

Valutazione di un protocollo diagnostico per effettuare la diagnosi corretta del Bovine Alphaherpesvirus 1 (BoAHV-1)^o

Righi C.¹, Martucciello A.², Casciari C.¹, Grassi C.², Pellegrini C.¹, Cappelli G.², Costantino G.¹, Molinari L.¹, Rossi E.¹, Pela M.², Feliziani F.¹, Petrini S.¹

¹ Centro di Referenza Nazionale per la Rino-tracheite Infettiva del Bovino (IBR), Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati", Perugia

² Centro di Referenza Nazionale sull'igiene e le tecnologie dell'allevamento e delle produzioni bufaline, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Salerno

INTRODUZIONE

- ✓ Il Bovine alphaherpesvirus 1 (BoAHV-1) è associato a diverse manifestazioni cliniche, tra cui la Rino-tracheite Infettiva Bovina (IBR) [1].
- ✓ È stata osservata una reattività crociata sierologica tra BoAHV-1 ed altri virus erpetici, tra cui il Bovine gammaherpesvirus bovino 4 (BoGHV-4) e il Bubaline alphaherpesvirus 1 (BuAHV-1) [2-3].
- ✓ La reattività crociata tra diversi herpesvirus bovini e bufali interferisce negativamente con la diagnosi di laboratorio di BoAHV-1 [4].

OBIETTIVO:

Valutare un protocollo diagnostico per la diagnosi di BoAHV-1 nei vitelli.

MATERIALI E METODI

- ✓ Due gruppi di 5 vitelli ciascuno (A-B), privi di anticorpi neutralizzanti (NAs) nei confronti di BoAHV-1, BoGHV-4 e BuAHV-1, sono stati infettati sperimentalmente (Autorizzazione del Ministero della Salute n. 728/2022-PR) con lo stipite 85/16 TV di BoGHV-4 (gruppo A) e lo stipite SAM 1/2020 di BuAHV-1 (gruppo B) (Tabella 1).

Tabella 1. Disegno sperimentale

GRUPPO	No. VITELLI	ETA' (MESI)	VIRUS	CONCENTRAZIONE VIRALE IN DCP ₅₀ UNA DOSE (5mL)	VIA DI INOCULO
A	4	6	BoGHV-4	10 ^{6,50}	Intravaginale
B	4	6	BuAHV-1	10 ^{6,50}	Intranasale
	2	6	Controlli		

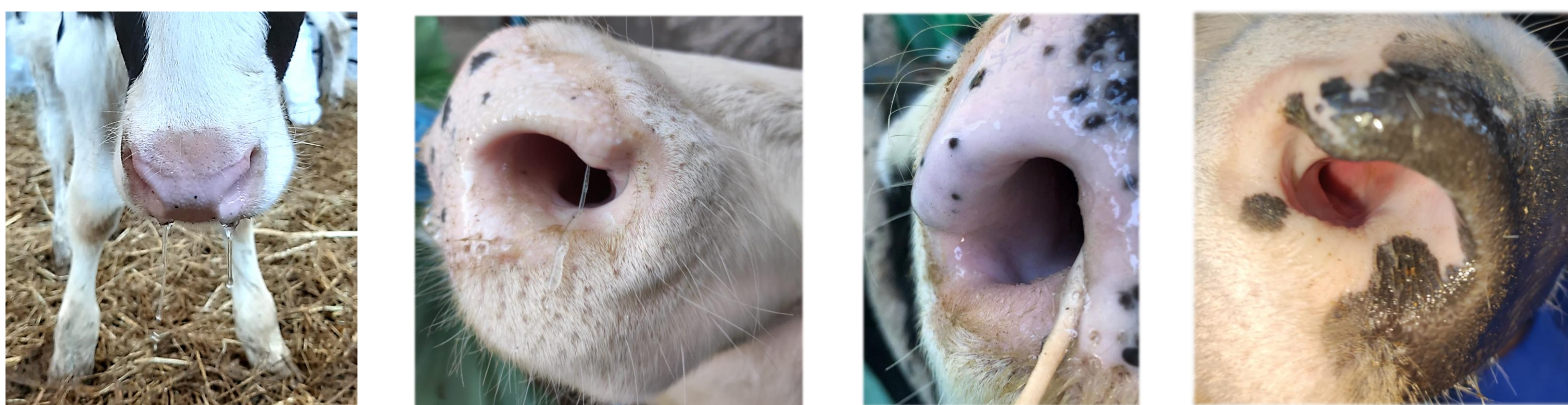
Foto 1: (A) Vitelli selezionati privi di NAs nei confronti di BoGHV-4, BuAHV-1 e BoAHV-1;
(B) Infezione sperimentale con BuAHV-1; (C) Infezione sperimentale con BoGHV-4.



