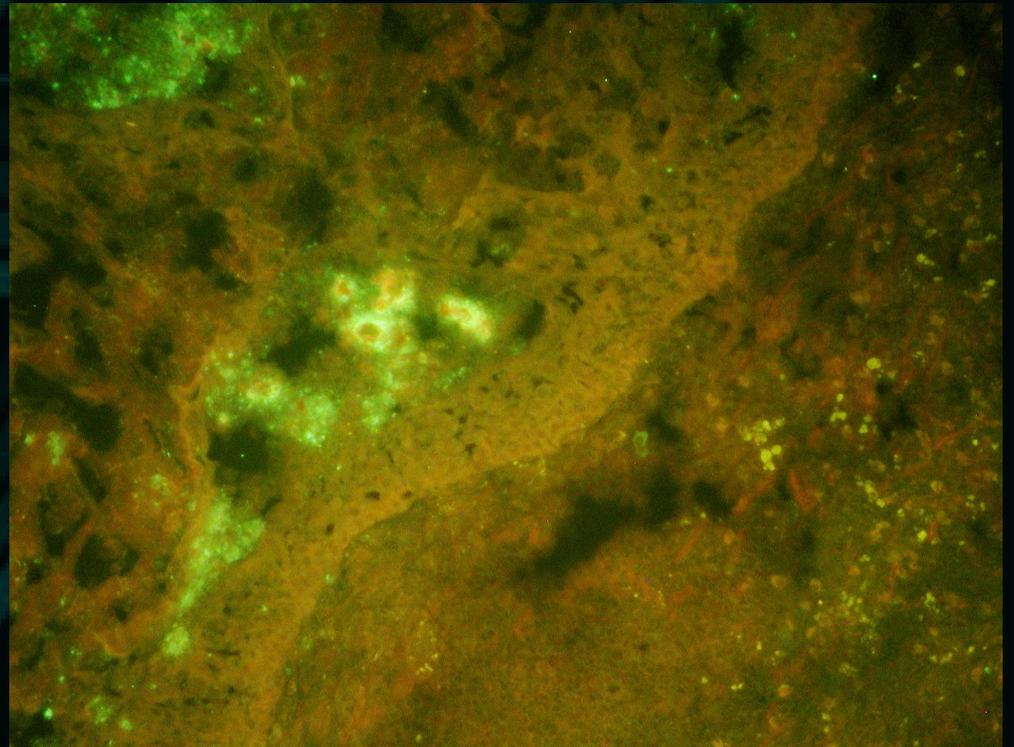
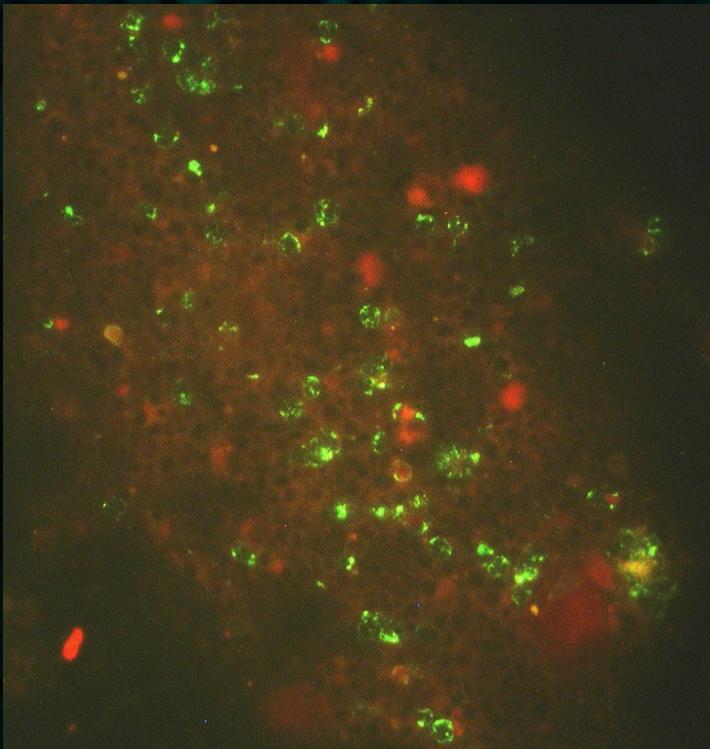
Malattia di Aujeszky dimostrazione diretta dell'antigene virale

