

2. ENCEFALITE GIAPPONESE

Il virus dell'encefalite giapponese (EG), appartenente alla famiglia *Flaviviridae* e al gruppo antigenico West Nile, è l'agente responsabile di encefalite nell'uomo e nei cavalli e di aborto, mortalità neonatale e mummificazione nei suini.

L'infezione è trasmessa da zanzare e ha la massima prevalenza nel periodo che intercorre tra l'estate inoltrata e l'autunno.

In commercio, sono disponibili vaccini inattivati per i cavalli e vaccini attenuati per le scrofe gravide.

Sintomatologia

Nei cavalli i sintomi sono difficilmente differenziabili da quelli causati dai virus delle encefalomieliti americane. La EG si può presentare in forma subclinica, subacuta, acuta e letale.

La forma subclinica è caratterizzata da lieve ipertermia che dura 24-48 ore e da depressione. L'animale guarisce in pochi giorni.

La forma subacuta si manifesta con ipertermia e lieve interessamento del sistema nervoso centrale, caratterizzato da fenomeni paralitici o eccitativi: paralisi del treno posteriore, perdita dei riflessi cutanei, iperestesia, inquietudine, barcollamento e sudorazione. I segni clinici scompaiono quando la temperatura torna nella norma, i cavalli guariscono in circa due settimane.

La forma acuta è caratterizzata da ipertermia che dura 3-4 giorni, disfagia, disuria e costipazione. Anche in questo caso si distingue una forma paralitica e una eccitativa. Nella prima, il cavallo presenta, oltre ai sintomi già descritti, ptosi della palpebra, del labbro inferiore e del padiglione auricolare, difficoltà di deglutizione, disturbi uditivi e visivi, narcolessi. L'animale ha difficoltà respiratoria e non riesce a stare in piedi. Nella forma eccitativa, i sintomi convulsivi si alternano a quelli depressivi. Si notano inoltre digrignamento dei denti e scialorrea. I sintomi durano 2-3 settimane, l'esito non è sempre letale, la completa guarigione è lenta e può richiedere 1-2 mesi.

Nella forma letale i sintomi sono gli stessi della forma acuta; negli stadi terminali si riscontrano: nistagmo, midriasi, aggressività, sudorazione,

movimenti natatori quando l'animale è disteso al suolo (Figura 9) e convulsioni.

Nelle scrofe non gravide, l'unico sintomo a seguito di infezione primaria è una lieve ipertermia; nelle gravide, le anomalie variano a seconda dello stadio di gestazione in cui si verifica l'infezione. Negli stadi iniziali della gravidanza, la maggior parte dei feti viene riassorbita, alcuni neonati appaiono normali ma il loro numero è ridotto.

Se l'infezione avviene negli stadi avanzati, si osserva mummificazione fetale e mortalità neonatale, alcuni neonati possono presentare sintomi di encefalite.

Nei suinetti privati del colostro, nei 2-3 giorni successivi l'infezione, si osservano ipertermia, depressione e anoressia, alcuni possono presentare lievi segni di paralisi del treno posteriore e convulsioni.

Nei verri si osservano iperemia, edema, ed emorragie a carico dei testicoli (Figura 10), idrocele (Figura 11), atrofia dell'epididimo, oligospermia o azospermia.

Nell'uomo i sintomi clinici, più frequentemente osservati, sono in ordine decrescente: febbre, emicrania, vomito, convulsioni, ottundimento del sensorio, deficit motori, dislessia e movimenti involontari.

