

Un Prione Sintetico conferma l'ipotesi della "sola proteina"

Presso i laboratori del Dipartimento di Neurologia dell'Università della California, San Francisco, è stato creato un prione sintetico ricorrendo alla tecnica del DNA ricombinante. All'uopo si è ricorsi all'*Escherichia coli*, in quanto i batteri non sono portatori di prioni. Il frammento prionico prodotto corrispondeva in lunghezza ai frammenti di prione estratti e purificati da cervello infetto da malattia prionica, che sono in grado di assemblare le fibrille amiloidi. Il frammento prionico prodotto venne purificato e la sua struttura venne alterata in modo tale da conferirgli le proprietà infettanti del prione. Questa operazione venne realizzata controllando la capacità di vari frammenti a promuovere formazioni amiloidi, ricorrendo alla tioflavina T, un colorante che dà fluorescenza in presenza di sostanza amiloide.

Le fibrille amiloidi così ottenute vennero inoculate per via intracerebrale in topi transgenici, che svilupparono disfunzioni neurologiche tra 380 e 660 giorni dopo inoculazione. Con l'estratto di cervello preparato da uno di questi topi infetti, furono inoculati altri topi, sia normali che transgenici, che a loro volta svilupparono malattia neurologica in 150 e 90 giorni, rispettivamente.

La presenza di quattro elementi permise di confermare che, in ogni caso, si trattava di una malattia prionica:

a) sintomi clinici di disfunzione neurologica (atassia, perdita di coordinamento motorio, rigidità), b) alterazioni patologiche del cervello (vacuolizzazione, depositi di PrP^{Sc}, gliolisi degli astrociti), c) resistenza di PrP^{Sc} alla proteasi, d) trasmissione seriale dell'infettività prionica sia a topi transgenici che normali.

Questi risultati sembrano confermare in modo inequivocabile che i prioni sono proteine infettanti.

[L'ipotesi che una proteina "da sola" fosse in grado di causare certe malattie neurodegenerative fu avanzata da Prusiner nel 1982. Sin dall'inizio, essa fu accolta con scetticismo, in quanto appare difficilmente accettabile la possibilità che una proteina risulti di per sé infettante, senza l'intervento di un acido nucleico.

Tuttavia, negli anni, la teoria di Prusiner andò guadagnando consensi, al punto da convincere gli assegnatari del premio Nobel a conferire allo scienziato, nel 1994, il prestigioso riconoscimento. Fino ad oggi, tuttavia, mancava una prova conclusiva a favore della "sola proteina". I risultati degli esperimenti sopra descritti, in quanto ottenuti con un prione sintetico, sembrano porre l'ipotesi di Prusiner al di fuori di ogni ragionevole dubbio. *gfp*].

Legname G., Baskakov I.V., Nguyen H.S., Riesnar D., Cohen F.E., DeArmond S.J., Prusiner S.B. (2004)
Synthetic mammalian prions. *Science* 305, 673-676

I gatti possono contrarre e diffondere l'influenza dei polli

Nel corso della grave epidemia di influenza aviaria (H5N1), verificatesi negli anni 2003-2004 in Asia, oltre a casi accertati di trasmissione fatale all'uomo, sono stati segnalati probabili casi di infezione anche nei gatti domestici e in felidi degli zoo, alimentati con carcasce di polli infetti. Questi casi sono stati ritenuti straordinari, in quanto i gatti sono generalmente considerati resistenti al virus influenzale A.

Al fine di determinare sperimentalmente la patogenicità di tale virus per i gatti domestici, gruppi di tali animali, tra i 4 e i 6 mesi di età, allevati in isolamento, sono stati infettati per diverse vie e quindi esaminati con tecniche virologiche e patologiche.

Tre gatti infettati per via intratracheale con un ceppo di virus A (H5N1) isolato da un caso umano fatale

verificatosi in Vietnam, contrassero malattia clinica (rialzo termico, abbattimento e difficoltà respiratoria), con escrezione di virus dal terzo giorno dopo infezione (gdi). Un animale venne a morte al sesto gdi. La necropsia rilevò in tutti i gatti, al settimo gdi, diffuso danno alveolare. Al contrario, tre gatti ugualmente infettati con il virus influenzale A (H3N2), isolato dall'uomo in Olanda, non mostrarono alcun sintomo di infezione.

Ulteriori esperimenti dimostrarono che il virus A (H5N1) si trasmetteva orizzontalmente da gatti infetti a gatti sentinella conviventi, e la trasmissione si realizzò anche con la somministrazione a gatti, per via orale, di pulcini infettati sperimentalmente con lo stesso virus.