- ✓ Immunofluorescenza diretta su organi fetali



Malattia di Aujeszky dimostrazione diretta dell'antigene virale

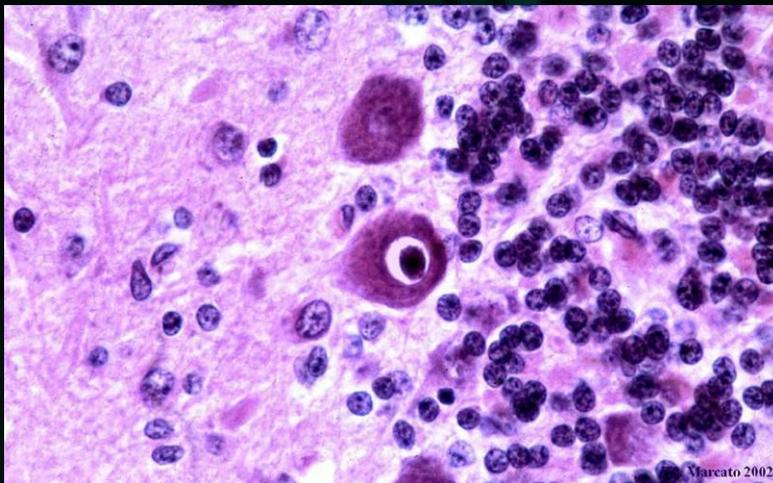
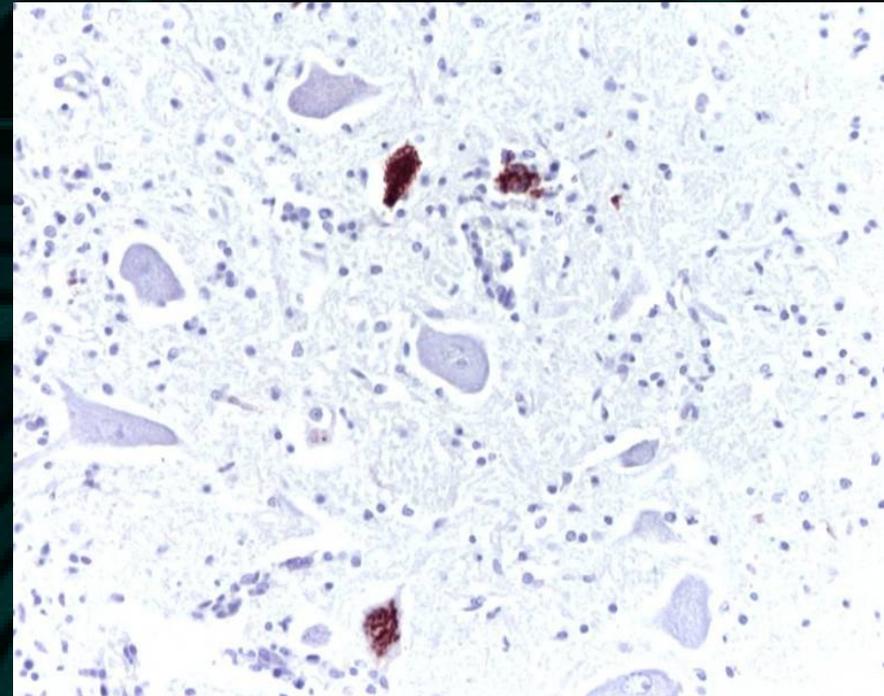
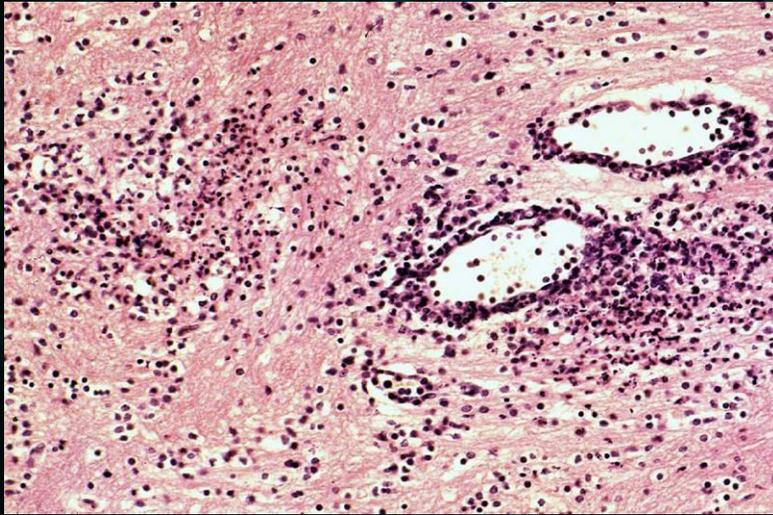
- ✓ Immunofluorescenza diretta su amigdala



