



Temperature resistance of Italian ASFV Genotypes I and II exposed for six months

R. Biccheri¹, M. Pela¹, A. Felici², A. Fulmini¹, A. Di Paolo³, C. Maresca², C. Montagnin¹, F. Feliziani¹, M. S. Beato^{*1}

¹ National Reference Laboratory for African Swine Fever (CEREP), Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati" (IZSUM), Italy

² Epidemiological Unit, Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati" (IZSUM), Italy

³ Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati" (IZSUM), Italy

* ms.beato@izsum.it

INTRODUZIONE

- La peste suina africana (PSA) è una malattia virale che colpisce i suini domestici e selvatici, causando una patologia emorragica simil-influenzale con una letalità eccezionalmente elevata;
- Il virus della PSA appartiene alla famiglia degli *Asfarviridae*, genere *Asfivirus*; E' un virus dsDNA con lunghezza del filamento tra 170 e 193 KB (Figura 1).
- La PSA è trasmessa per contatto diretto e indiretto con animali infetti, ingestione di prodotti contaminati (sia di origine animale che vegetale) e contatto con superfici e fomite contaminati che costituiscono carrier meccanici.
- La persistenza e la diffusione della PSA sono pertanto una funzione della resistenza del virus ai fattori fisici e chimici.
- La resistenza del virus a fattori ambientali, in particolare alla temperatura, è un elemento chiave nella dinamica della malattia.

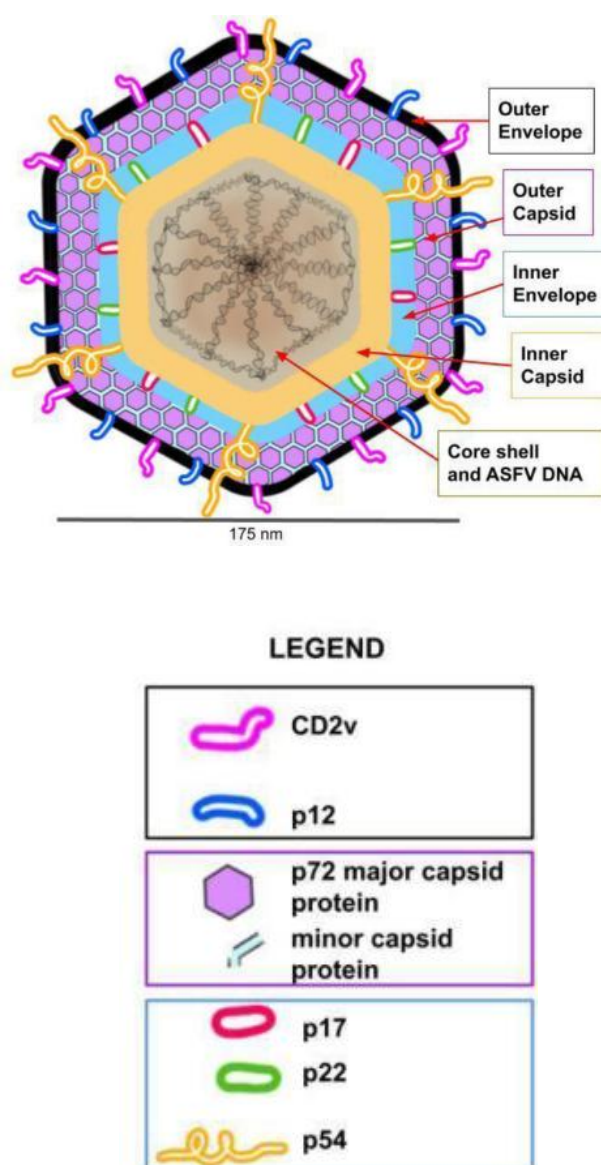


Figure 1. Schematic illustration of ASFV virion.