Le osservazioni di cui sopra oltre a confermare:

- a) la sensibilità dei gatti al virus influenzale A (H5N1),
- b) la possibilità di trasmissione ai gatti con la somministrazione di polli infetti e
- c) la trasmissione per contatto da gatto a gatto,

indicano nel gatto domestico un possibile trasmettitore della malattia tra allevamenti di polli. Nello stesso tempo, il gatto può fornire al virus dei polli un'opportunità di adattarsi ai mammiferi, con tutti i rischi che ne conseguono per la salute dell'uomo.

Kuiken T., Rimmelzwaan G., van Riel D., van Amerongen G., Baars M., Fouchier R., Osterhaus A. (2004) Avian H5N1 influenza in cats. Scienceexpress/2 Sept. 2004 <<http://www.sciencemag.org/cgi/rapidpdf/1102287v1.pdf>>

Chirurgo veterinario sospeso per non aver informato il cliente

Un chirurgo veterinario dello Yorkshire aveva tralasciato di registrare nella cartella clinica di un suo paziente, e neppure aveva informato la proprietaria, il rinvenimento di un tampone chirurgico durante una laparotomia esplorativa in una cagna che egli aveva sterilizzato sei mesi prima. Il Comitato Disciplinare del Registro dei Veterinari (RCVS), venutone a conoscenza, ha ritenuto la sua condotta professionale scorretta e ha disposto la sua sospensione dal Registro dei Veterinari per otto settimane.

L'animale era stato sterilizzato nel settembre del 2002 e nel marzo 2003 fu richiesto l'intervento di un veterinario per la presenza di vomito e diarrea. Una radiografia evidenziò una bolla di gas nell'intestino e una laparotomia esplorativa mise in evidenza un'ostruzione intestinale. A questo punto fu richiesta l'opera dello stesso chirurgo che aveva condotto l'intervento di sterilizzazione. Egli riscontrò nell'addome dell'animale una grossa massa fibrosa, che venne rimossa assieme ad una porzione necrotica di intestino e quindi un'anastomosi ripristinò il residuo organo. All'interno della massa fibrosa era presente un

tampone chirurgico, sicuramente dimenticato durante l'intervento di sterilizzazione, unico atto chirurgico condotto in precedenza su quell'animale.

Il chirurgo non fece alcun cenno del reperto alla proprietaria, dichiarando nel contempo di non conoscere la causa della patologia riscontrata e di non ritenere necessari altri accertamenti, ad esempio relativi all'esclusione di un cancro all'intestino. Non soddisfatta di quanto riferitole, essa si rivolse ad un'altra clinica veterinaria, dove il cane venne ricoverato. Il veterinario responsabile, nel corso degli accertamenti, venne a conoscenza della realtà dei fatti e non poté esimersi d'informare la proprietaria; in seguito, la cosa venne portata a conoscenza del RCVS. Interrogato, il chirurgo responsabile ammise la sua colpa, quella cioè di non avere informato la proprietaria del cane della realtà dei fatti, realtà che non appariva nemmeno nella cartella clinica relativa agli interventi praticati sull'animale. Da qui la sentenza di sospensione decretata dal Comitato Disciplinare del RCVS.

Anonimo (2004) Veterinary surgeon to be suspended for failing to keep clients informed. Vet. Rec. 154 (12), 347-348

Potenzialità zoonosica dei rotavirus

I rotavirus hanno un ampio spettro d'ospite, infettando molte specie animali, nonché l'uomo. Poiché certi ceppi di rotavirus animali hanno similarità antigeniche con alcuni ceppi umani, ci si è posti il quesito se gli animali giochino un ruolo come fonte di infezioni da rotavirus nell'uomo.

Indagini approfondite di biologia molecolare hanno messo in evidenza che i geni corrispondenti ai rotavirus

isolati dall'uomo e dagli animali non hanno un alto grado di omologia, al contrario dei geni dei rotavirus di una stessa specie. Queste osservazioni portano a concludere che i rotavirus hanno, in natura, un ambito d'ospite piuttosto ristretto (specie-specifici) dovuto a condizioni ambientali sfavorevoli che essi ritroverebbero in un tessuto che non sia l'ospite usuale e che si riflettono sull'efficienza di replicazione. In condizioni naturali,

quindi, i rotavirus animali non sembrerebbero in grado di infettare l'uomo e viceversa. Resta tuttavia il fatto che tipi insoliti di rotavirus, in possesso di proprietà comunemente riscontrate nei rotavirus animali, sono stati isolati da vari casi di infezione umana. Questi ceppi insoliti potrebbero derivare dalla trasmissione diretta animale-uomo, ma anche da un riassortimento di geni di ceppi umani e animali che hanno coinfectato una singola cellula. Questo fenomeno, capace di generare nuovi ceppi di virus, risulterebbe abbastanza facile data la natura segmentata del genoma dei rotavirus, similmente a quanto avviene con i virus influenzali. Secondo alcuni autori, una popolazione mista di rotavirus si propagherebbe di continuo nell'uomo e negli animali, con il risultato di nuove e diverse progenie di rotavirus. Al di là di queste considerazioni, non pochi esempi stanno a dimostrare inequivocabilmente che esiste, almeno sperimentalmente, la possibilità del passaggio dei rotavirus da una specie all'altra, con conseguenti infezioni della specie eterologa.