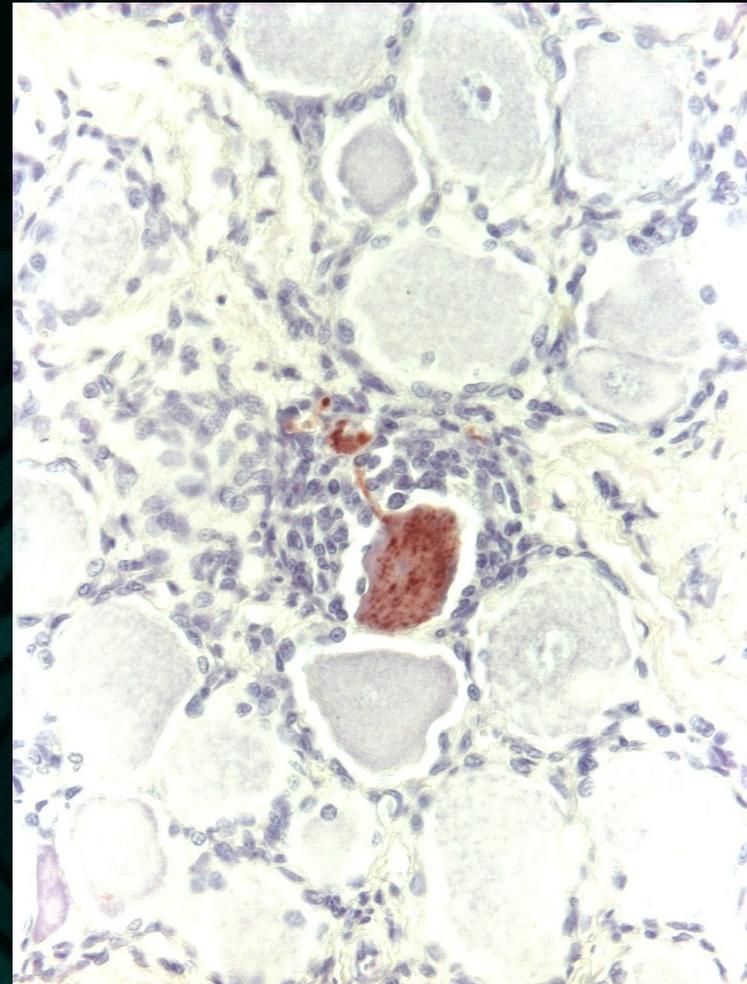
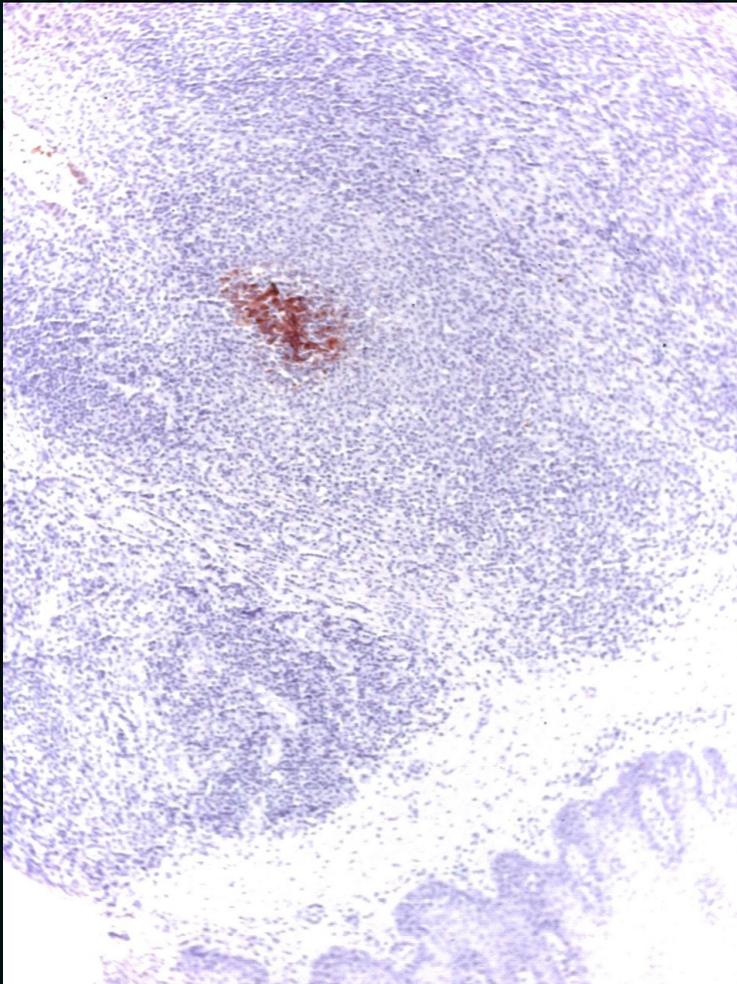
Malattia di Aujeszky