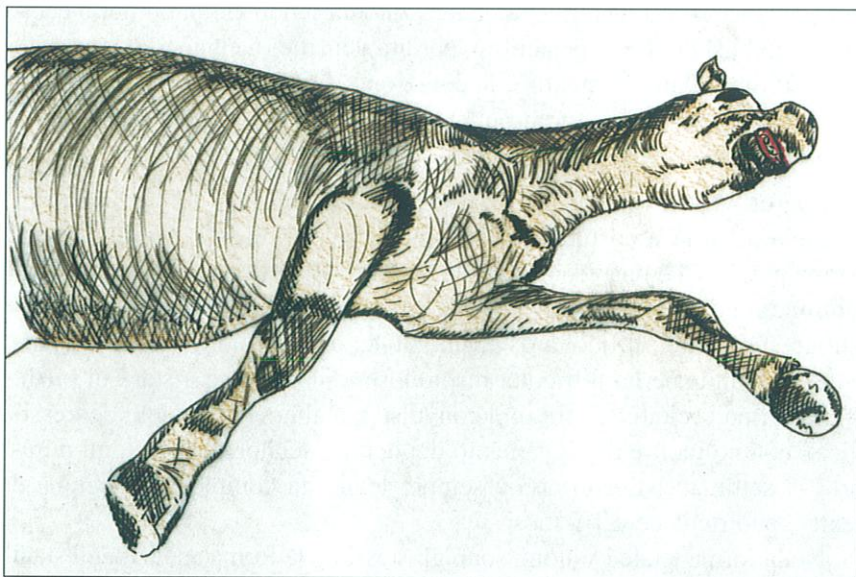


Figura 9: Forma letale: movimenti natatori.

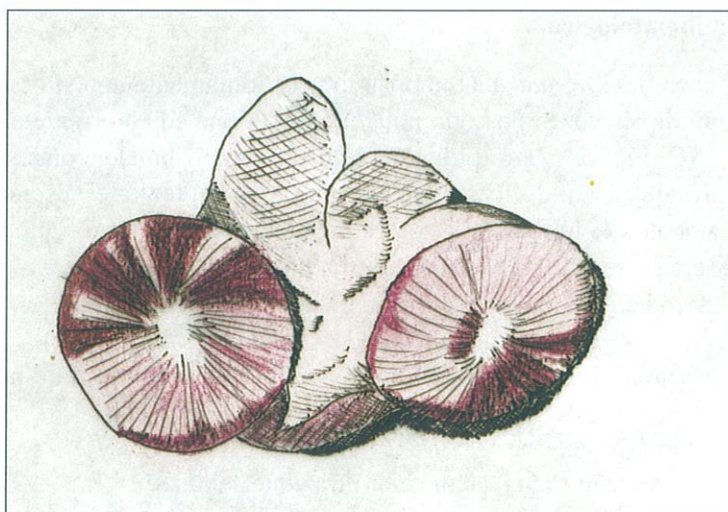


Figura 10: Suino: emorragie a carico del testicolo.

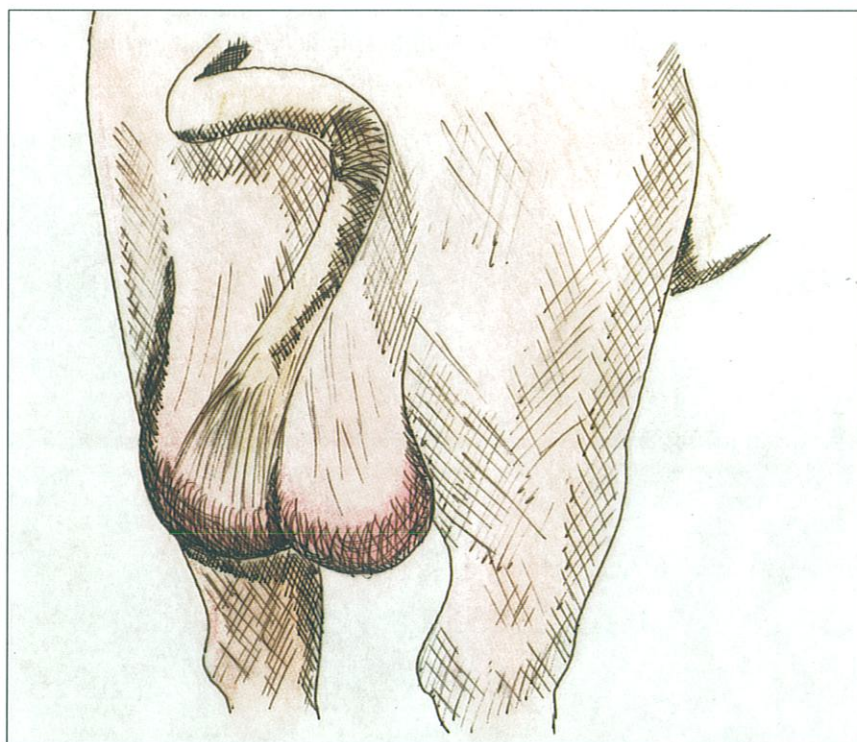


Figura 11: Suino con idrocele.

Anatomia patologica

Nei cavalli, all'esame anatomopatologico, solitamente non si osservano lesioni di rilievo. Si possono notare: congestione ed emorragie a carico del SNC (Figura 12), torbidità del liquido cerebrospinale, congestione ed emorragie del midollo spinale (Figura 13), replezione vescicale e ingrossamento dei linfonodi. Se il decorso della malattia è protratto, possono essere presenti iperemia ed enfisema polmonare.