MATERIALI & METODI

I ceppi di ASFV e i tessuti selezionati per lo studio:

- BA71/V_2220** genotipo I, impiegato come ceppo di riferimento e adattato in laboratorio su colture cellulari continue;
 - Sardegna49**, genotipo I (GI), isolato in Sardegna nel 2008;
 - Genova_1432**, genotipo II (GII) isolato in Italia da un cinghiale nel 2022 (Genova).
 - Omogenato di milza di suino infettato sperimentalmente con virus **Armenia/07** (genotipo II).
- Virus sono stati esposti a 4°C, +20°C, e +37°C per un periodo di 6 mesi (180 giorni).
 - Il tessuto di milza di un suino infettato da Armenia/07 è stato testato per l'infettività del virus a +4 e +20 °C per sei mesi (180 giorni), seguendo lo stesso protocollo.
 - Per ogni tempo di esposizione, sono state preparate tre aliquote virali indipendenti e successivamente testate per l'infettività residua mediante titolazione virale su colture cellulari secondo la formula di Spearman-Kärber.
 - Le differenze nei titoli virali medi alle diverse temperature e tempi di esposizione sono state valutate utilizzando il test ANOVA a due vie, seguito dal test post hoc di Bonferroni per i confronti multipli.

OBIETTIVO

Indagare la resistenza di ceppi italiani di PSA (Peste Suina Africana) di genotipo I e II a tre diverse temperature per sei mesi al fine di aggiornare le conoscenze disponibili sulla stabilità del virus

RISULTATI

Tutti i virus esposti a +4°C, hanno mantenuto una infettività residua a 180 gg (6 mesi) di esposizione (Figura 2). In particolare, i titoli del ceppo BA71V_2220 sono risultati mediamente minori rispetto agli altri due (in particolare, valutando l'andamento nel tempo, da 120 fino a 180 gg), i titoli del virus Sardegna_49 sono risultati mediamente inferiori a quelli del virus Genova_1432 (in particolare a 150 e 180 giorni). Il Genova_1432 è risultato il più resistente a +4°C, seguito da Sardegna_49 e BA71V_2220 (Figura 2).

