

SCHMALLENBERG Virus



**Indagine sulla diffusione
dell'infezione da
Virus Schmallenberg
in ruminanti selvatici**

Gli animali selvatici, in seguito all'infezione da parte di molti patogeni, possono svolgere un ruolo di "reservoir" (ovvero di serbatoio) della malattia contribuendo a mantenere e ad amplificare l'infezione in un territorio, anche se spesso non mostrano alcuna sintomatologia. L'obiettivo principale di questo lavoro è stato quello di valutare la presenza di un'infezione trasmessa da insetti vettori sostenuta da Schmallenberg virus (SBV) in popolazioni selvatiche. Attraverso ricerche sierologiche lo scopo è quello di determinare la prevalenza e la distribu-

zione di questa infezione in ruminanti selvatici (cervo, camoscio e capriolo) in Bassa Valsugana e Tesino (TN). Il virus è stato ricercato anche nelle popolazioni di insetti che fungono da vettore in seguito a cattura di questi mediante l'utilizzo di trappole.

LUCA LANER

Cos'è Schmallenberg virus?

È un virus identificato per la prima volta nel settembre 2011 nel nord Europa, in seguito alla segnalazione di alcuni casi di febbre, calo della produzione latte e diarrea in bovini adulti in alcune stalle vicino alla cittadina di Schmallenberg in Germania da cui il virus prende il nome. Il virus si è espanso rapidamente in tutto il continente europeo negli anni 2011 e 2012 raggiungendo sieropositività (positivo al test per la ricerca di anticorpi specifici contro il virus con metodiche di laboratorio) elevate in molti Stati, mentre negli anni 2013 e 2014 la circolazione virale si è notevolmente ridotta.

Che sintomi e lesioni provoca?

Lesioni riferite a SBV sono state riscontrare per ora solo nei ruminanti domestici: bovini, ovini e caprini. Negli individui adulti causa una sintomatologia aspecifica caratterizzata da diarrea, febbre, inappetenza e calo della produzione latte anche del 50%. Se questi contraggono l'infezione durante il periodo di gravidanza suscettibile il virus può, attraverso la placenta, raggiungere il feto e causare aborti, feti nati morti o con evidenti malformazioni all'apparato muscolo-scheletrico e al sistema nervoso centrale (artogrifosi-idrocefalo sindrome).

Se fino ad ora solo nei ruminanti domestici sono stati riportati segni clinici riconducibili a SBV, in molte altre specie selvatiche (cervo, camoscio, capriolo, daino, bisonte, alpaca) la ricerca di anticorpi contro SBV ha dato risultati positivi. Questi animali quindi possono infettarsi con questo patogeno contribuendo alla sua diffusione.

Come viene trasmesso?

La principale via di trasmissione del virus avviene attraverso insetti vettori del genere *Culicoides*. I *Culicoides* sono ematofagi (si nutrono del sangue di un elevato numero di specie) e in questo modo possono trasmettere molti patogeni come *Schmallenberg virus*, il virus responsabile di *Blue-tongue*, *Akabane virus*, malattia emorragica epizootica dei cervi, ecc. Questi insetti possono svolgere anche un ruolo di ponte nella trasmissione di questo virus tra i ruminanti domestici e selvatici.

Campionamento dei sieri di cervo, camoscio e capriolo

Il campionamento si è svolto durante la stagione venatoria 2015, tra agosto e dicembre in Bassa Valsugana e Tesino (TN). Il contributo dei cacciatori appartenenti alle Riserve interessate, è stato basilare per la raccolta dei campioni. Per questo motivo molta importanza è stata data alla sensibilizzazione dei cacciatori a questo progetto attraverso l'informazione diretta dei Rettori di ogni Riserva e anche attraverso l'organizzazione di due incontri in cui, dopo una presentazione delle nuove malattie emergenti che coinvolgono la fauna selvatica tenuta da Annapaola Rizzoli Dirigente del Centro Ricerca e Innovazione Fondazione Edmund Mach, è stata illustrata questa ricerca ai cacciatori presenti fornendo le informazioni sulle modalità del campionamento. Ad ogni cacciatore dei Distretti interessati sono stati forniti: il protocollo di campionamento, buste in plastica per il trasporto del campione biologico, provette, contenitori per il cuore, schede di segnalamento campione. Le specie oggetto del campionamento sono i ruminanti selvatici abbattuti in seguito a prelievo venatorio: cervo, camoscio e capriolo. Da ogni animale abbattuto è stato prelevato un campione di sangue e il cuore. È stato scelto di prelevare anche il cuore poiché, in caso di non idoneità del campione di sangue, si è potuto procedere all'estrazione del coagulo di sangue intra-cardiaco. Secondo il protocollo, il prelievo è stato eseguito dal caccia-