L'incidenza di ceppi di rotavirus insoliti nell'uomo risulta, tuttavia, assai bassa e ciò sembra suggerire che lo stabilirsi nell'uomo di un ceppo di rotavirus animale o il riassortimento di virus uomo/animale nella popolazione umana sono fenomeni piuttosto rari. Tuttavia, è certo che milioni di persone sono esposte ogni anno ai rotavirus animali. Ciò avviene soprattutto negli allevamenti, dove il personale addetto può assumere i rotavirus dagli animali per contatto diretto con l'animale, ma anche indirettamente, per esempio per aerosol di feci essiccate. Le feci, la polvere e gli effluenti sono potenziali veicoli di trasmissione dei rotavirus tra animali e addetti all'allevamento. In una porcilaia, si realizza un ciclo continuo di infezione da rotavirus da suinetto a suinetto, da figliata a figliata e questi rotavirus dei suini possono

sopravvivere nelle feci per almeno 4 mesi, con una riduzione di titolo infettante di solo 100 volte.

Infezioni possono essere contratte non solo dagli addetti, ma anche dai visitatori degli allevamenti, nonché da chi frequenta gli zoo, in particolare laddove diverse specie animali sono presenti in uno stato di semilibertà.

Le feci di bovino, suino e pecore contengono grandi quantità di rotavirus infettanti e costituiscono pertanto una potenziale fonte d'infezione per l'uomo, attraverso varie vie: per contatto diretto o indiretto con l'uomo, attraverso gli effluenti, gli aerosol e l'utilizzo come fertilizzanti delle colture agricole, in particolare dei vegetali di cui l'uomo si nutre senza previa cottura. Rotavirus escreti dagli animali si ritrovano nelle acque dei fiumi, nelle quali essi sono in grado di persistere per alcuni giorni. L'acqua da bere non opportunamente trattata, così come quella dei bagni o delle piscine, possono pertanto essere fonte di infezione per l'uomo.

Rotavirus degli animali possono essere potenzialmente trasmessi all'uomo anche con gli alimenti, direttamente attraverso il consumo di carni infette, ma anche indirettamente con alimenti contaminati da materiali infetti. La contaminazione può avvenire anche dopo cottura per manipolazione dell'alimento in condizioni non igieniche. In uno studio condotto sulla contaminazione delle carni a livello di macello, è stata compilata una lista di 25 agenti patogeni, possibili contaminanti. I rotavirus figurano al 15° posto (ai primi tre posti sono *E. coli* O157: H7, *Salmonella* e *Listeria*). La presenza di rotavirus è stata evidenziata anche nel pescato, ma tale alimento non sembra essere associato con la trasmissione all'uomo.

Anche i cani e i gatti sono portatori di rotavirus, in forma generalmente subclinica, e possono essere fonte di infezione per l'uomo. I rotavirus umani, a loro volta, possono infettare il cane, specie che risulta sensibile anche ai rotavirus dei suini e dei bovini.

Cook N., Bridger J., Kendall K., Gomara M.I., El-Attar L., Gray J. (2004)
The zoonotic potential of rotavirus. *J. Infection* 48, 289-302

Un raffreddamento rapido può prevenire un'inferiore qualità delle carni di suino dovuta allo stress pre-macellazione?

Un colore pallido e un'elevato gocciolamento sono problematiche che si possono riscontrare nelle carni di suino. Sono fenomeni dipendenti dal pH e dalla temperatura. Infatti, un'alta temperatura e un basso pH possono causare denaturazione delle proteine del muscolo, fenomeno che incide sul colore e sulla

capacità di trattenere l'acqua. Vari fattori possono influenzare il pH e la temperatura della carcassa, tra questi lo stress nel periodo che precede la macellazione. Partendo da quest'ultima considerazione, si è impostata una ricerca per controllare l'effetto di due metodiche di raffreddamento (convenzionale e rapida) sulla qualità

della carne di suini, sottoposti ad uno stress pre-macellazione.

