

Feline Morbillivirus identificato nelle urine di un gatto anziano e nefropatico nella città di Teramo

Lorusso A.^{1*}, Marcacci M.¹, Di Tommaso M.², Di Felice E.¹, Zaccaria G.¹, Mangone I.¹, Luciani A.², Aste G.², Boari A.², Savini G.¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", Teramo, Italy

²Ospedale Veterinario Universitario Didattico dell'Università degli Studi di Teramo, Teramo, Italy



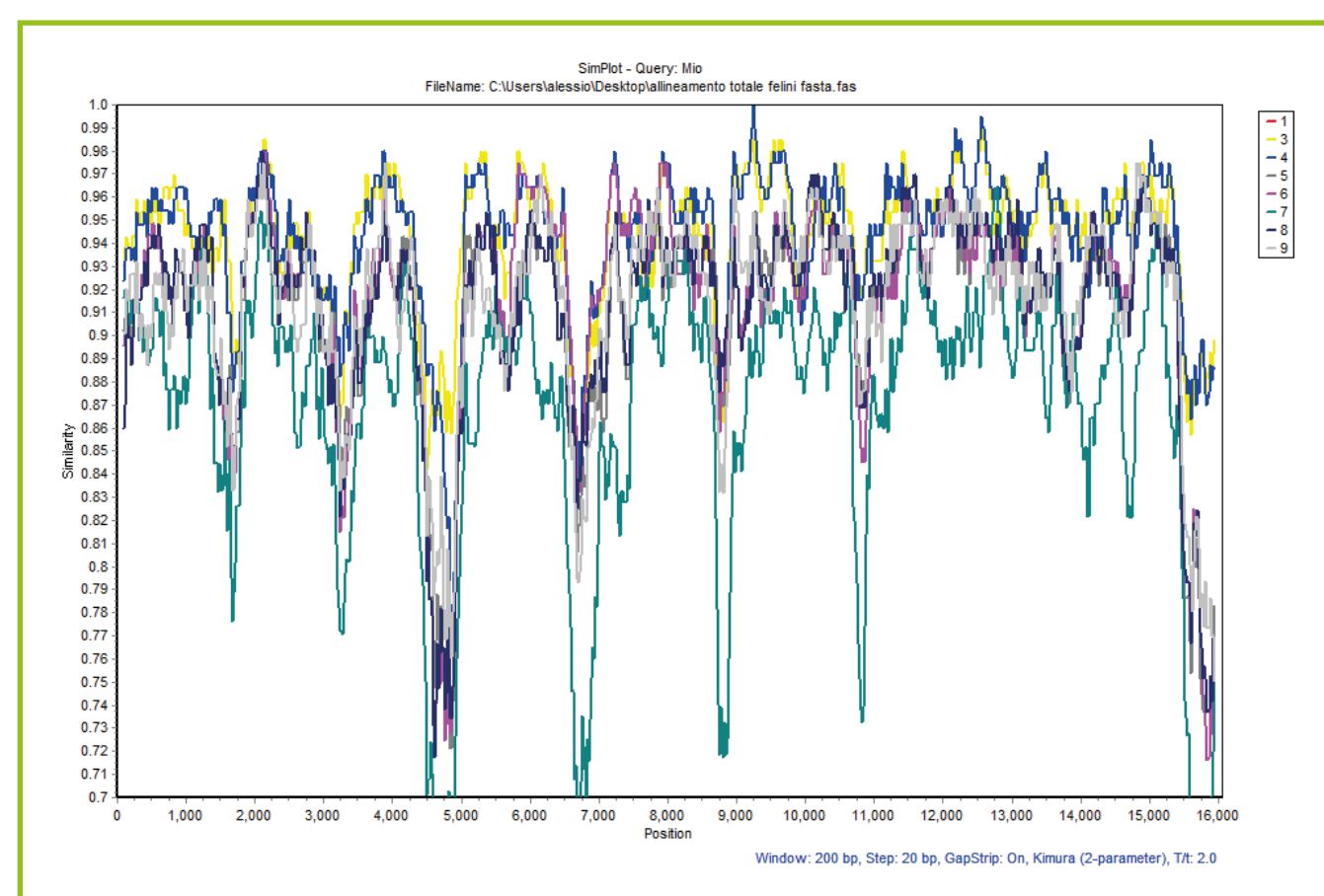
Keywords

Feline morbillivirus,
Nephropathic cat,
Next generation
sequencing.

