

S.I.E.F.

*"Giornata di studio e confronto: la lepre, ecologia, patologie e modelli gestionali
che ne influenzano l'andamento demografico"*

Bologna, 16 ottobre 2015



EBHS E CALICIVIRUS: COSA C'È DI NUOVO



Antonio LAVAZZA

&

Lorenzo CAPUCCI



Centro di Referenza Nazionale per le Malattie Virali dei lagomorfi
Laboratorio di Riferimento OIE per Rabbit Haemorrhagic Disease e Myxomatosis
Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

Storicamente: Malattie Emorragiche dei Lagomorfi

Malattia Virale Emorragica
(MEV - RHD)

coniglio
domestico e selvatico
(*Oryctolagus cuniculus*)



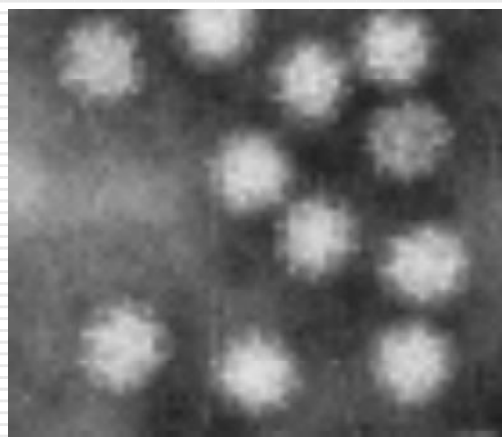
CALICIVIRUS

European Brown
Hare Syndrome (EBHS)

lepre bruna
selvatica e allevata
(*Lepus europaeus P.*)



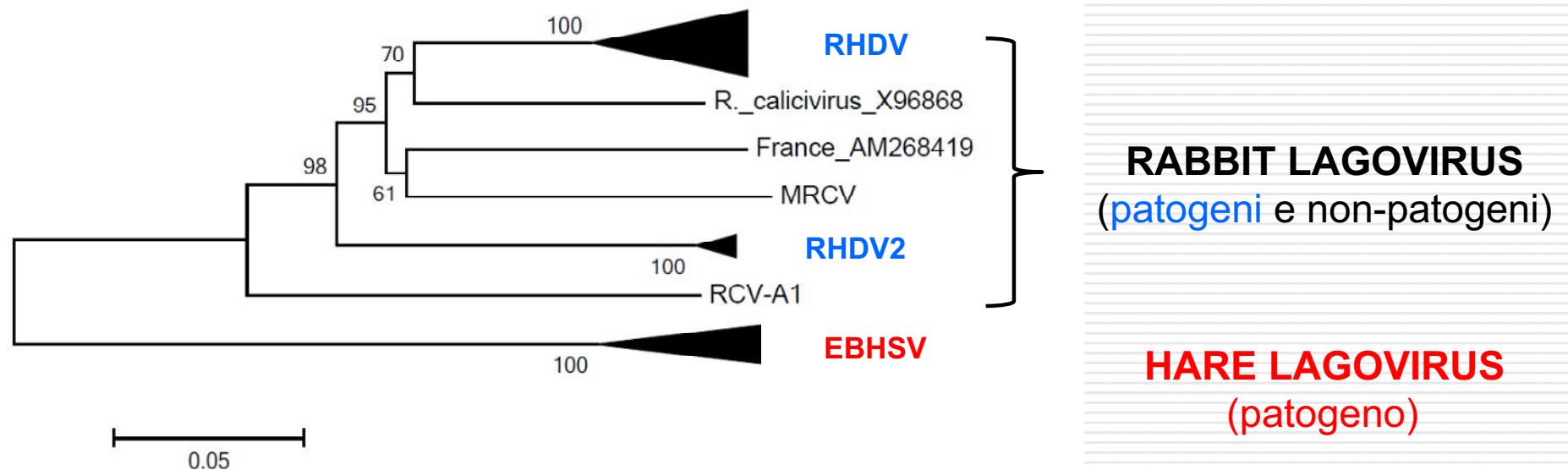
CALICIVIRUS



antigenicamente correlati ma distinti
no cross-infezione

Nuovo genere "**Lagovirus**"

Quanti “lagovirus” nel coniglio?