tore nel momento di eviscerazione dell'animale, appena possibile dopo aver raggiunto il capo sul luogo dell'abbattimento. Il sangue è stato prelevato direttamente dai grossi vasi (vene giugulari, vasi epatici o polmonari, o grossi vasi all'uscita del cuore). È stato raccomandato di effettuare questa operazione cercando di contaminare il meno possibile il campione. Al cacciatore è stato chiesto di compilare la scheda di segnalamento presente nel kit con le seguenti informazioni: riserva e luogo di abbattimento, data di abbattimento, specie, sesso, età stimata, altre note. I campioni sono stati conservati in frigorifero fino al momento del ritiro e centrifugati a 2.500 giri/min per 8 minuti per ottenere il siero, poi stoccato a -20°C, sui cui effettuare i test di laboratorio. Le analisi sono state effettuate presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie.

Cattura dei Culicoides

La cattura dei Culicoides è stata effettuata durante la stagione venatoria 2015, tra luglio e settembre. Sono state condotte 19 catture in diverse località nelle stesse Riserve dove sono stati raccolti i campioni di sangue dai ruminanti selvatici. Per le catture è stata utilizzata una "Onderstepoort Blacklight Trap" gentilmente fornita dall'IZS Venezie. La trappola nella parte superiore è fornita di una luce violetta che attira Culicoides e altri insetti. Una ventola posta al di sopra della lampada spinge gli insetti catturati in un recipiente con acqua e sapone situato nella parte inferiore. La trappola veniva posta durante tutta la notte a circa 1,5 metri di altezza, appesa ad un ramo. Tutti gli insetti sono stati contati e sono stati identificati e separati i Culicoides, testati poi in laboratorio per la ricerca del virus.

RISULTATI

In totale sono stati raccolti campioni da 370 animali (di cui 76 cervi, 194 caprioli e 100 camosci) che corrispondono circa al 46% degli animali abbattuti nell'area di studio. 29 campioni sono stati considerati non idonei. Le variabili che sono state considerate per l'analisi statistica sono: specie camoscio, capriolo, cervo; sesso maschi (M), femmine (F); età raggruppati in questo modo: < di 1 anno, 1 e 2 anni, > di 2 anni. Luogo di abbattimento area A, area B, area C.

SPECIE

	CAMOSCIO	CAPRIOLO	CERVO
n. NEG	51	87	24
n. POS	41	88	51
% POS	44,6	50,3	68

ETÀ

	< 1 anno	1 e 2 anni	> 2 anni
n. NEG	35	90	32
n. POS	17	85	74
% POS	32,7	48,6	69,8

Sul totale di 342 campioni analizzati, 180 (52,6%) sono risultati positivi alla ricerca di anticorpi contro Schmallenberg Virus. L'infezione è quindi presente nell'area di studio ed è endemica con sieropositività elevate tra le popolazioni di ruminanti selvatici. Il cervo rappresenta la specie più colpita dall'infezione (68,8% di animali positivi), seguita dal capriolo (50,3%) e dal camoscio (44,6%). La differenza dello siero prevalenze tra le specie può essere dovuta ad una diversa esposizione al vettore. L'altitudine può essere un fattore che limita l'esposizione degli ospiti alle punture dei Culicoides e questo spiegherebbe il motivo per cui il camoscio ha sieroprevalenze inferiori rispetto alle altre due specie. Il camoscio occupa infatti, durante la stagione di attività vettoriale, habitat ad altitudini mediamente più elevate; il cervo e il capriolo invece, frequentando ambienti ad altitudini inferiori, presentano sieropositività più elevate. Un altro fattore che, secondo uno studio di Larska et al., può determinare una diversa distribuzione dell'infezione tra le specie è il peso degli animali. Animali di dimensioni maggiori, oltre a presentare una superficie di esposizione ai Culicoides più estesa, producono maggiori quantità di CO₂, che è uno dei più potenti fattori di attrazione di questi insetti, e di conseguenza sono più esposti al vettore. Questo può essere un altro motivo per cui nei cervi la percentuale di animali positivi è maggiore rispetto ai camosci e caprioli. L'altra variabile che influisce in modo significativo sulla distribuzione dell'infe-