L'esperimento, condotto in un macello industriale, ha coinvolto 192 suini che, suddivisi in gruppi, furono sottoposti, immediatamente prima della macellazione:

- o a un minimo stress, realizzato sospingendo gli animali, verso l'area di stordimento, con uno stimolatore elettrico, ma mantenendoli il più calmi possibile,
- o a un elevato stress, realizzato sospingendo gli animali con stimolatore elettrico ed urla e facendoli così muovere 4 volte avanti e indietro nel corridoio che conduceva all'area di stordimento.

In seguito, gli animali furono regolarmente macellati e, prima di entrare nei frigoriferi di conservazione, le carcasse degli animali che avevano subito i due tipi di stress vennero sottoposte:

- o a un raffreddamento convenzionale (4°C per 22 ore),
- o a un raffreddamento rapido (tunnel di raffreddamento a 3 fasi: 1) -15°C per 15 min, 2) -10°C per 38 min, 3) -1°C per 38 min) seguito dalla permanenza in frigorifero a 4°C per 22 ore.

La temperatura e il pH vennero misurati sul sangue e, a diversi intervalli di tempo, nei muscoli *longissimus lumborum* (LL) e *semimembranosus* (SM). La qualità della carne (ritenzione dell'acqua e colore oggettivo) venne valutata sul muscolo LL.

Risultati

Lo stress pre-macellazione influenzò il pH e la temperatura del sangue e del muscolo, con più bassi valori di pH e più alte temperature nei suini che erano stati esposti ad elevato stress rispetto a quelli esposti a minimo stress.

Il raffreddamento rapido portò a un più veloce declino della temperatura, indipendentemente dal livello di stress pre-macellazione.

Il raffreddamento rapido non influenzò la velocità di declino del pH nel muscolo LL, ma ridusse il declino del pH nel SM.

Il raffreddamento rapido, al contrario di quello convenzionale, diminuì la conducibilità elettrica nel LL, indipendentemente dallo stress pre-macellazione; tuttavia, non risultò in grado di compensare l'effetto negativo dello stress sulla perdita di acqua e sul colore della carne.

Pertanto, i risultati del presente studio indicano che un aumento della velocità di raffreddamento non risolve i problemi della qualità della carne di suino causati da un inadeguato trattamento pre-macellazione. Probabilmente, il danno maggiore si verifica nell'inevitabile periodo di tempo che intercorre tra la macellazione e l'inizio del raffreddamento, quando la temperatura della carcassa è al suo massimo. L'applicazione di metodi che aiutino a ridurre lo stress pre-macellazione sono in ogni caso raccomandabili.

Hambrecht E., Eissen J.J., de Klein W.J.H., Ducro B.J., Smits C.H.M., Versteegen M.W.A. and den Hartog L.A. (2004) Rapid chilling cannot prevent inferior pork quality caused by high preslaughter stress. *J. Anim. Sci.* 82, 551-556

Focolai di malattie zoonosiche nell'uomo associati alla visita di mostre di animali

Una recente indagine ha rilevato che tra il 1995 e il 2000 sono stati identificati, in Gran Bretagna, USA e Canada, almeno 12 focolai di malattie dell'uomo, riconducibili alla trasmissione di patogeni da parte di animali presenti in mostre, fiere, zoo o in allevamenti visitati a scopo culturale. I patogeni erano rappresentati da *Escherichia coli* O157 (7 casi), *Cryptosporidium parvum* (2 casi), *Salmonella* spp (1 caso), virus rabido (1 caso) e dermatofiti (1 caso). I 10 focolai associati a patogeni enterici si manifestarono a seguito di visite d'istruzione di allevamenti (8 casi), di zoo (1 caso), o di una mostra

provinciale di animali d'affezione (1 caso). In 6 dei 10 focolai, emerse come causa importante l'inadeguata presenza di impianti per lavarsi. Altri fattori importanti risultarono il mangiarsi le unghie, il succhiarsi il pollice, il mangiare nei pressi delle aree destinate agli animali e il contatto stesso con gli animali o il loro ambiente. L'incidente relativo alla rabbia coinvolse circa 150 persone che erano venute a contatto con un cucciolo d'orso potenzialmente rabido. I dermatofiti coinvolsero i membri di una famiglia che avevano portato alcuni agnelli ad una fiera.

A completamento dell'indagine, venne fatta una richiesta di segnalazione di simili episodi ai veterinari di 45 Stati degli USA. Da essa emersero almeno altri 16 incidenti legati a contatti tra pubblico e animali, durante fiere o visite d'istruzione. I patogeni qui coinvolti furono: virus rabido (3 casi), *E. coli* O157:H7 (3 casi), *Campylobacter* spp (3 casi), *Salmonella* spp (3 casi), *Giardia* spp (1 caso), virus orf (1 caso), *C. parvum* (1 caso) e altri patogeni enterici. Dodici dei 16 focolai vedevano coinvolti patogeni enterici e il numero medio di persone colpite variava da 1 a 82. Nel caso dei focolai enterici le cause furono riportate a inadeguatezza di impianti per lavarsi o all'assunzione di latte crudo durante le visite.