	Year	Host	Where?	Virulence?
RDHV	1984/90	RABBIT	China '84 - Europe '86	Yes
RDHV _a	1996/97	RABBIT	China '85 - Europe '97	Yes
EBHSV	1989	HARE	Sweden '81	Yes
RCV	1991/95	RABBIT	Italy '95	No
ASHIN.	1998	RABBIT	UK '98	Yes?
MRCV	2001	RABBIT	Michigan (USA) '01	Yes?
06-11	2006	RABBIT	France '06	No
RCV-A1	2007	RABBIT	Australia '07	No
Fra2010	2010	RABBIT	France '10	Yes

Questi sono quelli noti.....

.....ma ce ne sono altri ?

RHDVa: Prima consistente variante antigenica

- HA e WB pos. - Altamente virulento
- Geneticamente differente (6.6-6.9% sostituzioni aa)
- Diverso pattern di reattività con Mabs verso epitopi di superficie
- Buona cross-protezione indotta da immunità da RHDV “classico” sia post infezione che vaccinale

RHDVa non sarebbe il risultato di una mutazione di RHDV

RHDV and RHDVa sono emersi indipendentemente?

Diversa distribuzione da Paese a Paese

1997: Italia e Germania

2000: USA e Reunion island (Africa)

2002: Giappone

2003: Francia

2004: Cuba

2005: Uruguay

2013: Spagna e Portogallo

2014: Australia

...ma in “Gene-Bank” ci sono anche...

????: China (ceppi TP, CD, YL)

1997: ceppo JX - China

198?: ceppo NJ - China

RHDV Fra2010: un nuovo sierotipo ? → **RHDV2**

February 5, 2011 | *Veterinary Record* | 137

VIROLOGY

Detection of a new variant of rabbit haemorrhagic disease virus in France

G. Le Gall-Reculé, F. Zwingelstein,
French Agency for Food, Environmental
and Occupational Health & Safety (Anses),
Avian and Rabbit Virology, Immunology
and Parasitology Unit, Zoopôle-Les Croix,
BP 53, 22440 Ploufragan, France



- ✗ Dall'estate 2010 in conigli selvatici
- ✗ Diffusione nel Nord-Ovest della Francia
- ✗ Elevata mortalità in aziende industriali in fattrici vaccinate, ingrasso ed anche lattanti

RHDV2: principali caratteristiche

Le Gall-Reculé et al. *Veterinary Research* 2013, 44:81
<http://www.veterinaryresearch.org/content/44/1/81>



RESEARCH

Open Access

Emergence of a new lagovirus related to *rabbit haemorrhagic disease virus*

Ghislaine Le Gall-Reculé^{1,2*†}, Antonio Lavazza^{3†}, Stéphane Marchandeau^{4†}, Stéphane Bertagnoli⁵,
Françoise Zwingelstein^{1,2}, Patrizia Cavadini³, Nicola Martinelli³, Guerino Lombardi³, Jean-Luc Guérin⁵,
Evelyne Lemaitre^{1,2}, Anouk Decors⁶, Samuel Boucher⁷, Bernadette Le Normand⁸ and Lorenzo Capucci^{3†}

- ✗ Animali di tutte le età si infettano ma la malattia colpisce anche **soggetti giovani** (da 15-20gg)
- ✗ **Morbilità** 90-100% uguale a RHDV/RHDVa

- ✗ **Virulenza** inferiore rispetto a RHDV/RHDVa
- ✗ **Mortalità** variabile: 9-42% sperimentale, in campo inizialmente bassa (circa 20-30%) ma in aumento (ultimi ceppi fino a 70%)
- ✗ **Decorso** più protratto (decorso medio di 5gg)
- ✗ Vaccinazione vaccini classici poco o nulla efficace
- ✗ **Profilo antigenico** e genetico unico

RHDV2: distribuzione e diffusione

- ✗ Alta diffusibilità: rapida diffusione in Francia e Spagna ed anche in Sardegna
- ✗ In Italia diversi focolai distribuiti nel Paese da nord a sud legati e non ai circuiti commerciali
- ✗ Coinvolti conigli selvatici, rurali e di allevamenti industriali

