

# Indagine sierologica per *Pteropine Orthoreovirus* (genere *Orthoreovirus*, famiglia *Reoviridae*) in animali domestici e selvatici

Teresa Fogola<sup>1</sup>, Alessandra Leone<sup>1</sup>, Liana Teodori<sup>1</sup>, Gaetano Federico Ronchi<sup>1</sup>, Davide Lelli<sup>2</sup>, Giovanni Savini<sup>1</sup>, Alessio Lorusso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise 'G. Caporale', Teramo, Italia

<sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna 'Bruno Ubertini', Brescia, Italia

## Introduzione

La famiglia *Reoviridae* si compone di due sottofamiglie, *Sedoreovirinae* e *Spinareovirinae*. Quest'ultima include nove generi tra cui il genere *Orthoreovirus* composto da cinque differenti specie virali: *Mammalian Orthoreovirus* (MRV), *Avian Orthoreovirus*, *Baboon Orthoreovirus*, *Reptilian Orthoreovirus* e *Nelson Bay virus* conosciuta anche come *Pteropine Orthoreovirus* (PRV). Il primo virus di questa specie è stato identificato nel 1968 in Australia da pipistrelli della frutta (*Pteropus* spp.) anche conosciuti come volpi volanti (Figura 1). Questo virus venne chiamato *Nelson Bay virus*. Il potenziale zoonotico dei PRVs è stato evidenziato per la prima volta nel 2006 quando un ufficiale dell'esercito malesiano ha mostrato febbre e sintomatologia respiratoria in seguito a contatto con una volpe volante. Questo virus, chiamato *Melaka* e correlato geneticamente e antigenicamente al virus *Nelson bay* (3), ha mostrato capacità di trasmissione inter-umana in quanto poi riscontrato negli altri componenti del nucleo familiare. Successivamente sono stati attribuiti alla specie PRV i virus *Sikamat, Kampar, Miyazaki-Bali/2007, HK23629/07, HK46886/08, HK50842/10* (3, 4), isolati da pazienti con infezioni del tratto respiratorio, e i virus *Pulau, Xi River e Cangyuan* (1), isolati da volpi volanti. L'ultimo attribuito alla specie PRV in ordine cronologico è *Indonesia/2010*, isolato nei laboratori dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise (IZSAM) (Figura 2) da volpi volanti importate in Italia dall'Indonesia (3). In questo studio si è deciso di indagare se i PRVs abbiano circolato in Italia negli animali domestici e selvatici in seguito ad importazioni di animali esotici nel territorio nazionale. Inoltre, la ricerca degli anticorpi è stata effettuata, anche se in numero inferiore, da sieri di animali domestici e selvatici provenienti da Croazia, Namibia, Marocco, Mauritania e Bolivia, paesi con i quali l'IZSAM ha in corso progetti di collaborazione.

Figura 1.



Figura 2. A. Cellule African Green Monkey Kidney non infette. B. Cellule African Green Monkey Kidney infettate con Indonesia/2010.