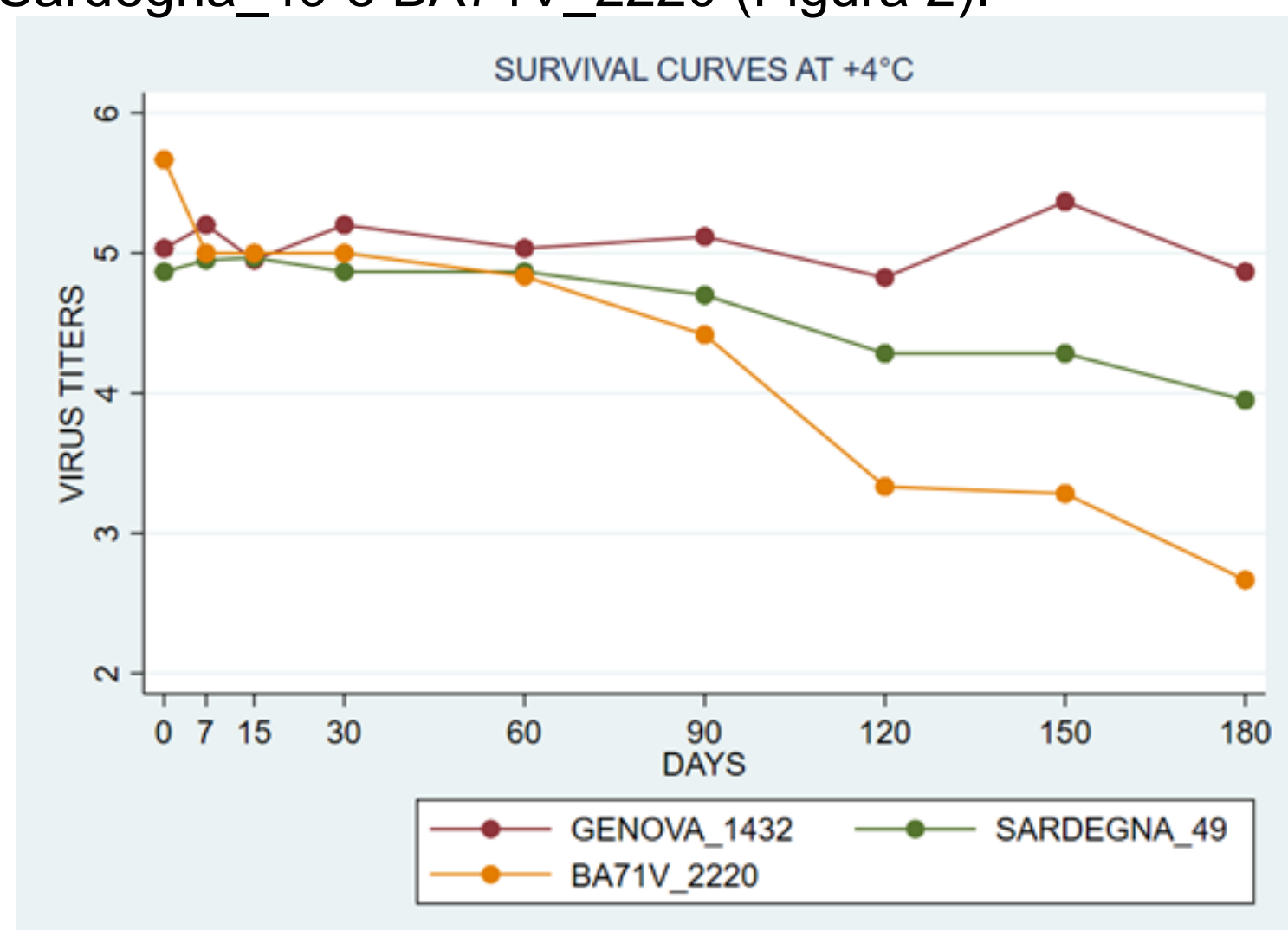


Figura 2: Andamento dei titoli virali espressi in Log dei virus BA71V_2220, Genova_1432, Sardegna_49 a +4°C per 180 giorni.

Alla temperatura di +20°C, sia il BA71/V_2220 che il Genova_1432 sono risultati completamente inattivati a 90 giorni (3 mesi) post esposizione, con un decadimento del titolo virale di 2 logaritmi tra T60 e T90 (figura 3A, 3B) mentre il Sardegna_49 è risultato ancora infettante dopo 15 giorni di esposizione (Figura 3C). Alla temperatura di +37°C, il BA71/V_2220 è risultato completamente inattivato a 90 giorni post esposizione, il Genova_1432 dopo 30 giorni mentre il Sardegna_49 dopo 15 giorni.