Caso clinico

Un gatto comune europeo, maschio, Piuma, di circa 15 anni di età e 2,3 kg di peso corporeo veniva riferito per un sospetto trauma automobilistico il 29 giugno 2015 dal Servizio Veterinario della ASL di Teramo all'Ospedale Veterinario Universitario Didattico dell'Università degli Studi di Teramo. Il gatto presentava depressione del sensorio, dispnea caratterizzata da un respiro superficiale e prevalentemente addominale, marcata disidratazione (8%), lieve ipotermia (37°C), vomito e un carente stato di nutrizione (BCS 1/5). La valutazione ecografica d'emergenza metteva in evidenza la presenza di materiale fluido a carico del mediastino e delle pleure e segni ecografici compatibili con una probabile malattia renale cronica bilaterale e una grave colangite. L'esame emato-biochimico rilevava marcata linfopenia (330/μL, range di riferimento 1.500-7.000/μL), lieve ipoproteinemia (5,26 g/dL, range di riferimento 5,5-8 g/dL), ipoalbuminemia (1,8 g/dL, range di riferimento 2,6-3,8 g/dL), moderato aumento dell'AST (93 U/L, range di riferimento 10-40 U/L) e degli acidi biliari basali (12,6 μmol/L, range di riferimento < 6 μmol/L), moderata diminuzione delle fruttosammine (174 μmol/L, range di riferimento 210-360 μmol/L), dei trigliceridi (36 mg/dL, range di riferimento 40-150 mg/dL) e del magnesio (1,35 mg/dL, range di riferimento 1,6-3,6 mg/dL). La valutazione del T4 sierico basale risultava < 1 μg/dL (range di riferimento 1-4 μg/dL), mentre l'esame delle urine effettuato per cistocentesi evidenziava un peso specifico (ps) di 1015, proteinuria (rapporto proteina urinaria/creatinina urinaria (PU/CU)= 4.6) e sedimento inattivo. A distanza di 14 giorni il paziente continuava a presentare PU/PD associate ad un peso specifico urinario isostenurico (ps 1010), ad una riduzione della proteinuria (PU/CU = 0.7) che permetteva di confermare l'iniziale sospetto diagnostico di una malattia renale cronica non azotemica e proteinurica, associata ad una probabile patologia epatobiliare.

Figura 6. SimPlot analysis.



Feline Morbillivirus in Germania

Contemporaneamente al nostro studio, 4 sequenze parziali del gene L sono state ottenute dalle urine di gatti nefropatici in Germania. Nello stesso studio, sono stati scoperti nuovi feline paramyxovirus associati a malattia renale cronica. La % di identità nucleotidica tra queste 4 sequenze con tutti i FmPoVs disponibili è riportata nella Figura 7.

Figura 7.