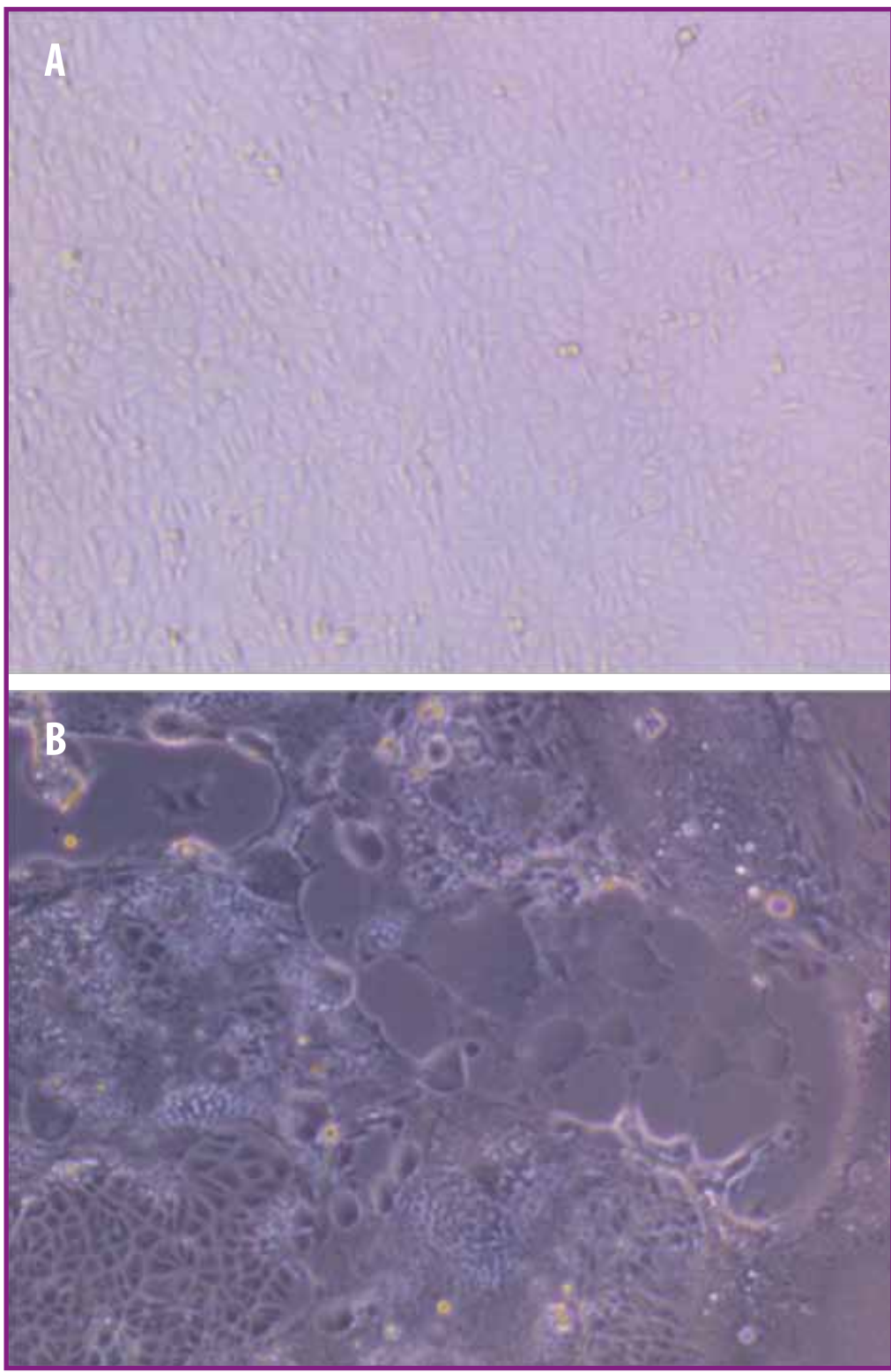
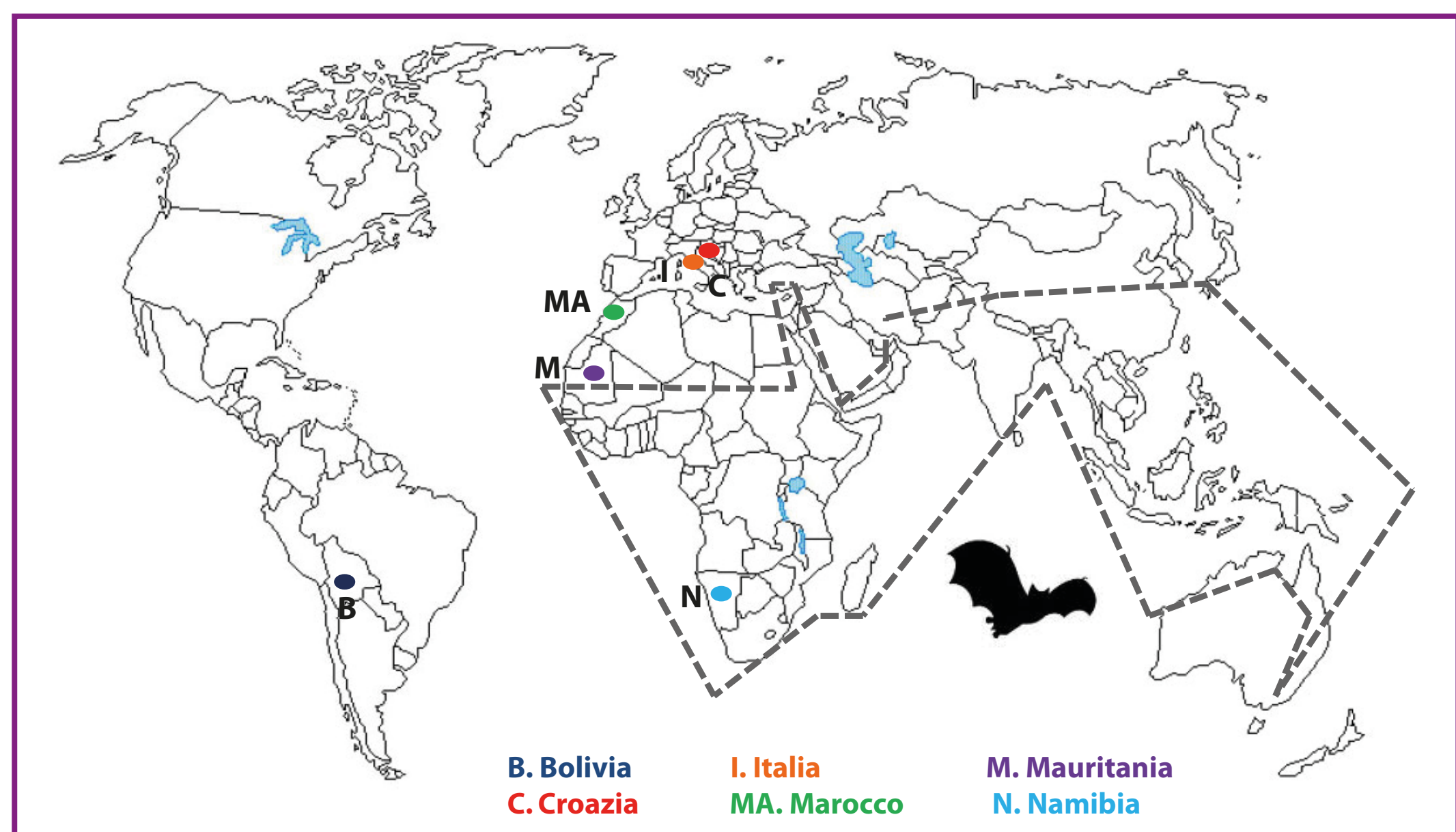