dimostrazione diretta dell'antigene virale

Istologia e Immunoistochimica

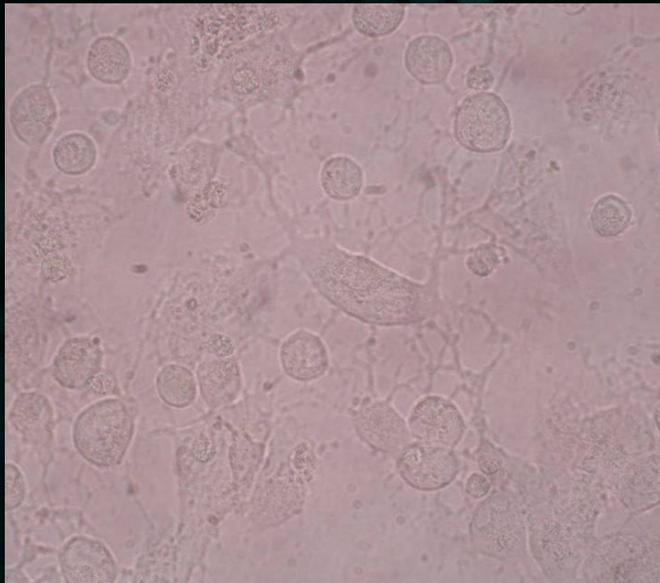


Malattia di Aujeszky
dimostrazione diretta dell'antigene virale
Immunoistochimica su amigdala e ganglio trigemino



Malattia di Aujeszky isolamento virale

- ✓ Ampio spettro di colture cellulari primarie e linee idonee all'isolamento del virus
- ✓ **Animali da laboratorio (coniglio e topino neonato)**
- ✓ Identificazione del virus tramite metodiche sierologiche



Malattia di Aujeszky isolamento virale

Indagini virologiche su colture primarie di rene suino, MARC145 e Macrofagi Alveolari di Suino

	2002	2003	2004	2005	2006
Esami	435	295	147	201	396
Pos	1	0	2	1	1

Malattia di Aujeszky evidenziazione del genoma virale

PCR : risultati indagini effettuate da vari laboratori dell'IZSLER utilizzando una metodica descritta da *Bascunana et al*: 1997 Vet.Microbiol 55, 37-47