- ✓ Dopo le infezioni sperimentali sono stati:
 - (i) osservati i segni clinici;
 - (ii) raccolti campioni di siero per le indagini sierologiche (ELISA, Virusneutralizzazione VN);
 - (iii) raccolti tamponi nasali per le analisi virologiche (Real-time PCR) [5-7].

RISULTATI

Foto 2: sintomatologia respiratoria nel gruppo A e B nei giorni post infezione (GPI).



- ✓ I vitelli di entrambi i gruppi hanno mostrato sintomatologia respiratoria fino a 7 GPI (Foto 2).

BIBLIOGRAFIA

1. Nandi, S. et al. 2009.
2. Toker E. B., et al. 2025.
3. Scheffer, C.M., et al., 2023.
4. Petrini S., et al., 2020.
5. WOA Manual for Terrestrial Animals, 2017.
6. Amoroso, M.G et al., 2013.
7. Wernike et al., 2011

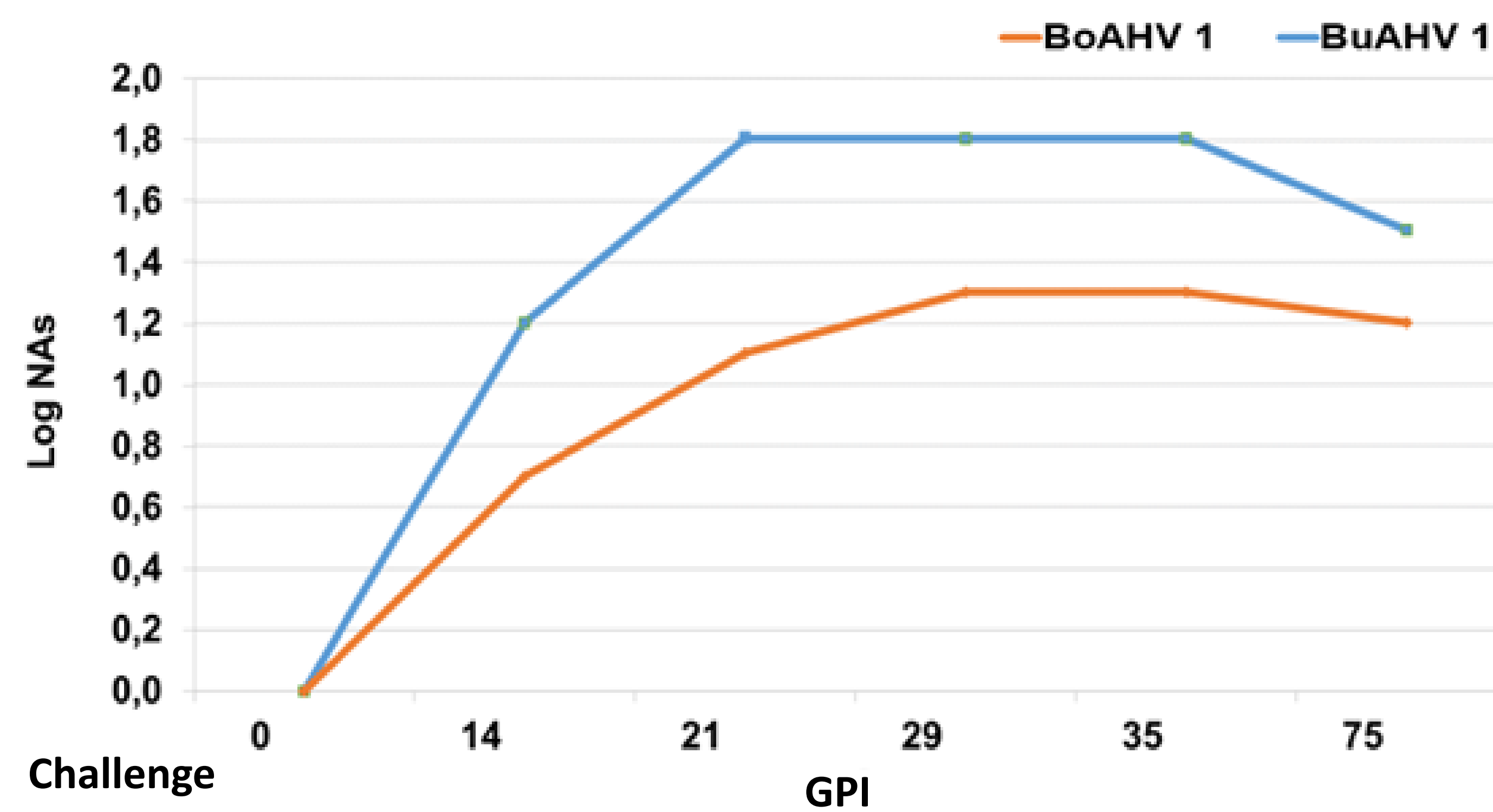
- ✓ Solo il gruppo B ha escreto BuAHV-1 fino al 14 GPI.
- ✓ PCR Triplex Real-time [7] ha rilevato solo BuAHV-1 nel gruppo B.
- ✓ Gli esami sierologici hanno mostrato una reattività crociata solo tra BuAHV-1 e BoAHV-1 (gruppo B) utilizzando tutti i test ELISA (Tabella 2).
- ✓ Per entrambi i gruppi sono state evidenziate diverse sensibilità diagnostiche nei test ELISA.
- ✓ La VN non ha confermato i risultati ottenuti con i test ELISA nel gruppo B (Figura 1).
- ✓ I controlli, in entrambe le infezioni, sono rimasti sempre negativi sia clinicamente sia a tutti i test diagnostici.