		Percent Identity													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Divergenza	1	■	94.1	85.8	85.3	90.6	90.2	88.3	88.3	89.7	89.5	92.4	89.7	91.9	92.4
	2	5.4	■	82.6	82.4	89.7	88.3	86.8	87.3	87.8	87.5	97.1	88.3	96.6	97.1
	3	16.1	19.7	■	99.0	84.0	83.9	83.4	82.4	83.9	83.6	80.9	83.4	80.9	80.9
	4	16.4	19.7	0.7	■	84.0	84.4	83.4	82.4	83.9	83.6	81.4	83.4	81.4	81.4
	5	9.9	10.3	16.3	16.7	■	93.6	95.1	95.1	93.9	93.6	89.5	94.4	89.0	89.5
	6	8.3	9.9	16.2	15.8	5.2	■	94.5	94.0	98.8	98.6	90.9	98.8	90.9	90.9
	7	10.7	11.1	16.9	17.2	3.6	5.9	■	98.1	94.5	94.2	89.7	94.5	89.7	89.7
	8	10.7	11.1	18.2	18.6	3.6	6.5	2.0	■	94.0	93.8	90.2	94.0	89.7	90.2
	9	8.9	10.5	16.2	16.5	4.9	1.2	5.9	6.5	■	99.3	90.6	99.5	90.6	90.6
	10	9.2	10.8	16.5	16.8	5.2	1.5	6.2	6.8	0.7	■	90.4	99.3	90.4	90.4
	11	5.8	0.0	20.3	19.9	10.0	10.2	11.7	11.0	10.5	10.8	■	91.1	99.5	100.0
	12	8.9	9.9	16.8	17.2	4.4	1.2	5.9	6.5	0.5	0.7	9.9	■	91.1	91.1
	13	6.3	0.5	20.3	19.9	10.6	10.2	11.7	11.7	10.5	10.8	0.5	9.9	■	99.5
	14	5.8	0.0	20.3	19.9	10.0	10.2	11.7	11.0	10.5	10.8	0.0	9.9	0.5	■

Diagnosi virologica

Il sangue e il campione di liquido pleurico sono risultati negativi per FIPV, mentre il campione di sangue è risultato negativo per FIV e FeLV. Leishmania spp e Leptospira spp non sono stati rilevati e la crescita batterica da urina è risultata assente. RNA virale è stato purificato dalle urine e testato per la presenza di Morbillivirus tramite un RT-PCR classica per una porzione di 170 paia di basi conservata del gene codificante la proteina L (Figura 1).

Amplificazione dell'intero genoma di Feline Morbillivirus

Tramite Next Generation Sequencing (Figura 1), è stato possibile ottenere l'intero genoma di Piuma/2015 di 16050 paia di basi (Figura 1). La presenza del virus è stata infatti dimostrata ampiamente in Cina e Giappone. Tuttavia, sequenze parziali del gene codificante la proteina L d.

Figura 2. Tecnica Sipsa, indispensabile per l'amplificazione dell'intero genoma del virus.