Il quadro istologico è quello di encefalite non purulenta con:

- degenerazione dei neuroni e perdita dei granuli di Nissl;
- proliferazione diffusa o nodulare delle cellule della nevroglia e neurofagia;
- manicotti perivascolari;
- congestione, emorragie, edema e infiltrazione cellulare.

Queste lesioni si osservano più frequentemente nel talamo e ipotalamo.

Nell'uomo sono evidenziabili focolai necrotici e malacia a carico del SNC. Nel midollo allungato e nel midollo spinale queste alterazioni sono meno marcate.

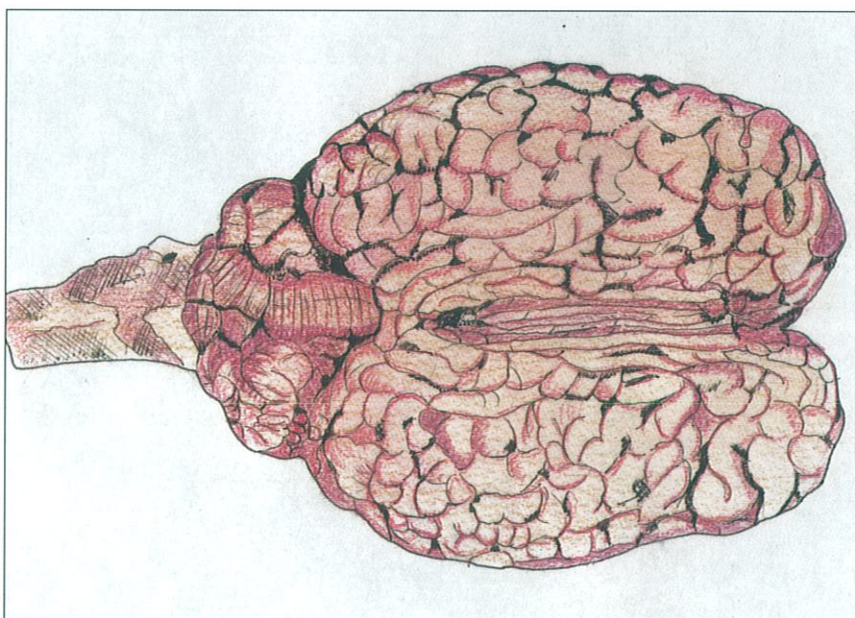


Figura 12: Cervello di cavallo con congestione ed emorragie.

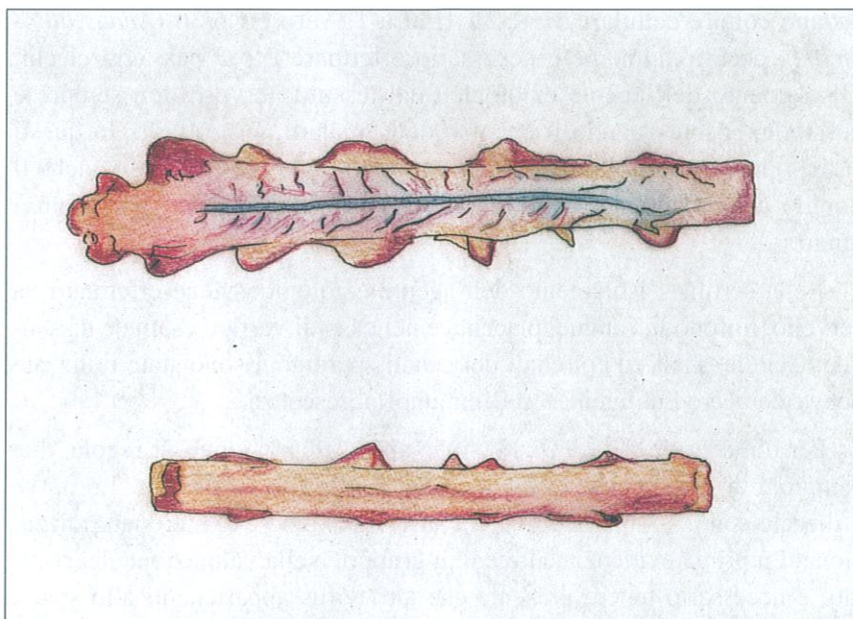


Figura 13: Midollo spinale di cavallo congesto ed emorragico.

Anche nei suinetti il quadro istologico è quello di encefalite non purulenta.