Figura 4. Sieri esaminati per aree geografiche e specie.

## Risultati e discussione

Nonostante la quasi assoluta certezza che le volpi volanti, serbatoio di PRVs, siano assenti dalle aree esaminate, ad eccezione per alcune aree della Namibia e della Mauritania (Figura 6), si è deciso comunque di investigare se questi virus abbiano mai circolato tra gli animali domestici e selvatici. Inoltre non si poteva escludere che i pipistrelli che vivono nel nostro territorio possano ospitare i PRVs così come avviene per i MRVs (2). Tutti i sieri esaminati sono risultati negativi a PRVs e non si sono evidenziate cross-reazioni tra PRV e i tre MRVs considerati in questo studio. In base ai risultati sierologici ottenuti non si è quindi riscontrata alcuna circolazione di questi virus nelle specie animali testate (Figura 4). Rimane però ancora da valutare se i PRVs siano in grado di stimolare una risposta immunitaria nelle specie animali testate in questo studio e se i pipistrelli che vivono nelle nostre aree siano serbatoio di PRVs. Sono quindi necessarie ulteriori indagini epidemiologiche da effettuare testando sieri provenienti da una maggiore variabilità di specie animali e anche sieri umani. Infatti i PRVs sono in grado di causare infezioni del tratto respiratorio nell'uomo e per questa ragione i medici dovrebbero considerare questi patogeni nei protocolli diagnostici in particolare con pazienti che hanno soggiornato in aree popolate da volpi volanti.