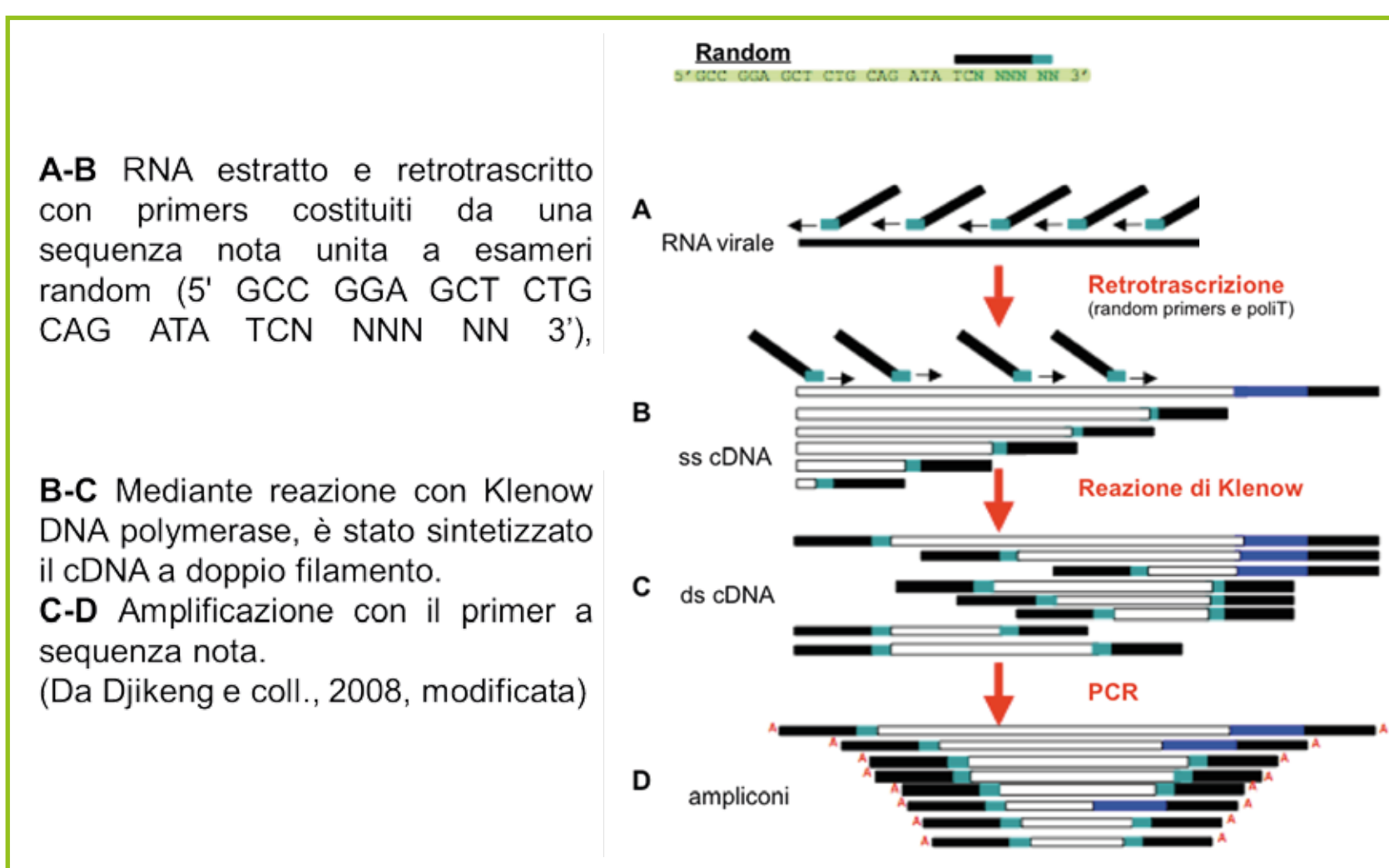


Figura 4. Rooted ML analysis of the whole genome of all FmPoV available on line.