✗ Spagna	2011
✗ Portogallo	2012 [2011?]
✗ Malta	2012
✗ UK	2013 [2010?]
✗ Germania	2013
✗ Norvegia	2014
✗ Svezia	2014
✗ Australia	2015

***Sta soppiantando
i ceppi classici?***

RHDV2: suscettibilità di specie

RHDV2 infetta e induce malattia nella lepre sarda (*L. capensis* subsp. *mediterraneus*) [Puggioni et al., Vet Res 2013] e nella lepre italica (*L. corsicanus*) [Camarda et al., 2014].

RHDV2 ha quindi un tropismo di specie differente rispetto al virus classico RHDV

Puggioni et al. *Veterinary Research* 2013, **44**:96
<http://www.veterinaryresearch.org/content/44/1/96>



SHORT REPORT

Open Access

The new French 2010 *Rabbit Hemorrhagic Disease Virus* causes an RHD-like disease in the Sardinian Cape hare (*Lepus capensis mediterraneus*)

Giantonella Puggioni¹, Patrizia Cavadini², Caterina Maestrale¹, Rosario Scivoli¹, Giuliana Botti², Ciriaco Ligios¹, Ghislaine Le Gall-Reculé^{3,4}, Antonio Lavazza² and Lorenzo Capucci^{2*}

Research in Veterinary Science 97 (2014) 642–645



Contents lists available at ScienceDirect

Research in Veterinary Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/rvsc



Detection of the new emerging rabbit haemorrhagic disease type 2 virus (RHDV2) in Sicily from rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) and Italian hare (*Lepus corsicanus*)



A. Camarda ^{a,*}, N. Pugliese ^{a,1}, P. Cavadini ^{b,1}, E. Circella ^a, L. Capucci ^b, A. Caroli ^a, M. Legretto ^a, E. Mallia ^c, A. Lavazza ^b

^a Department of Veterinary Medicine, the University of Bari "Aldo Moro", S.P. per Casamassima, km 3, Valenzano, BA 70010, Italy

^b Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna "Bruno Ubertini" - OIE Reference Laboratory for Rabbit Haemorrhagic Disease, Via A. Bianchi 7/9, Brescia 25124, Italy

^c Regional Park of Gallipoli Cognata, Piccole Dolomiti Lucane, Matera, Italy

RHDV2 è un “nuovo” lagovirus

Quando e dove è comparso?

In Francia verso il 2009-2010

Chi è il “padre”?

Sconosciuto, ma non è un evoluzione di RHDV, è un «nuovo»

Che importanza ha ?

- *E' quasi un sierotipo nuovo con molteplici ceppi e stipiti circolanti*
- *Atipicità dell'andamento clinico*
- *Quadri epidemiologici variabili (intensivo, rurale, selvatico)*
- *Causa malattia nelle lepri*

Come si controlla ?

Difficile: in allevamento biosicurezza e vaccinazione (omologa meglio!), nel selvatico pressoché impossibile

“Rabbit Calicivirus” (RCV): virus non patogeno

✗ Ipotesi basata sull’osservazione di positività sierologiche

- in conigli di laboratorio prelevati prima della comparsa della malattia in Europa (1975-1985)
- in allevamenti e gruppi di conigli in cui non era mai stata riportata la malattia

✗ Identificazione, isolamento e riproduzione sperimentale

Capucci L, Nardin A, Lavazza A. (1997) Vet. Rec., 140: 647-650

✗ Caratteristiche

- Virus non patogeno, enterico, altamente correlato con RHDV, in grado di “infettare persistentemente” popolazioni di conigli sia allevati che selvatici
- RCV potrebbe essere il progenitore di RHDV a funziona come vaccino naturale

Capucci L. et al. (1996). J Virol, 70 (12): 8614-8623

Virus RCV-A1

- ✗ Identificato In **Australia** (RCV-A1=Rabbit Calicivirus Australia-1)
- ✗ Differente da RCV “europei” ma, come RCV, causa infezione enterica
- ✗ Solo parzialmente cross-protettivo
- ✗ Epidemiologicamente rilevante, interferisce su andamento RHD
- ✗ Presenti almeno 6 clades differenti

*Strive T., Wright J.D Robinson A.J. Virology, (2009) 384:97-105
Jahnke M. et al., J Virol. (2010) 84(23):12397-404*

- ✗ Virus RCV A-1”like” identificati di recente anche in Italia e Francia (→origine Europea ?)