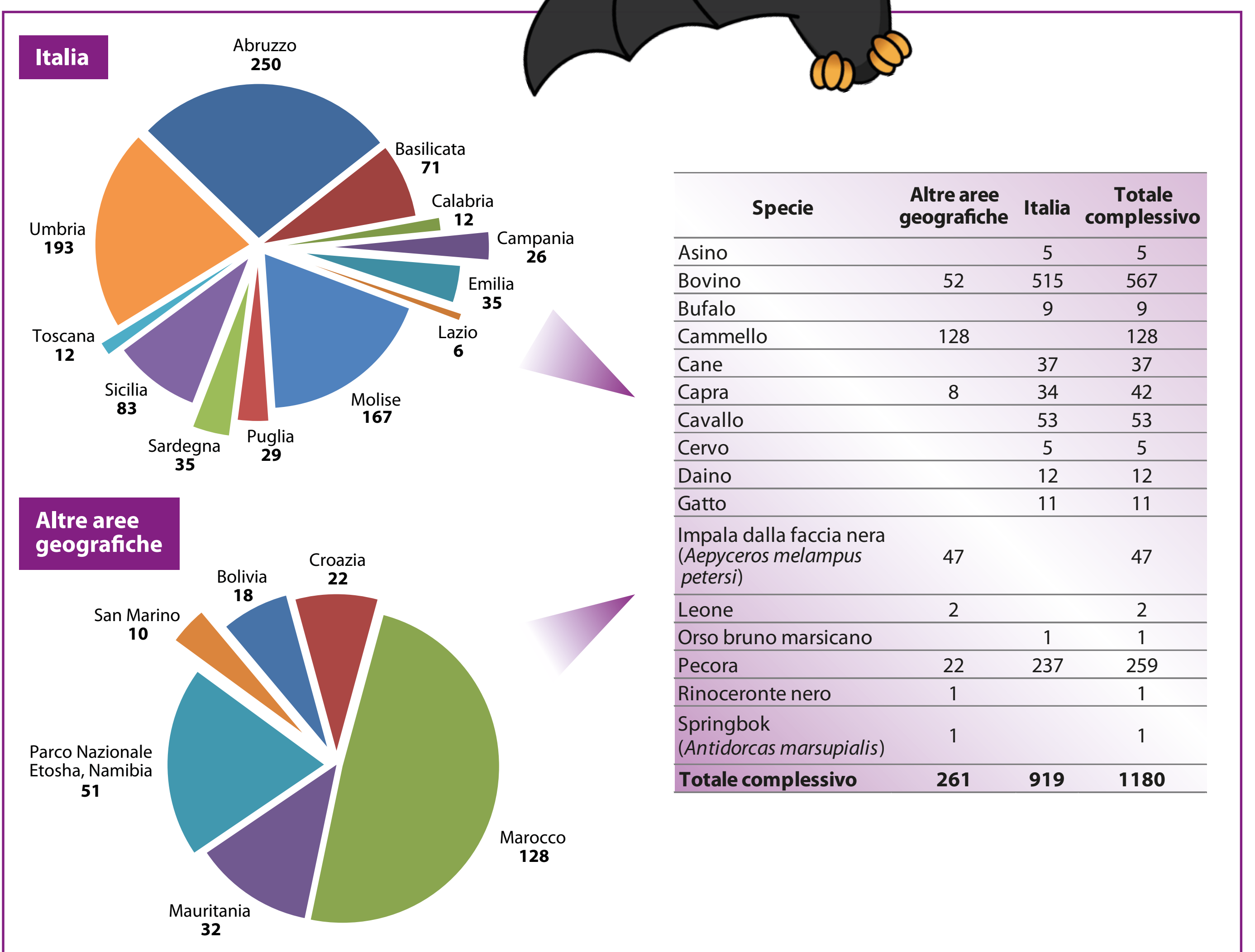
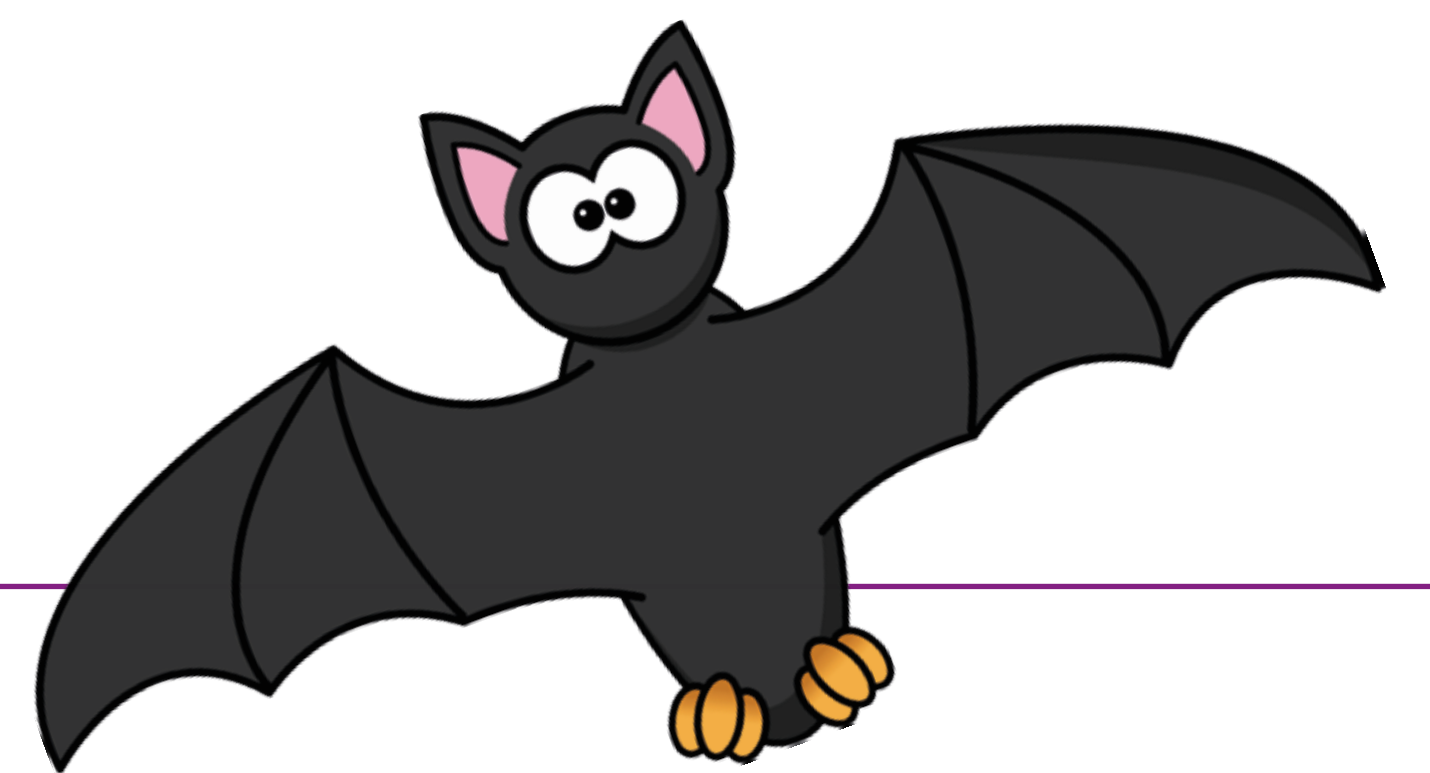