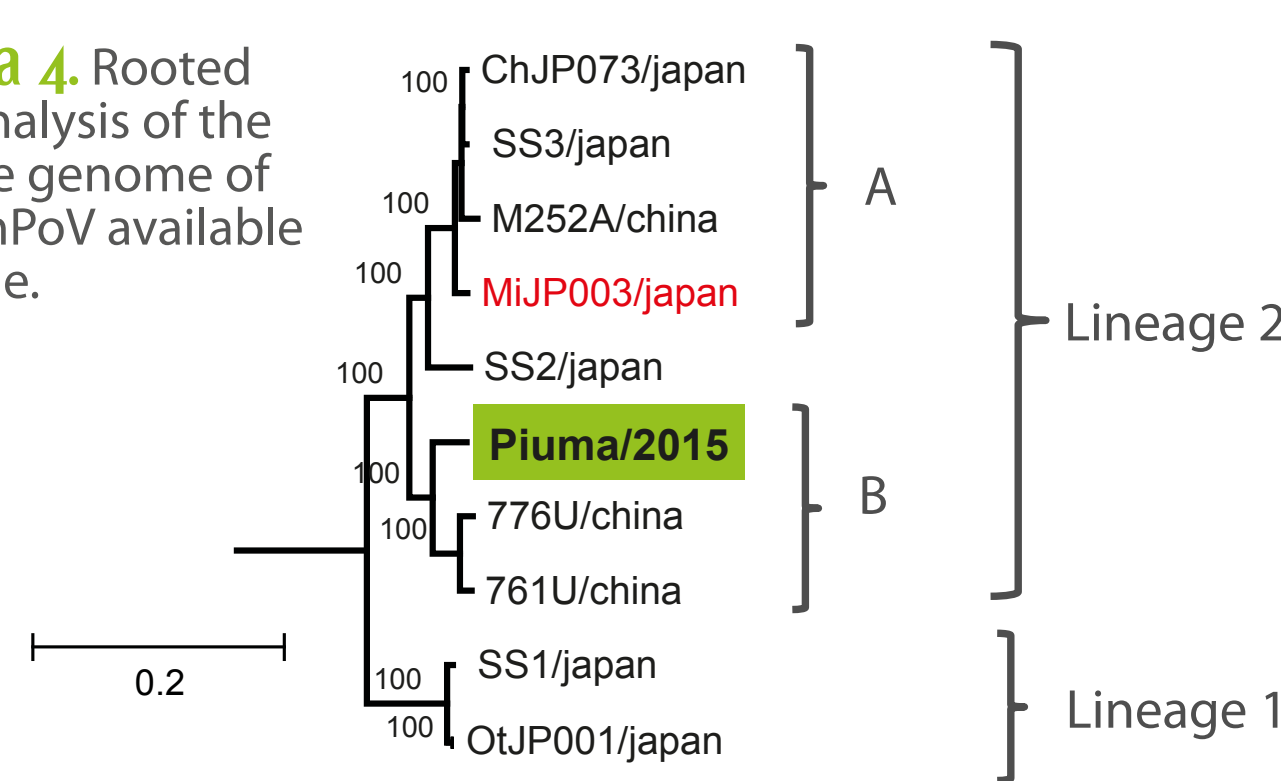
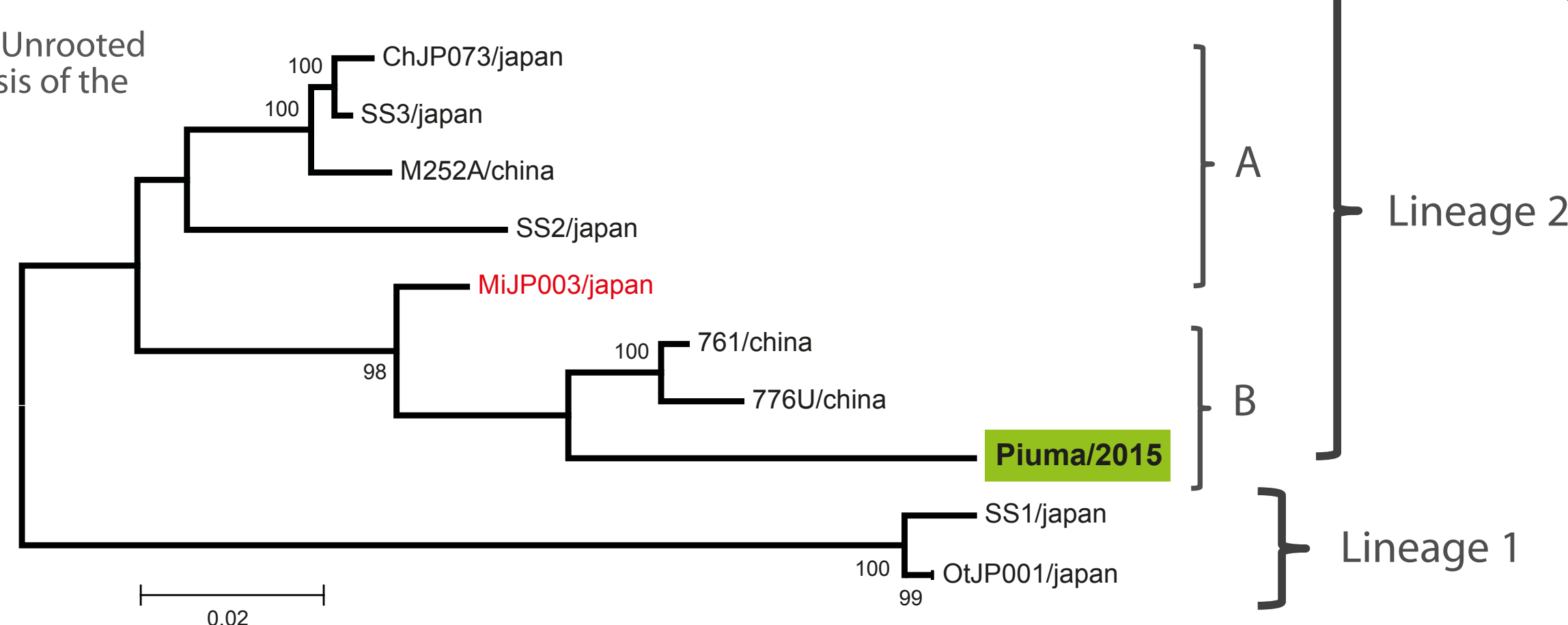