*G.Le Gall-Reculé, E.Lemaitre, F.X. Briand, S.Marchandeanu
10° ESVV International Congress, Montpellier (France), 2015, p. 185*

L'ultimo arrivato: un lagovirus non patogeno della lepre (HaCV)

Ipotesi:

- ✗ Esistenza di virus non patogeni nel coniglio
- ✗ Evidenza indiretta da indagini sierologiche
 - Presenza di Ac in sieri “storici” di lepre bruna
 - Presenza di Ac “di gruppo” con diversi metodi ELISA in lepre bruna e altre specie (*Lepus capensis*)
 - Presenza di Ac in lepri da Paesi dove la malattia non è mai stata segnalata (Australia, Sud America, Africa)

*P. Cavadini, S. Molinari, G. Pezzoni, M. Chiari,
E. Brocchi, A. Lavazza, L. Capucci*

*Identification of a new non-pathogenic lagovirus in Lepus europeus
10° ESVV International Congress, Montpellier (France), 2015, p. 76-77*

Identificazione di un LAGOVIRUS
NON PATOGENO della lepre
cui abbiamo dato nome di
Hare calicivirus (HaCV)

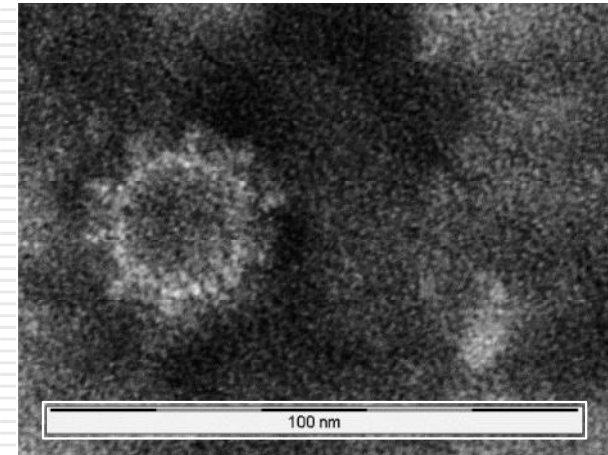
Tutti i ceppi ad oggi isolati sono
raggruppati insieme

HaCV è filogeneticamente distante
da EBHS ma appartiene allo stesso
“clade” (gruppo genetico)

EBHSV e HaCV presentano profili
antigenici distinti, come se
fossero due distinti sierotipi

In apparenza non è risultato di
ricombinazione con altri lagovirus

Come per RCV il tropismo è
differente (intestino vs fegato)



Quanto è distribuito?

Induce cross protezione
verso EBHSV?

Posso distinguere la
risposta immunitaria?

Impatta sulla circolazione
di EBHSV?

Se sì, come ?

Ruolo e importanza dei «virus non patogeni»

- ✗ Progenitori di virus patogeni ?
 - 1984 (?) conigli d'Angora dall'Europa alla Cina → comparsa di RHDV patogeno
 - 1980 (~) comparsa di EBHS in Scandinavia
- ✗ In grado di proteggere da virus patogeni?
 - Fine XIX sec: lagovirus(es) non patogeni in Europa e da qui in Oceania/Sud America → evoluzione di lineaggi distinti di virus, più o meno protettivi
- ✗ Possono condizionare l'epidemiologia di RHD e EBHS ?
 - In particolare nei selvatici
- ✗ Esistono specie serbatoio (lagomorfi e non solo) ?
 - Necessari metodi sierologici più sensibili ed in grado di differenziare gli anticorpi

Lagovirus: spettro d'ospite

Specie recettive RHD:

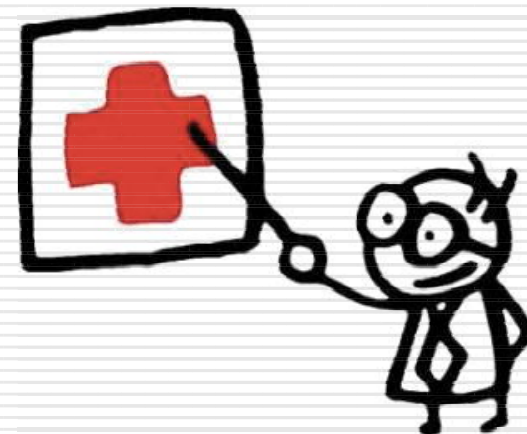
Oryctolagus cuniculus +++

Lepus capensis + (RHDV2)

Lepus corsicanus + (RHDV2)

Lepus europaeus +/- ? (RHDV2)

Sylvilagus floridanus -



Specie recettive EBHS:

Lepus europaeus +++

L. timidus ++

L. corsicanus ++

Sylvilagus floridanus +

Oryctolagus cuniculus -

L. capensis e *L. granatensis* ???

RESEARCH

Open Access

Field and experimental data indicate that the eastern cottontail (*Sylvilagus floridanus*) is susceptible to infection with European brown hare syndrome (EBHS) virus and not with rabbit haemorrhagic disease (RHD) virus

Antonio Lavazza^{1,7*}, Patrizia Cavadini^{1,7}, Ilaria Barbieri¹, Paolo Tizzani², Ana Pinheiro^{3,8,9}, Joana Abrantes^{3,10}, Pedro J Esteves^{3,11}, Guido Grilli⁴, Emanuela Gioia⁵, Mariagrazia Zanoni¹, Pier Giuseppe Meneguz², Jean Sébastien Guitton⁶, Stéphane Marchandeau⁶, Mario Chiari¹ and Lorenzo Capucci^{1,7}



La “minilepre” è ospite naturale, ancorché probabilmente occasionale, del virus EBHS, può servire da ospite e trasmetterlo alla lepre....

.....ma, più in generale che ruolo può avere la il *Sylvilagus* nella genesi di “nuovi” lagovirus (reassortanti o ricombinanti) con un meccanismo di “salto di specie” ?

EBHS: dinamica temporale

Valutazione della dinamica temporale in campo dell'EBHS ed in particolare verifica dell'effetto annuale della densità di popolazione sulla sieroprevalenza

Eur J Wildl Res
DOI 10.1007/s10344-014-0856-6

ORIGINAL PAPER

Temporal dynamics of European brown hare syndrome infection in Northern Italian brown hares (*Lepus europaeus*)

Mario Chiari • Nicola Ferrari • Daniele Giardiello • Dominga Avisani •
Mariagrazia Zanoni • Giovanni Loris Alborali • Paolo Lanfranchi •
Vittorio Guberti • Capucci Lorenzo • Lavazza Antonio

- ✗ Controllo sierologico in c-ELISA di 512 lepri da 7 ZRC (prov BS) per 7 anni consecutivi (2006-2013)
- ✗ Utilizzo di modello lineare misto generalizzato
- ✗ Sieroprevalenza annuale variabile da 94,3 a 35,8%, in calo negli ultimi anni
- ✗ Prevalenza 3,3 volte più alta in aree con densità $>15/\text{km}^2$
- ✗ Diversamente da quanto a suo tempo ipotizzato, questo valore di densità non è però sufficiente a garantire la stabilità endemica

EBHS: dinamica temporale

- ➔ Visto il meccanismo densità/dipendente dell'infezione, l'unica strategia possibile per limitare i danni da EBHS è mantenere densità di popolazioni elevate
- ➔ In questo contesto che ruolo svolge l'infezione da HaCV ?
- ➔ La presenza (e diffusione ?) di HaCv è una possibile concausa del calo di incidenza di EBHS negli ultimi anni ?



Grazie per l'attenzione



antonio.lavazza@izsler.it

Tel: 030/2290298