Tabella 2. Risposta anticorpale in ELISA dei vitelli del gruppo B infettati con BuAHV-1.

*GPI	gB-ELISA BoAHV-1 Competitiva			gE-ELISA BoAHV-1 Competitiva				ELISA BoAHV-1 Indiretta			ELISA BuAHV-1 Indiretta		BuAHV-1/BoAHV-1 ELISA Indiretta
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	L	M	N	
7	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
10	**2/3	3/3	3/3	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	2/3	3/3	3/3	Neg.		1/3
14	3/3	3/3	3/3	Neg.	Neg.	Neg.	2/3	3/3	3/3	3/3	3/3		1/3
21	3/3	3/3	3/3	Neg.	Neg.	1/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3		^3/3
28	3/3	3/3	3/3	Neg.	Neg.	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3		^3/3
35	3/3	3/3	3/3	Neg.	Neg.	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3		^3/3
75	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3		^3/3

* GPI, giorni post infezione; **N° animali positivi/ N° animali infetti; ^ Positivo al BuAHV-1. 1 vitello su 4 infettato con BuAHV-1, morto a 10 GPI per pericardite.

Figura 1: Risposta anticorpale in VN dei vitelli del gruppo B infettati con BuAHV-1.



GPI, giorni post infezione; la media dei titoli di NAs sono stati espressi su una scala logaritmica su base 10

CONCLUSIONI

- ✓ Suscettibilità dei vitelli all'infezione da BoGHV-4 e BuAHV-1 (segni clinici e positività sierologica).
- ✓ PCR Triplex Real-time può discriminare tra BuAHV1/BoAHV-1 [7].
- ✓ La cross-reattività sierologica può essere attribuita a un'omologia della glicoproteina gB tra BoAHV-1 e BuAHV-1, rispetto a BoGHV-4.
- ✓ Sono in corso prove di whole genome sequencing sui virus utilizzati in questo studio.