	2002	2003	2004	2005	2006
Esami	147	703	521	444	489
Pos	4	6	8	5	10

Malattia di Aujeszky

diagnosi sierologica

- ✓ Metodiche previste Manuale OIE:
 - *Sieroneutralizzazione siero di referenza ADV1*
 - *ELISA sieri di riferimento ADV1 e 16 sieri UE per ELISA gE*
- ✓ Metodo prevalente di identificazione degli allevamenti infetti
- ✓ In routine vengono usate metodiche ELISA di tipo competitivo basate sull'uso di anticorpi monoclonali che evidenziano anticorpi anti-gB e anti gE
- ✓ Necessità di metodica di conferma dei risultati

Diagnosi sierologica Malattia di Aujeszky: confronto tra test sierologici

- ✓ 117 sieri sperimentali, prodotti attraverso 6 diverse infezioni in suini negativi o vaccinati, sono stati testati con 6 kit commerciali e non per la ricerca anticorpi anti gE
- ✓ Risultati :
 - *Tutti i presieri e i sieri da animali vaccinati sono risultati negativi con tutti i kit*
 - *Sieri precoci (5-6 g p.i.) hanno dato esito negativo con tutti i test (falsi negativi)*
 - *Sieri prelevati dai 7-15 g p.i : risultati discordanti*
 - *Sieri prelevati oltre i 15 g sono stati rilevati come positivi da tutti i kit*

Diagnosi sierologica Malattia di Aujeszky: confronto tra test sierologici

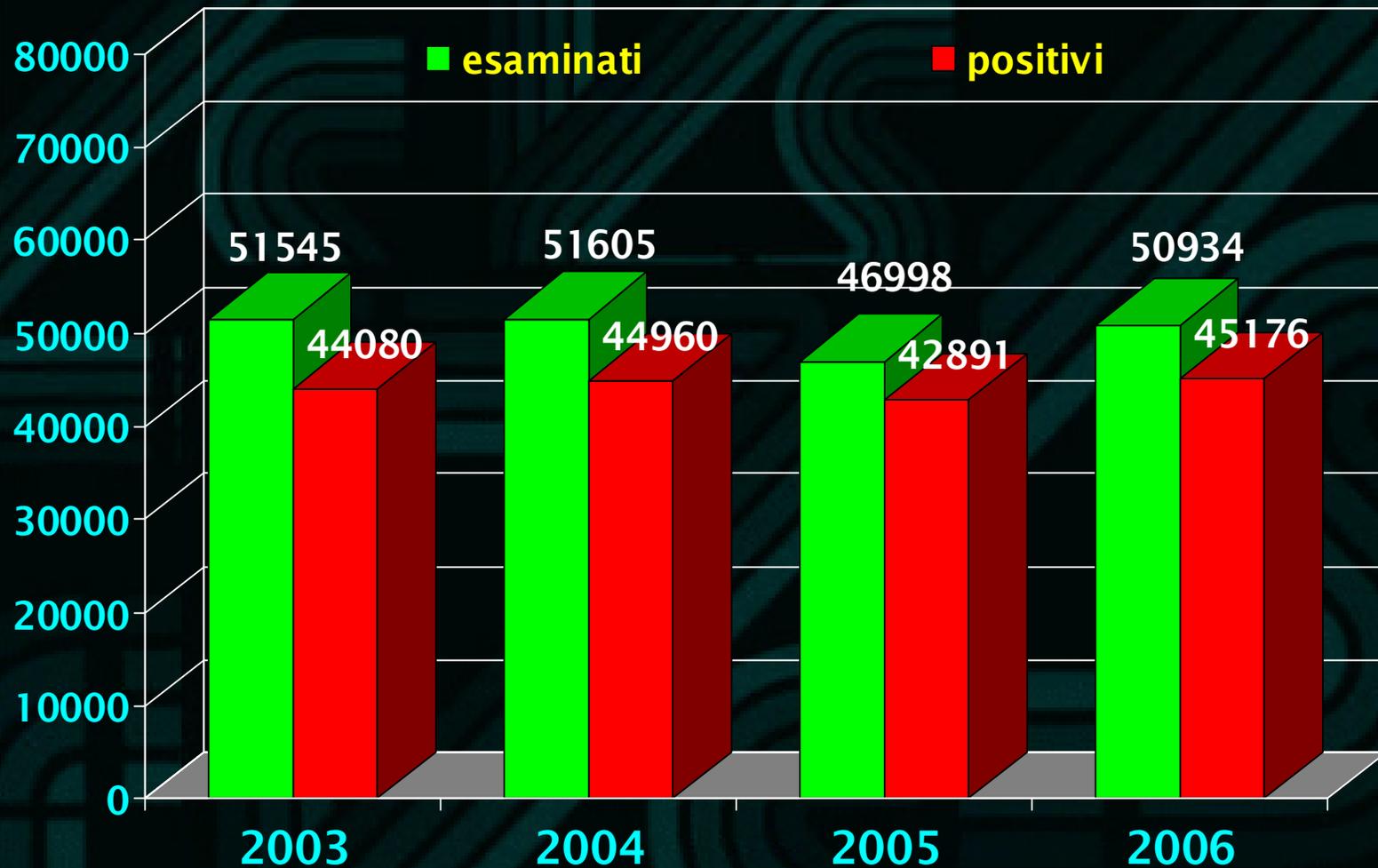
Il calcolo della Se e Sp dei kit è stato valutato considerando i 63 sieri post-infezione come **sieri positivi** e i 56 presieri o post vaccinazione come **sieri negativi** :