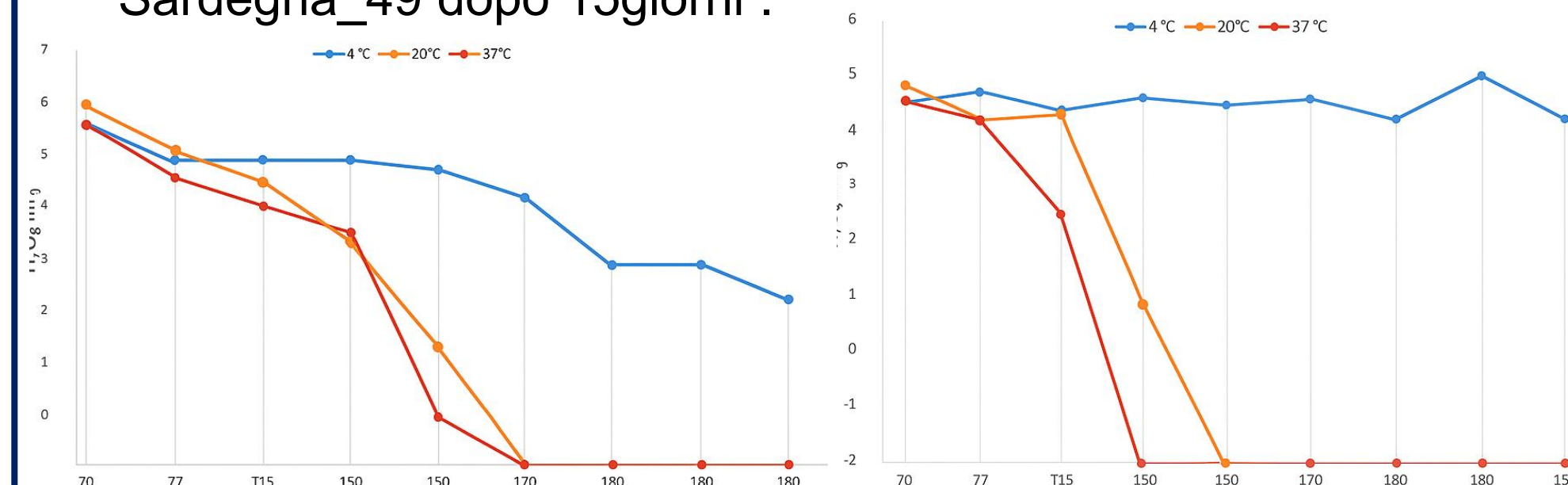


Figura 3A: Andamento dei titoli virali espressi in Log del virus BA71V_2220 alle Temperature +4°C, +20°C e +37°C.

Figura 3B: Andamento dei titoli virali espressi in Log del virus Genova_1432 alle Temperature +4°C, +20°C e +37°C.