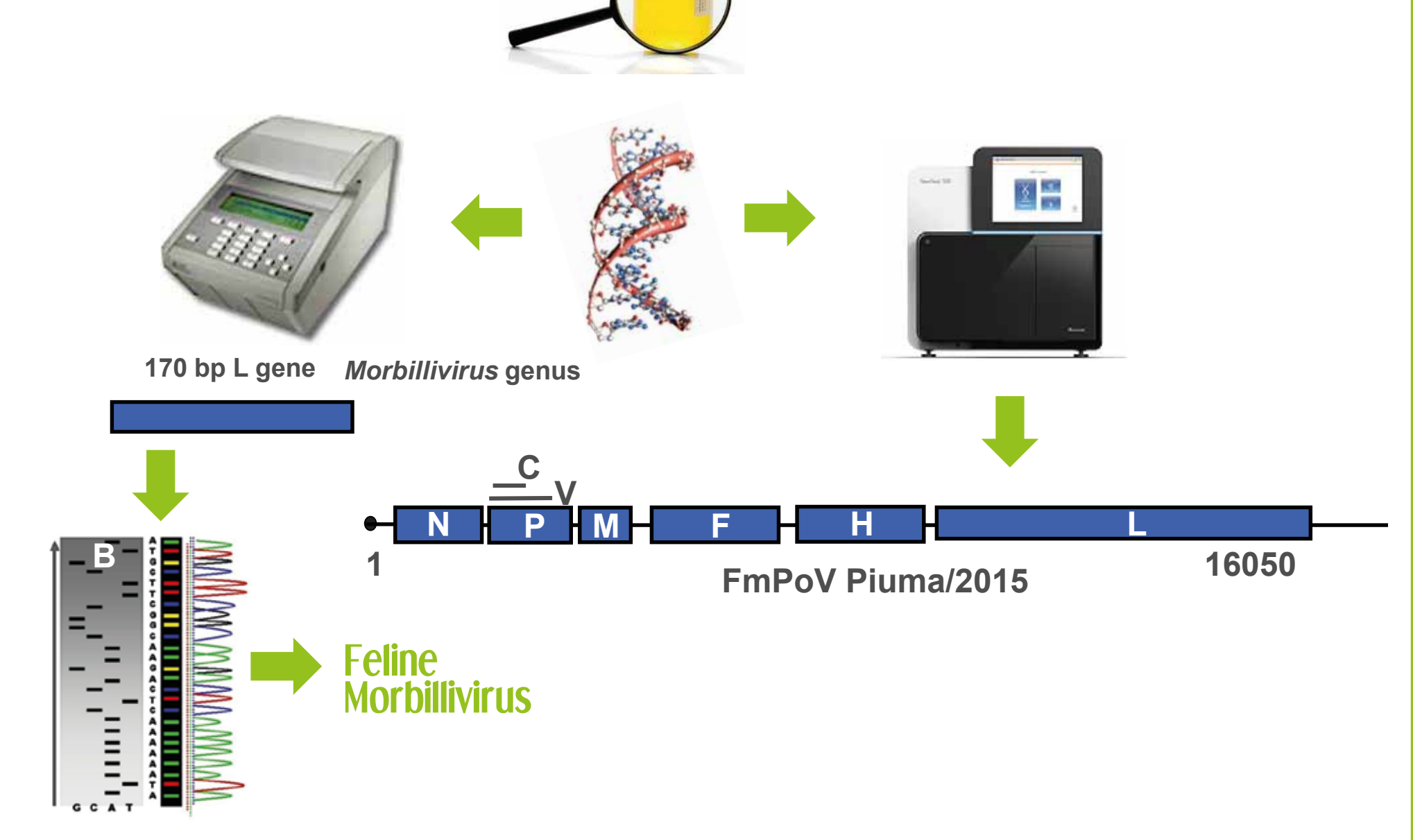
Figura 5. Unrooted ML analysis of the H gene.