Nei verri si osserva edema del tessuto interstiziale dell'epididimo.

Diagnosi di laboratorio

La diagnosi di laboratorio si esegue mediante isolamento dell'agente eziologico e identificazione dello stesso con tecniche sierologiche.

I campioni di tessuto per gli esami virologici devono essere conservati durante il trasporto a 4°C, in soluzione tampone a pH 7,2-7,4.

Per l'isolamento del virus, dal cavallo vivo in ipertermia si preleva un campione di sangue con aggiunta di anticoagulante. Il virus è associato alla frazione leucocitaria, il congelamento e scongelamento favoriscono la liberazione dalla componente cellulare. Dall'animale abbattuto o morto si prelevano campioni di tessuto nervoso e linfoide e liquido cerebrospinale. I topini neonati inoculati per via intracerebrale muoiono in 2-5 giorni, l'antigene viene messo in evidenza con il metodo della immunoperoxidasi. Per l'osservazione dell'effetto citopatogeno, si uti-

lizzano colture cellulari BHK-21, HmLu-1, Vero e C6/36 (*Aedes albopictus*), occasionalmente è necessario effettuare 2 o 3 passaggi ciechi. L'isolamento dell'agente eziologico dal tessuto nervoso non sempre è possibile, specie quando il decorso della malattia è protratto. In questi casi è opportuno saggiare oltre che campioni di tessuto nervoso anche il liquido cerebrospinale e i linfonodi, dove il virus può persistere più a lungo.

Nella scrofa, l'isolamento dell'agente eziologico viene effettuato da cervello, linfonodi, sangue, placenta e nel caso di verri, da seme e da sangue. Cellule gliali ed epiteliali dei canali spermatici sono state utilizzate per evidenziare l'antigene con l'immunofluorescenza.

Per dimostrare la sieroconversione si prelevano, come di regola, due campioni di sangue a distanza di 15-20 giorni l'uno dall'altro. Le prove utilizzate sono l'inibizione dell'emoagglutinazione e la sieroneutralizzazione. La prima evidenza antigeni di gruppo. Nella valutazione dei risultati, è necessario tenere presente che altri virus appartenenti allo stesso gruppo (West Nile) possono essere causa di reazioni crociate.

Gli anticorpi inibenti l'emoagglutinazione sono già presenti 3-4 giorni dopo la comparsa della sintomatologia, raggiungono il livello massimo intorno al 60° giorno e scompaiono tra il 3° e 6° mese.

La ELISA IgM-capture viene utilizzata soprattutto nei laboratori medici per la diagnosi di casi umani. Gli anticorpi IgM nel liquido cerebrospinale sono evidenziabili con questa prova il 3° giorno successivo all'apparizione della sintomatologia.

Epidemiologia

La EG è diffusa, oltre che in Giappone, in Corea, Taiwan, Cina, Thailandia, Malesia, Filippine, India, Assam, Myanmar, Sud-Est asiatico e nelle regioni orientali dell'ex Unione Sovietica (Figura 14).

Il ciclo naturale del virus vede coinvolti zanzare e uccelli acquatici in genere. In Giappone, *Culex tritaeniorhynchus* è il vettore più importante del virus, ma altre specie possono avere un ruolo tra cui *Culex pipiens*, *Culex epidesmus* e *Aedes albopictus*.

L'infezione si manifesta in relazione all'attività del vettore e alla sua densità. Osservazioni epidemiologiche sembrano indicare che il virus