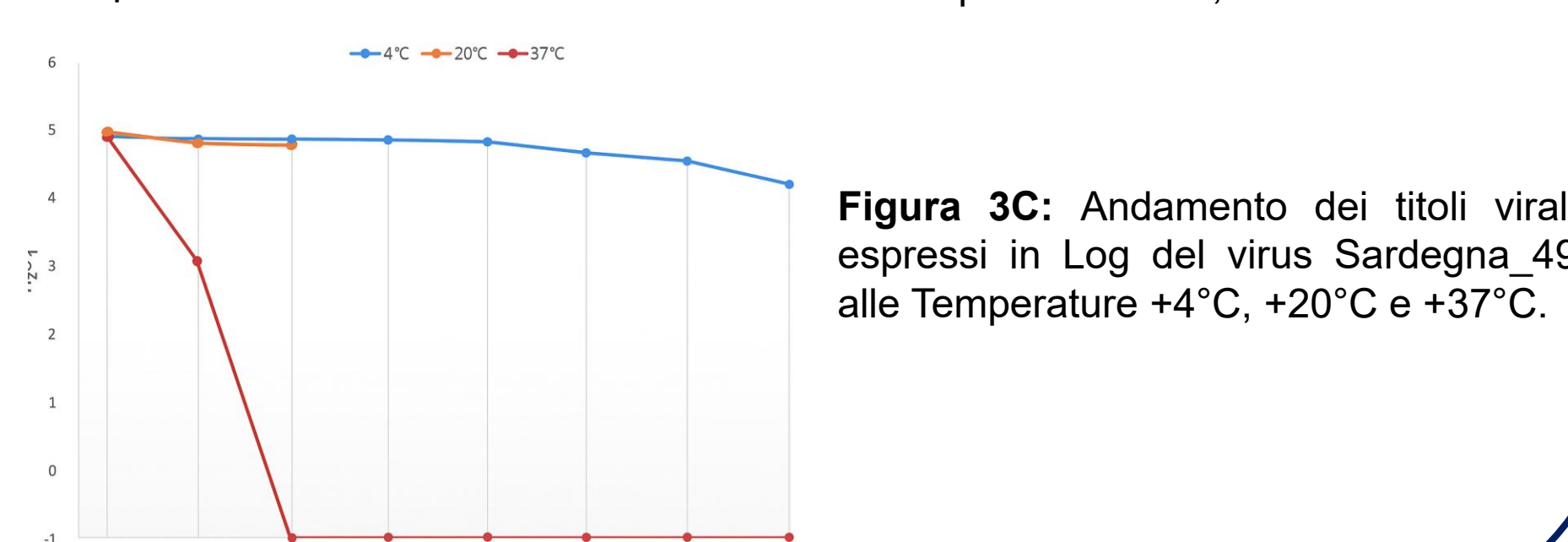


Figura 3C: Andamento dei titoli virali espressi in Log del virus Sardegna_49 alle Temperature +4°C, +20°C e +37°C.

L'omogenato di milza esposto a +20°C è risultato inattivato dopo 60 giorni di esposizione e ancora vitale a +4°C dopo 90 giorni ma non a 120 giorni post esposizione (Figura 4). I titoli delle aliquote esposte a +20°C sono risultati mediamente minori rispetto a quelli a +4°C (in particolare, sono risultate significative le differenze a 15, 30, 60 e 90 giorni).