In aggiunta, spulciando nella letteratura, si trovano descrizioni di episodi sporadici di malattie rilevati negli animali presenti in esibizioni, fiere o mostre, che non hanno avuto conseguenze per l'uomo, ma che pure erano sostenuti da agenti patogeni potenzialmente zoonotici, quali: virus pox, virus epatite A, *Mycobacterium*

spp, *Chlamydomphila psittaci*, assieme ad altri batteri o parassiti.

Nel corso degli studi descritti, emerse che solo in pochi Stati erano disponibili raccomandazioni scritte per prevenire la trasmissione di malattie zoonotiche nel corso di esposizioni di animali. Peraltro, quelle poche disponibili si concentravano sulla prevenzione delle malattie enteriche, tralasciando altre zoonosi o il rischio di ferite dovute a morsicature. Da qui la necessità di sviluppare una serie di indicazioni precise che servano a escludere la possibilità che l'uomo contragga zoonosi durante una visita ad animali, siano essi di uno zoo, di una fiera o di un normale allevamento. Un compito che, negli USA, vede coinvolta, in prima fila, la *National Association of State Public Health Veterinarians (NASPHV)* che, con i suoi associati veterinari gioca un ruolo critico nell'educare il pubblico, nell'aiutare gli operatori del settore, nonché nell'elaborazione di strategie e di norme comportamentali.

Bender J.B., Shulman S.A. (2004)

Report of zoonotic disease outbreaks associated with animal exhibits and availability of recommendations for preventing zoonotic disease transmission from animals to people in such settings. *JAVMA*, 224 (7), 1105-1109

I vaccini virali per gli equini

Negli ultimi tempi si assiste ad una aumentata incidenza delle malattie infettive degli equini, la qual cosa può essere riportata sia ai sempre più frequenti movimenti internazionali di questi animali, sia a un rilassamento dei regolamenti veterinari.

La vaccinazione costituisce, assieme ad un corretto *management*, il metodo primario per un controllo di queste malattie.

Tradizionalmente, sono stati usati vaccini vivi modificati e vaccini inattivati, con i quali sono stati ottenuti successi indubbi. Tuttavia, esistono malattie infettive degli equini per le quali le tecnologie convenzionali hanno dimostrato limitazioni.

L'avvento della tecnologia ricombinante ha stimolato lo sviluppo di una seconda generazione di vaccini, che va dalle mutanti con geni deleti, ai vettori di vaccini vivi o ai vaccini DNA. Questi vaccini hanno in comune che gli antigeni protettivi vengono processati per via endogena, il che porta ad una stimolazione di una risposta immunitaria che è sia umorale, che cellulo-mediata.

Limitazioni all'uso dei vaccini sono tuttora rappresentate dalla mancanza di efficacia in presenza di anticorpi materni e dall'impossibilità di differenziare gli animali

naturalmente infetti da quelli vaccinati. Un problema quest'ultimo che appare in via di soluzione grazie all'uso dei vaccini DIVA (Differentiating Infected from Vaccinated Animals), vaccini che risultano "marcati", grazie all'uso di una subunità o di un vettore, ovvero alla presenza di una delezione di un gene, fattori facilmente rilevabili grazie a specifici test diagnostici.

Influenza equina. L'abilità del virus influenzale a realizzare di continuo cambiamenti della sua struttura antigenica, rende necessario un aggiornamento costante dei ceppi vaccinali, che rifletta la più recente situazione epidemiologica. L'efficacia dell'intervento vaccinale dipende, oltre che dalla potenza del vaccino e dai ceppi in esso contenuti, anche dai tempi in cui viene realizzato, (una rivaccinazione troppo frequente è spesso associata ad una risposta vaccinale scadente), nonché dal livello di anticorpi materni presenti (non vaccinare puledri, nati da madri vaccinate, prima di 24 settimane di età).

Storicamente, i vaccini contro l'influenza equina contengono virus in toto inattivato o l'antigene di superficie, potenziati da adiuvanti, e vengono somministrati per via parenterale. Possono essere monovalenti o associati (tossoidi tetanico,

herpesvirus equino, encefalite). La protezione dipende dalla concentrazione di anticorpi circolanti diretti verso la glicoproteina emoagglutinante di superficie. Questi anticorpi hanno di solito vita breve e pertanto è richiesta una rivaccinazione ad intervalli di 3-4 mesi, per mantenere un'immunità nella popolazione ad alto rischio.