Conclusioni

- ▶ Per la prima volta in Europa è stato identificato e sequenziato per l'intero genoma il morbillivirus felino in un gatto anziano e nefropatico.
- ▶ FmPoV è stato recentemente annoverato tra i responsabili di tubulo-nefrite interstiziale.
- ▶ Sulla base delle sequenze complete disponibili in GenBank, FmPoVs clusterizzano in due lineages, 1 e 2.
- ▶ Ulteriori indagini epidemiologiche e molecolari sono indispensabili per stabilire il ruolo e diffusione del virus nella popolazione felina europea.
- ▶ Il gatto, ancora in vita, presenta RNA virale nelle urine a distanza di quasi tre mesi dalla prima segnalazione.

Figura 1. Diagnosi di infezione da Morbillivirus.

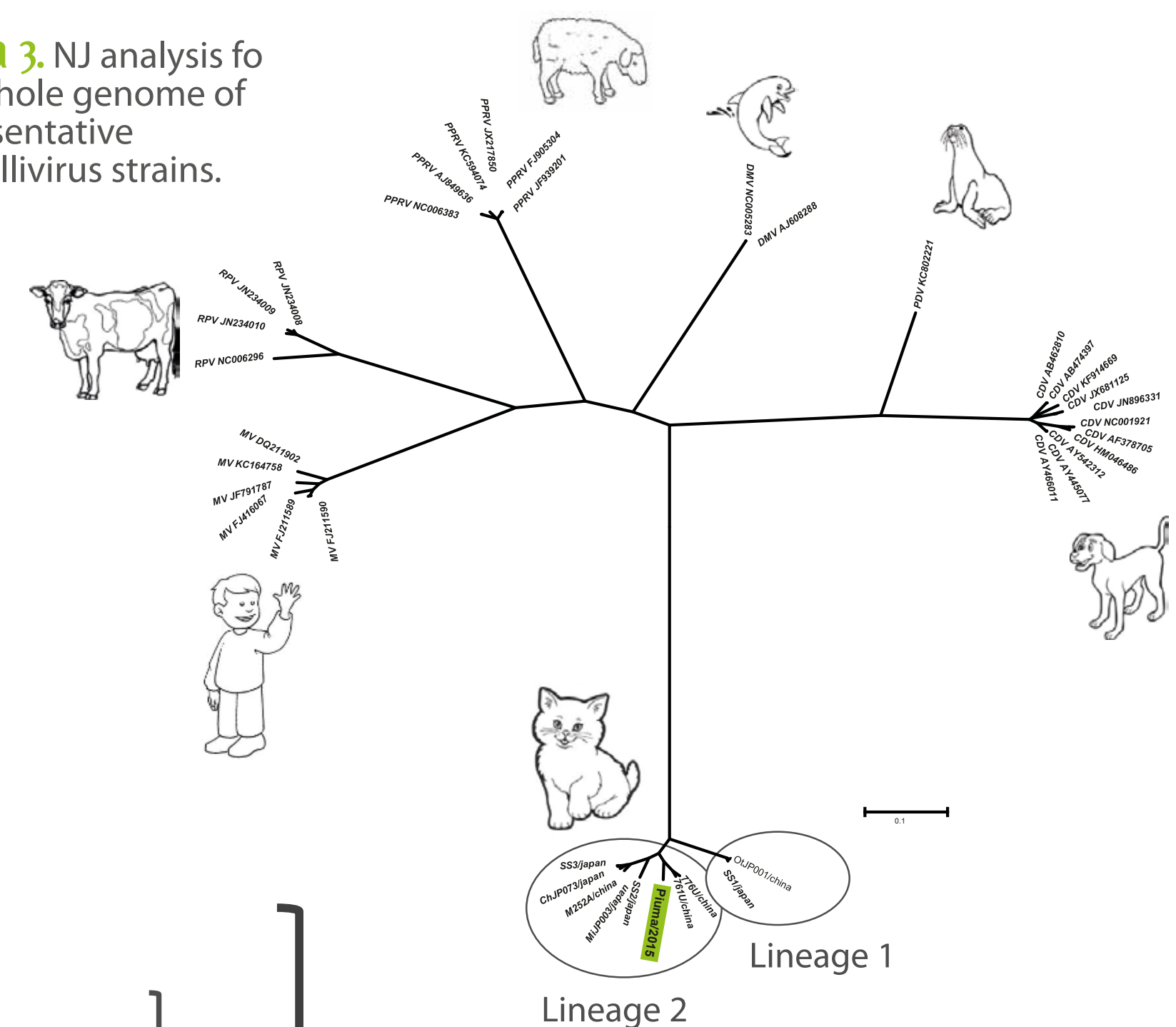


Filogenesi

Piuma/2015 appartiene al genere Morbillivirus, nella nuova specie Feline Morbillivirus (Figura 3). Le analisi filogenetiche condotte sull'intero genoma (Figura 3 e 4) e sul gene codificante la proteina H (Figura 5, emoaagglutinina) suggeriscono la presenza di almeno due lineage virali, 1 e 2. Piuma/2015 è inclusa nel lineage 2B insieme alle prime sequenze di FmPoV disponibili da Hong Kong (Cina).