zione è l'età degli animali. Il comportamento della sieropositività è crescente al crescere dell'età degli animali. Questo è dovuto principalmente ad un'esposizione per un tempo maggiore (più stagioni vettoriali) all'infezione degli animali anziani rispetto agli animali giovani e di conseguenza per i primi la probabilità di aver incontrato l'infezione è maggiore. Come ci si aspettava, le differenze tra maschi e femmine, come le differenze tra le aree, non risultano statisticamente significative.

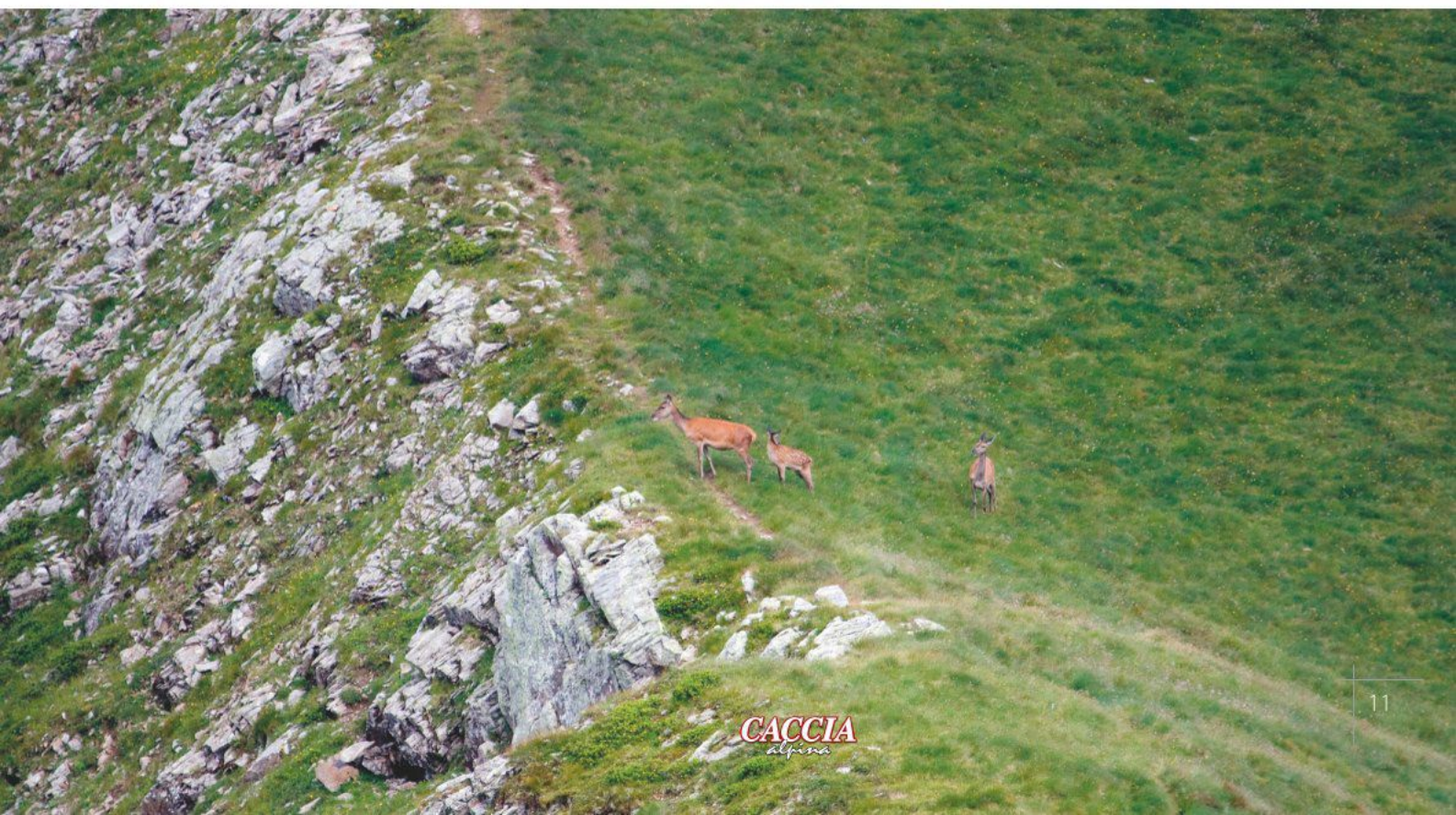
Sono stati poi considerati solamente gli animali inferiori all'anno di età. Secondo la letteratura l'immunità materna, assunta col colostro, contro SBV dura mediamente nei vitelli 5-6 mesi. Supponendo per analogia che anche nei ruminanti selvatici l'immunità materna abbia durata simile, sono state confrontate le sieropositività tra gli animali inferiori all'anno di età abbattuti nei mesi di agosto – settembre rispetto a quelli abbattuti nei mesi di novembre-dicembre. Tenendo presente che le nascite di cervo, camoscio e capriolo si concentrano tra metà maggio e metà giugno, la stagione venatoria coincide con l'età degli animali considerati durante la quale stanno perdendo l'immunità materna. Osservando i ri-