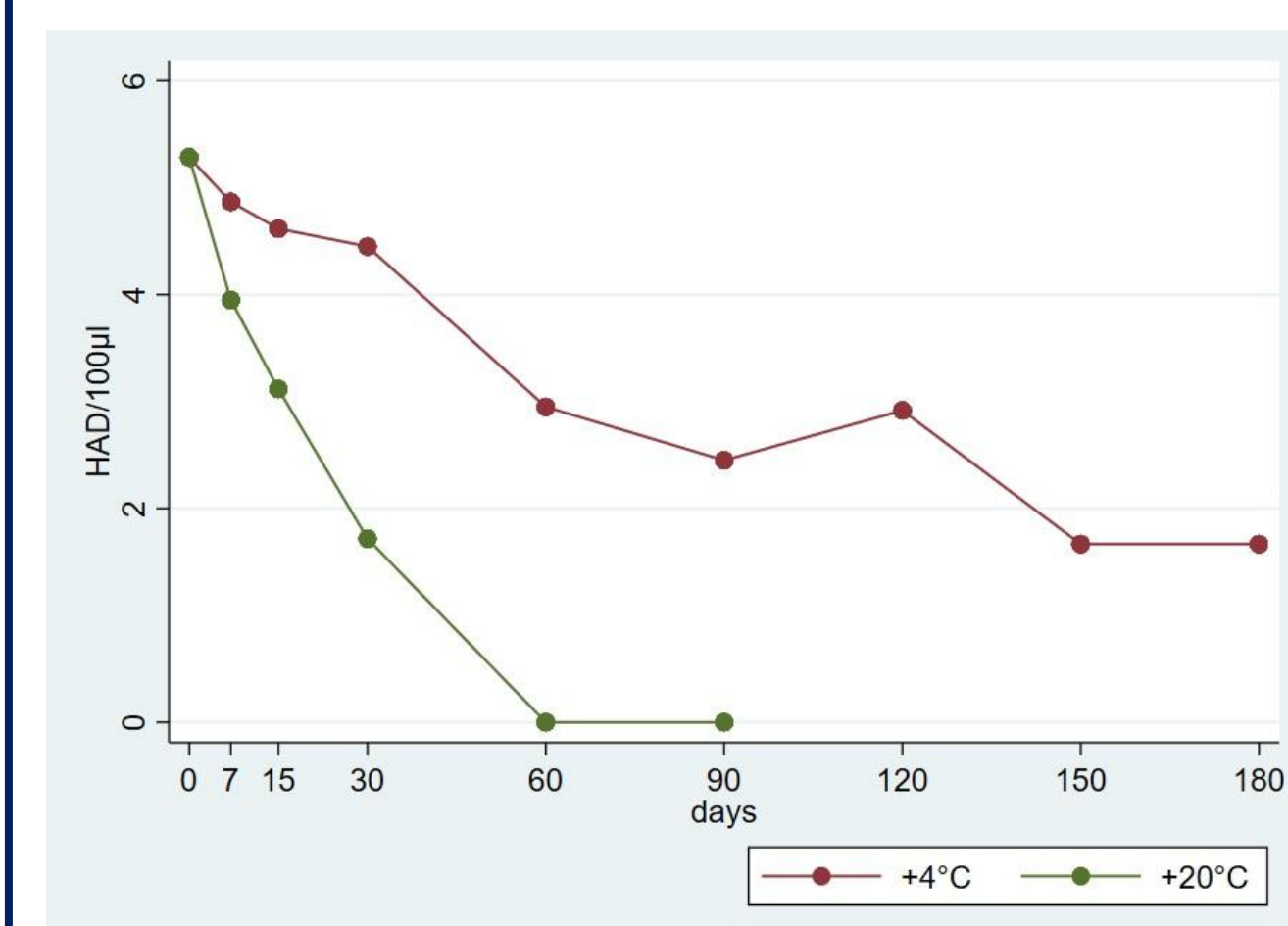


Figura 4: Andamento dei titoli virali nella milza a +4°C e +20°C per un periodo di 180 giorni.

CONCLUSIONI

- Lo studio ha prodotto dati sulla resistenza a diverse temperature di tre virus della PSA: due di genotipo I, di cui uno di campo (Sardegna_49) e l'altro di laboratorio (BA71V_2220) usato come ceppo di riferimento, e genotipo II (Genova22).
- La riduzione dell'infettività è risultata dipendente sia dal ceppo virale sia dal tempo di esposizione. Le curve di sopravvivenza hanno confermato una maggiore stabilità dei virus alle basse temperature ovvero +4°C e +20°C rispetto a +37°C. I risultati generati suggeriscono una maggiore resistenza del genotipo II rispetto al genotipo I in particolare alla temperatura di +37°C, che devono essere confermati testando ulteriori ceppi sia di genotipo I che II.
- Inoltre, confrontando le curve di inattivazione dei virus e dell'omogenato di milza a +20°C, che mima la temperatura ambientale, l'inattivazione completa è raggiunta al giorno 60, suggerendo pertanto una resistenza paragonabile tra virus in coltura e associato a materiale biologico. L'omogenato di milza rimane comunque positivo a 4°C con titoli virali rilevabili fino a 180 giorni.

BIBLIOGRAFIA

- Prodelalova J., Kavanova L., Salat J., Moutelikova R., Kobzova S., Krasna M., Vasickova P., Simek B., Petr Vaclavek P. Experimental Evidence of the Long-Term Survival of Infective African Swine Fever Virus Strain Ba71V in Soil under Different Conditions. *Pathogens* 2022 Jun 4;11(6):648.
- Mazur-Panasiuk N. & Woźniakowski G. Natural inactivation of African swine fever virus in tissues: Influence of temperature and environmental conditions on virus survival. *Vet Microbiol* 2020; 242, 108609.
- Davies K., Goatley L. C., Guinat C., Netherton C. L., Gubbins S., Dixon L. K., Reis A. L. Survival of African swine fever virus in excretions from pigs experimentally infected with the Georgia 2007/1 isolate. *Transboundary and Emerging Diseases* 2017; 64, 425–431.
- Fischer, M.; Mohnke, M.; Probst, C.; Pikalo, J.; Conraths, F.J.; Beer, M.; Blome, S. Stability of African swine fever virus on heat-treated field crops. *Transbound. Emerg. Dis.* 2020; 67, 2318–2323.