I vaccini convenzionali, in contrasto con l'infezione influenzale, non stimolano, o poco stimolano, l'immunità mucosale. Da qui la ricerca di nuovi vaccini, in grado di riprodurre la risposta immunitaria all'infezione naturale. Risultati promettenti sono stati ottenuti con vaccini intranasali, sia inattivati (associati alla tossina colerica B) che vivi modificati (contenenti ceppi *cold-adapted*). Più recentemente è stato realizzato il primo vaccino ricombinante, basato sul virus *canarypox* (vaiolo del canarino). L'immunità indotta risulta soddisfacente; essa è presente anche in assenza di anticorpi specifici circolanti, il che suggerisce che il vaccino genera una risposta immunitaria cellulare.

Vaccini DNA sono stati testati su pony, mediante inoculazione nella pelle o nella mucosa, con risultati promettenti, ma che richiedono conferma.

Herpesvirus equino. Herpesvirus equino-1 (EHV-1) e herpesvirus equino-4 (EHV-4) sono i maggiori agenti causali di infezioni respiratorie e aborti negli equini. Controversia è la possibilità di una protezione crociata tra i due virus e, pertanto, per massimizzare la risposta immunitaria contro queste infezioni, i vaccini EHV devono contenere ambedue i sottotipi.

Vaccini convenzionali sono stati prodotti partendo da tessuti di animali infetti, preparazioni che oggi devono ritenersi inaccettabili. Migliori risultati si sono ottenuti con ceppi virali adattati all'*hamster*, coltivati e selezionati su linee cellulari o deleti. I vaccini convenzionali uccisi conferiscono solo una parziale protezione. Al contrario, alcuni di quelli vivi si dimostrano in grado di conferire un alto livello di protezione contro la malattia clinica ed eliminano la viremia. Non sempre si realizza una protezione dall'aborto ed alcuni ceppi vaccinali sono addirittura risultati patogeni per il feto.

Nuove strategie vaccinali (vaccini ricombinanti, deleti, DNA) sono in corso di sperimentazione, con nuove prospettive, che derivano dalle conoscenze acquisite negli ultimi tempi, relative ai geni corrispondenti alla virulenza di EHV o ai suoi antigeni protettivi immunodominanti.

Encefaliti equine. Vaccini inattivati sono disponibili per tutte e tre le encefaliti equine (VEE, WEE, EEE). Essi

risultano poco immunogeni e richiedono più interventi. Un vaccino vivo, attenuato in colture cellulari, viene utilizzato con un certo successo, nelle Americhe del nord e del sud, contro VEE. Tuttavia, alcune obiezioni vengono sollevate contro il suo uso, a causa di alcune reazioni indesiderate e della sua potenziale capacità di rivirulentarsi e di stabilirsi nella popolazione di zanzare. Stante l'interesse che le malattie riscuotono per il loro aspetto zoonosico, attiva è la ricerca mirata alla realizzazione di nuove forme di vaccino. Sono state realizzate sperimentazioni con vaccini vaccinia-ricombinanti, da vettore baculovirus, da ricombinazioni chimeriche, con delezioni o DNA. Per alcuni di essi i risultati sono promettenti, ma ulteriori test sono necessari, non solo nei riguardi dell'innocuità e dell'efficacia, ma anche del rischio di rivirulentazione.

Arterite virale equina. Per minimizzare la diffusione dell'infezione e le perdite economiche dovute a EAV, i piani di profilassi possono contemplare il ricorso alla vaccinazione.

Diversi vaccini inattivati, adiuvati o non adiuvati, appaiono in grado di proteggere le cavalle dall'aborto e gli stalloni da un'infezione persistente degli organi della riproduzione, dopo un'infezione respiratoria.

Un vaccino vivo, attenuato con passaggi in coltura cellulare, ad oggi disponibile solo in USA e non in Europa, conferisce una soddisfacente protezione. Il virus vaccinale non è presente nel seme, non induce infezione persistente degli stalloni, ma è controindicato nelle cavalle gravide.

Sebbene i vaccini disponibili possano ritenersi innocui ed efficaci, l'impossibilità di discriminare tra cavalli vaccinati e cavalli infetti costituisce un grave inconveniente che interferisce con i programmi di sorveglianza. Per questa ragione sono stati sperimentati, come potenziali marcatori, alcuni vaccini ricombinanti. Sebbene promettenti, nessuno di essi ha raggiunto, ad oggi, uno stadio finale di sviluppo.