	AGOSTO SETTEMBRE	NOVEMBRE DICEMBRE
n. NEG	9	10
n. POS	8	4
% POS	47%	28,60

sultati riassunti in *Tabella* si nota una sieroprevalenza più bassa, anche se non significativamente, negli animali abbattuti a novembre e dicembre, periodo nel quale i soggetti considerati hanno mediamente 6-7 mesi. Si può quindi ipotizzare che le positività degli animali inferiori all'anno di età siano dovute in parte anche alla presenza di anticorpi contro SBV di origine materna.

La ricerca del virus negli insetti (in totale sono stati raccolti circa 40.000 insetti di cui circa 2.500 erano *Culicoides*) ha dato invece solamente risultati negativi. Si è concluso quindi che la circolazione virale nell'anno di raccolta dei campioni è presente ma a livelli molto bassi.

Dal punto di vista della sanità animale una buona copertura anticorpale di popolazione può quindi limitare la circolazione del virus e ridurre



i danni della malattia alle popolazioni di ruminanti domestici. Fino ad ora in letteratura quindi non c'è evidenza di lesioni riferibili ad infezione da SBV in popolazioni di ruminanti selvatici. È infatti molto improbabile che l'infezione da SBV possa indurre malformazioni e aborti in queste specie nelle regioni alpine perché il periodo vulnerabile per il feto in queste specie coincide con il periodo in cui i *Culicoides* non sono normalmente attivi (l'attività vettoriale si concentra tra maggio e ottobre). Per il cervo infatti il periodo vulnerabile inizia dalla sesta settimana di gestazione che coincide con fine novembre-inizio dicembre, mentre nel capriolo, nonostante gli accoppiamenti avvengano tra luglio e agosto, si assiste ad un periodo di embriostasi fino a metà dicembre circa, e per quanto riguarda il camoscio gli accoppiamenti avvengono più tardi, tra novembre e inizio dicembre.

CONCLUSIONI

I campioni raccolti sono stati testati per la ricerca di anticorpi anche contro altre infezioni come Febbre Q, Leptospirosi e Rogna Sarcoptica nel camoscio. Tenendo presente anche questi risultati diventa importante considerare come le popolazioni di selvatici possano svolgere un ruolo di *reservoir* di alcuni patogeni, mantenendo e/o diffondendo l'infezione in un territorio. La sorveglianza anche sulle specie selvatiche può essere un elemento utile per ottenere delle informazioni più complete sulla diffusione di un'infezione in cui i selvatici sono coinvolti come specie suscettibili. In quest'ottica la collaborazione con il mondo venatorio si configura come un elemento fondamentale per ottenere un campionamento di dimensioni sufficienti per trarre conclusioni che descrivono in modo attendibile la diffusione di un'infezione che coinvolge la fauna selvatica. ■