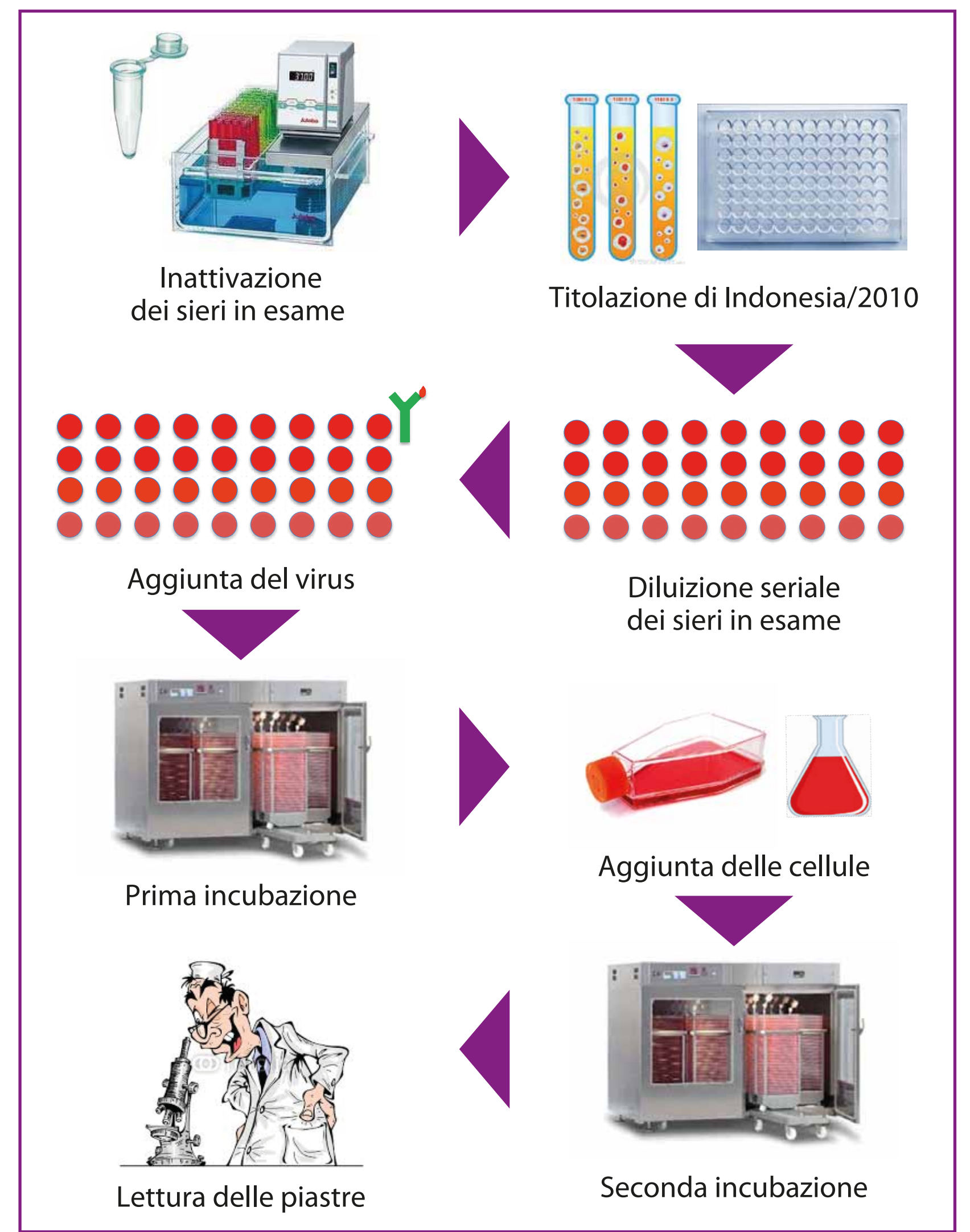
Figura 6. Distribuzione geografica delle volpi volanti.