West Nile. Negli USA è in commercio un vaccino inattivato ed adiuvato che, secondo il produttore, avrebbe la capacità di proteggere il 94% dei cavalli dalla viremia, 12 mesi dopo l'inoculazione di due dosi iniziali di vaccino.

Recentemente, l'USDA (*United States Department of Agriculture*) ha approvato l'uso nei cavalli di un vaccino realizzato sul virus vettore "*canarypox*", in grado di indurre nel cavallo anticorpi neutralizzanti verso il virus WN e una protezione di un anno.

Riduzione del colesterolo delle uova tramite somministrazione alle galline di Pravastatina

Le uova costituiscono un eccellente alimento, grazie alla loro composizione in proteine nobili, acidi grassi mono- e polinsaturi, minerali e vitamine. Tuttavia, esse sono considerate la maggior fonte di colesterolo nelle diete, contenendo ogni uovo circa 200 mg di tale sostanza.

I pericoli rappresentati dalle diete ricche di colesterolo hanno fatto diminuire in modo significativo il consumo delle uova nel mondo, da qui l'interesse a sviluppare metodiche in grado di produrre uova con ridotto contenuto di colesterolo. Il ricorso alla genetica o a formulazioni mirate dei mangimi hanno portato a modesti cambiamenti dei livelli di colesterolo nelle uova, mentre indicazioni interessanti sono emerse dalla somministrazione alle galline di statine, cioè di inibitori di HMGR (3-hydroxy-3-methyl-glutaryl coenzyme A reductase). Trattasi di prodotti largamente usati nell'uomo per combattere l'eccesso di colesterolo nel sangue.

In un esperimento condotto su 44 galline ovaiole, si è voluto controllare l'effetto della somministrazione di alcune statine, più precisamente lovastatina, simvastatina e pravastatina, sui livelli di colesterolo misurati nel fegato, nel plasma e nelle uova, siti dove il colesterolo è, rispettivamente, biosintetizzato, trasportato e depositato. La normale dieta degli animali in esperimento venne arricchita con lo 0,03 o 0,06% di statine, per 4 settimane.

Il peso delle uova risultò significativamente ridotto con tutte le statine, mentre la produzione di uova rimase pressochè inalterata. Il contenuto di colesterolo nel plasma si ridusse significativamente nei polli trattati con lovastatina e simvastatina, contrariamente a quelli trattati con pravastatina. In contrasto, con la somministrazione di pravastatina la concentrazione di colesterolo nel fegato subì un significativo abbassamento. In aggiunta, la pravastatina ridusse di circa il 20% il contenuto di colesterolo nelle uova, rispetto ad una dieta normale. Il mantenimento contemporaneo dei normali livelli di colesterolo nel plasma delle galline ovaiole trattate con pravastatina risulta particolarmente importante, perché bassi livelli di colesterolo influenzano negativamente la fisiologia aviaria, abbassando la fertilità e la sintesi degli ormoni steroidei.

Questi risultati suggeriscono che la pravastatina, al contrario di altri inibitori di HMGR, è un eccellente candidato come additivo alle diete per galline ovaiole. Essa ha una potenziale applicazione commerciale per la produzione di uova a basso contenuto di colesterolo, senza presentare effetti collaterali negativi sulla produzione delle uova e sulla fisiologia delle galline.

Kim J.H., Hong S.T., Lee H.S. and Kim H.J. (2004)

Oral administration of pravastatin reduces egg cholesterol but not plasma cholesterol in laying hens. Poultry Science 83, 1539-1543

Raccomandazioni dell'OMS relative alle zoonosi

In una riunione congiunta dell'OMS (Organizzazione mondiale della Sanità) con la FAO (Food and Agricultural Organization) e l'OIE (Organisation International des Epizooties) sono state redatte una serie di conclusioni e raccomandazioni per il controllo e la possibile prevenzione di malattie degli animali che in futuro potrebbero venir trasmesse all'uomo.

Conclusioni

- Le malattie zoonosiche emergenti costituiscono un argomento globale e regionale di crescente importanza e si ritiene che la corrente tendenza ad un aumento continui anche in futuro.

- Le attività e i comportamenti dell'uomo spesso conducono all'emergenza delle malattie zoonosiche. Si comprendono in ciò le pratiche agricole e di produzione degli alimenti, la deforestazione e l'urbanizzazione di aree vergini, la globalizzazione del commercio degli animali vivi, compreso quelli selvatici, e dei prodotti animali, i cambiamenti di clima.
- Un coordinamento tra salute pubblica e settori veterinari in risposta all'emergenza di malattia zoonosiche sono auspicabili.
- Identificare quale malattia zoonosica potrà emergere in futuro è estremamente difficile, data la natura multifattoriale, e in continua evoluzione, dei fattori di rischio coinvolti.