Test gE ELISA	Sensibilità (IC95%)	Specificità (IC95%)
1	0,90 (0,82-0,97)	1 (0.91-1)
2	0.68 (0,56-0,79)	1 (0.91-1)
3	0,82 (0,72-0,91)	1 (0.91-1)
4	0,80 (0.70-0,89)	1 (0.91-1)
5	0,85 (0,76-0,93)	1 (0.91-1)
6	0,62 (0,49-0,74)	1 (0.91-1)

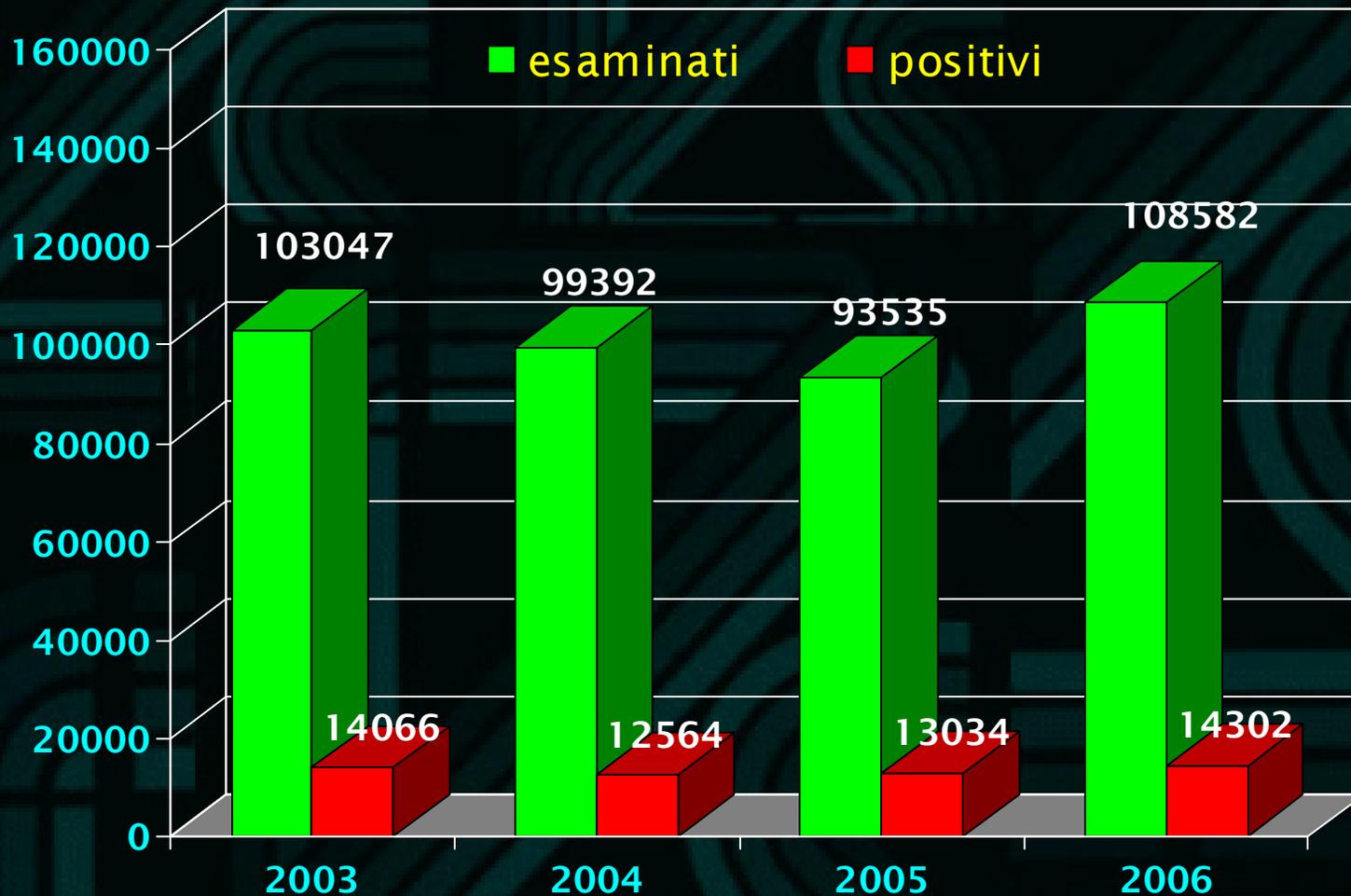
Diagnosi sierologica Malattia di Aujeszky: confronto tra test sierologici