Piuma/2015 non è il risultato di fenomeni di ricombinazione come invece dimostrato per il ceppo giapponese MiJP003 (Figura 4 e 5), originato da due virus parentali di diverso lineage.

Figura 3. NJ analysis for the whole genome of representative Morbillivirus strains.



Bibliografia

- ▶ Lorusso A., Di Tommaso M., Di Felice E., Zaccaria G., Luciani A., Marcacci M., Aste G., Boari A., Savini G. 2015. First report of feline morbillivirus in Europe. *Vet Ital*, 2015 Aug 12. doi: 10.12834/Vett.833.4136.2 [Epub ahead of print].
- ▶ Sieg M., Heenemann K., Rückner A., Burgener I., Oechtering G., Vahlenkamp T.W. 2015. Discovery of new feline paramyxoviruses in domestic cats with chronic kidney disease. *Virus Genes*, 51 (2), 294-297. doi: 10.1007/s11262-015-1232-7. Epub 2015 Aug 12.
- ▶ Park E.S., Suzuki M., Kimura M., Maruyama K., Mizutani H., Saito R., Kubota N., Furuya T., Mizutani T., Imaoka K., Morikawa S. 2014. Identification of a natural recombination in the F and H genes of feline morbillivirus. *Virology*, 468-470, 524-531. doi: 10.1016/j.virol.2014.09.003.