## Materiali e metodi

Mediante il test di siero-neutralizzazione (SN) (Figura 3), sono stati esaminati un totale di 1180 campioni di siero di diverse specie di animali domestici e selvatici provenienti dall'Italia o da altre aree geografiche come illustrato in Figura 4. Il ceppo Indonesia/2010 è stato inattivato con  $\beta$ -propiolattone (2% v/v) dopo essere stato propagato su cellule Vero (African green monkey kidney) ed inoculato in conigli (Figura 5) per la produzione di siero iper-immune utilizzato in seguito come controllo positivo per il test sierologico. Sono state inoltre valutate potenziali cross-reazioni con i Mammalian Orthoreovirus MRV1 Lang, MRV2 Jones e MRV3 Abney, testando il ceppo Indonesia/2010 verso i loro rispettivi sieri iper-immuni e viceversa. I sieri da testare, inattivati a 56°C, sono stati diluiti in base 2 in piastre da microtitolo fino alla diluizione 1:256 e messi a contatto con l'antigene al titolo di 100 dosi infettanti il 50% delle tessute colture (TCID<sub>50</sub>) per 1 ora a 37°C. Sono state poi aggiunte cellule Vero (10<sup>5</sup> cellule/ml) e, dopo 5 giorni di incubazione a 37°C con il 5% di CO<sub>2</sub>, le piastre sono state osservate al microscopio ottico per evidenziare la presenza di effetto citopatico. Il titolo anticorpale è stato definito come la più alta diluizione in grado di mostrare il 100% di neutralizzazione.

Figura 3.



## Bibliografia

- Hu T., Qiu W., He B., Zhang Y., Yu J., Liang X., Zhang W., Chen G., Zhang Y., Wang Y., Zheng Y., Feng Z., Hu Y., Zhou W., Tu C., Fan Q., Zhang F. 2014. Characterization of a novel orthoreovirus isolated from fruit bat, China. *BMC Microbiol*, **14**, 293.
- Lelli D., Moreno A., Lavazza A., et al. 2012. Identification of Mammalian Orthoreovirus type 3 in Italian bats. *Zoonoses Public Health*, **60**, 84-92.
- Lorusso A., Teodori L., Leone A., Marcacci M., Mangone I., Orsini M., Capobianco-Dondona A., Cammà C., Monaco F., Savini G. 2015. A new member of the Pteropine Orthoreovirus species isolated from fruit bats imported to Italy. *Infect Genet Evol*, **30**, 55-58. doi: 10.1016/j.meegid.2014.12.006.
- Wong A.H., Cheng P.K.C., Lai M.Y.Y., Leung P.C.K., Wong K.K.Y., Lee W.Y., Lim W.W.L. 2012. Virulence potential of fusogenic orthoreoviruses. *Emerg Infect Dis*, **18**, 944-948.

Figura 5.