Test elisa	MAbs anti gE IZSLER										
	3E3	4F5	3H1	1D9	2E1	2B6	2A8	2F5	3G12	5A6	3D5
Kit 1	P	P	P	P	P	P	P	N	N	N	N
Kit 2	P	P	P	N	N	N	N	N	N	N	N
Kit 3	P	P	P	P	P	P	P	N	N	N	N
Kit 4	P	P	P	P	P	P	P	N	N	N	N
Kit 5	P	P	P	P	P	P	N	N	N	N	N
Kit 6	P	P	P	P	P	P	N	N	N	N	N

IZSLER Esami sierologici per Aujeszky – gB



IZSLER Esami sierologici per Aujeszky - gE



Malattia di Aujeszky esami sierologici nei cinghiali

Indagini effettuate su campioni prelevati su animali abbattuti durante il periodo di caccia in Lombardia ed Emilia Romagna

	2002	2003	2004	2005	2006
Esami	243	15	877	182	1004
Pos	7	1	161	12	174

Malattia di Aujeszky in laboratorio: problematiche attuali

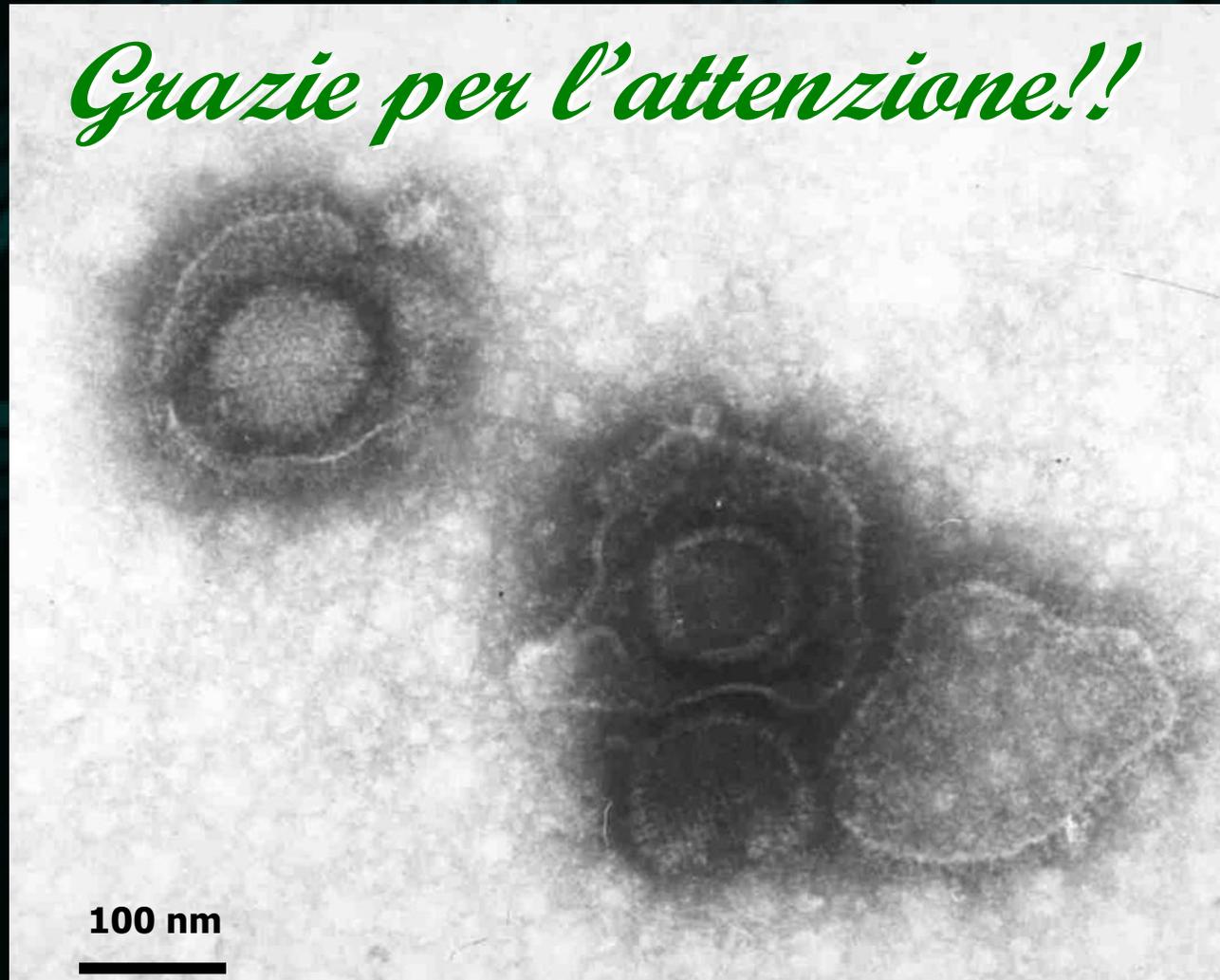
- ✓ Necessità di metodica di conferma dei risultati sierologici gE ed in un futuro, a eradicazione avvenuta, anche gB positivi
- ✓ Non esiste test di conferma al risultato positivo gE se non quello di verificare il risultato con un altro kit ma i test sierologici riconoscono lo stesso epitopo o epitopi molto vicini
- ✓ “Single reactor” (*Bascunana et. al. 1997*)

Malattia di Aujeszky : problematiche vaccinali

- ✓ L'effettuazione di una "corretta profilassi vaccinale" ha solo un riscontro cartaceo (modello 12) non ci sono metodiche di laboratorio che possano verificarne l'attuazione
- ✓ Risultati sierologici su 186 partite di suini regolarmente macellate in Lombardia provenienti da 99 allevamenti per un totale di 3720 sieri : 45 % aziende infette, 46,8% sieri positivi
- ✓ I controlli per anticorpi anti-gB nelle 54 aziende indenni hanno evidenziato una non corretta o assente vaccinazione in 7 allevamenti

*Scuola di Specializzazione di Patologia suina
"Situazione attuale della Malattia di Aujeszky"
Salone polifunzionale "S. Giovanni " Moretta (TO) - 23 Novembre 2007*

Grazie per l'attenzione!!



**Istituto Zooprofilattico Sperimentale
della Lombardia e dell'Emilia Romagna**