Raccomandazioni

- Sono necessari nuovi meccanismi di sorveglianza e di risposta, che utilizzino nuovi strumenti (elaborazione dei dati forniti dai satelliti, epidemiologia analitica molecolare), coinvolgendo diverse discipline (medicina, veterinaria, biologia della popolazione, tecnologia dell'informazione, diagnostica).
- È necessario integrare i sistemi di allerta e pronto intervento delle organizzazioni internazionali, per facilitare una pronta rilevazione degli eventi potenzialmente collegati alla salute dell'uomo e degli animali.
- È necessario integrare a livello nazionale e regionale i dati relativi alla salute dell'uomo e degli animali,

comprendendo in ciò anche l'istituzione di comitati intersettoriali per la preparazione alle zoonosi e al loro controllo.

Nel contempo, OMS, FAO e OIE si attiveranno per sensibilizzare alla problematica delle zoonosi le forze politiche e per supportare le infrastrutture necessarie alla tutela della salute dell'uomo e degli animali. L'OMS intende, inoltre, mobilitarsi per coordinare una rete di collegamento fra i vari Paesi, al fine di poter analizzare le varie situazioni riguardo all'emergenza delle zoonosi, nonché per fornire linee guida per affrontare le stesse.

<http://www.who.int/mediacentre/briefing/2004/mb3/en/>

Inattivazione del virus BVD nel colostro di capra con coloranti fenotiazina-derivati

L'artrite-encefalite caprina (CAE) è sostenuta da un virus della famiglia *Retroviridae*. Una delle sue manifestazioni cliniche è rappresentata dalla mastite e, conseguentemente, l'ingestione di colostro o latte infetto rappresenta un modo di trasmissione della malattia. Per questo, a scopo profilattico, si consiglia di somministrare agli agnelli colostro riscaldato a 56°C per 1 ora o latte pastorizzato. Tuttavia, questi trattamenti risultano spesso difficili nelle condizioni della pratica e, per di più, un sovrariscaldamento dei prodotti può portare a una denaturazione delle immunoglobuline. In alternativa ai trattamenti termici, si è prospettata la possibilità di trattare il colostro con coloranti fenotiazina-derivati, quali il blu di metilene (BM) o il violetto di metilene (VM), facendo seguire un'esposizione alla luce. Questi coloranti legano l'acido nucleico virale e la successiva esposizione alla luce induce una serie di fenomeni fra cui la rottura del genoma virale, quindi l'inattivazione del virus (inattivazione fotodinamica).

Essendo la tecnica già stata utilizzata per inattivare virus eventualmente presenti nei prodotti del sangue, si è voluto controllarne l'effetto antivirale nel colostro. Allo scopo, si è preso come modello del virus CAE il virus BVD, in quanto i retrovirus sono, in generale, difficili da coltivare e da quantificare *in vitro*.

Campioni di colostro di capra contenenti virus BVD furono illuminati per 60 minuti dopo aggiunta di 4 differenti

concentrazioni (da 1 a 20 μM) di BM o di VM. L'illuminazione fu realizzata in un piccolo frigorifero attrezzato con lampade fluorescenti; alcuni campioni furono ruotati continuamente durante l'illuminazione, altri rimasero stazionari. A diversi tempi, furono condotti controlli del titolo virale e della concentrazione di immunoglobuline.

Un μM di BM ridusse il virus a valori non rilevabili dopo 60 minuti di illuminazione, mentre per VM la concentrazione necessaria fu di 20 μM . L'agitazione dei campioni non apportò alcun vantaggio. Alte concentrazioni di coloranti non ebbero alcun effetto negativo sulla concentrazione di immunoglobuline.

Gli esperimenti descritti confermano la capacità dei coloranti da fenotiazina ad inattivare i virus e la superiorità di BM, rispetto a VM.

Stante le loro proprietà mutagene, si è avanzato il dubbio circa possibili effetti collaterali a seguito dell'ingestione dei coloranti contenuti nel colostro. In letteratura non sono riportati dati al proposito relativi ai ruminanti. Comunque, il fatto che l'attività antivirale sia presente già a concentrazioni di BM relativamente basse, il rischio di potenziali effetti indesiderati, carcinogeni o ematogeni, dovrebbe essere minimo. Studi in vivo con virus CAE sono necessari prima di poter definitivamente suggerire l'introduzione nella pratica del trattamento descritto.

K.E. Washburn, R.N. Streeter, J.T. Saliky, T.W. Lehenbauer (2004)

The use of phenothiazine dyes to inactivate bovine viral diarrhoea virus in goat colostrum. *Can. J. Vet. Res.* 68, 105-111