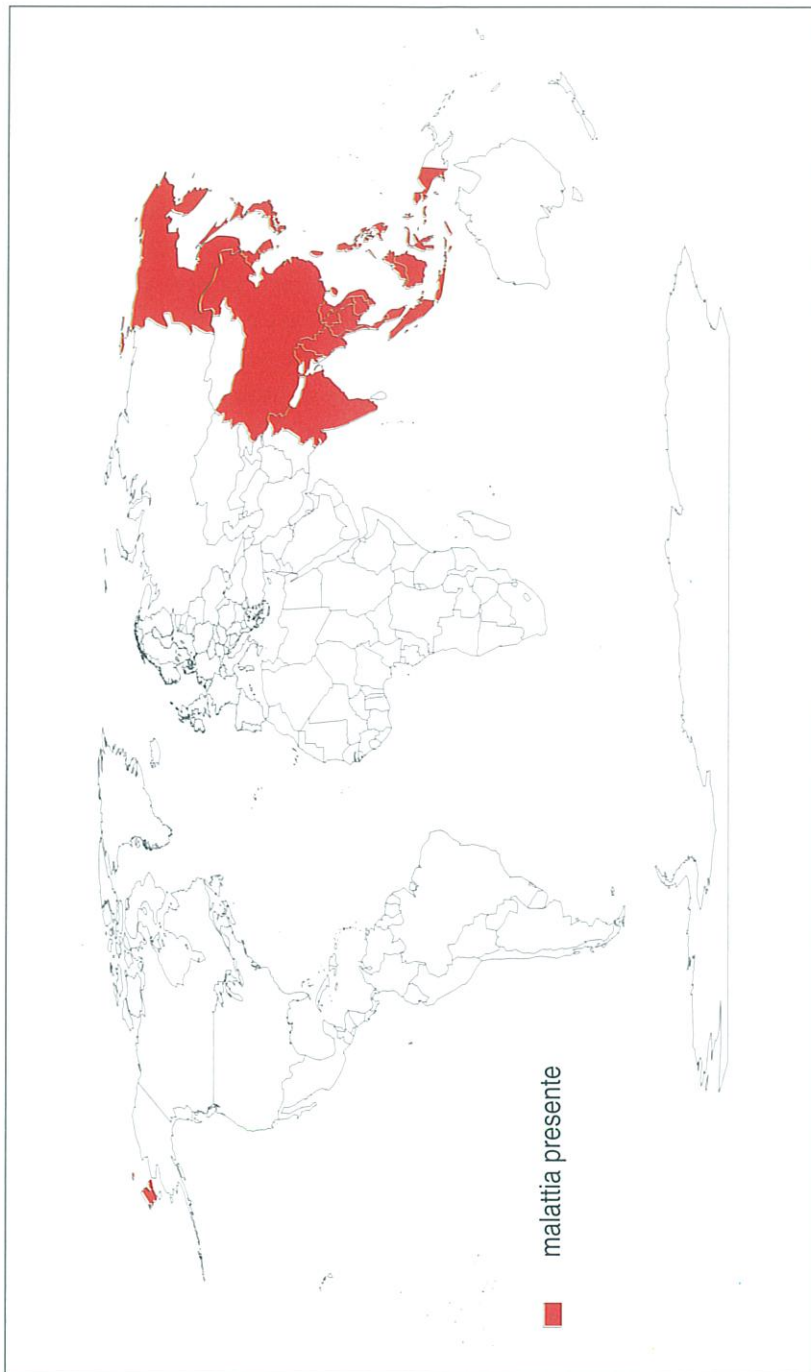


Figura 14: Distribuzione geografica dell'encefalomielite equina giapponese.

sopravviva nel periodo invernale, sia per la presenza di un mammifero non identificato, che agisce da portatore inapparente, sia per trasmissione transovarica nei vettori.

L'agente causale fu isolato per la prima volta nel 1925 dall'uomo e nel 1937 dal cavallo. L'identità tra i due virus fu stabilita successivamente. In Giappone, epidemie di EG nei cavalli si sono verificate nelle stagioni estive del 1947, 1948, 1950, 1955, 1960 e 1961. Queste epidemie sono state sempre seguite da casi umani. Mentre la prevalenza della malattia, nel decennio 1947-56, era di 7302 casi e il tasso annuale di infezione di 124 animali ogni 100.000, nel decennio 1979-88 la prevalenza si era ridotta a 9 casi, con un tasso annuale di infezione di 0.3 animali ogni 100.000. Si può, quindi, concludere che in Giappone, grazie all'applicazione di rigide misure di profilassi, la prevalenza della EG nei cavalli è attualmente un fatto sporadico.

Nei suini, il virus fu isolato per la prima volta nel 1948, da cervello di suinetti malati. In seguito a studi sierologici si constatò che il virus era ampiamente diffuso in tutto il Giappone e che il tasso di infezione variava tra il 40-100%.

L'infezione transplacentare nella scrofa fu descritta per la prima volta nel 1949 e riprodotta sperimentalmente nel 1954.

In Giappone, le nascite nella popolazione suina hanno luogo durante tutto l'arco dell'anno, quando i suinetti si infettano, presentano titoli viremici elevati e agiscono da amplificatori virali. Uomini e cavalli sono coinvolti in questo ciclo occasionalmente e non hanno un ruolo epidemiologico.

Ricerche sierologiche hanno evidenziato che molte specie animali, come bovini, capre, pecore e cani possono presentare alti livelli anticorpali nei confronti del virus della EG. In Giappone, negli ultimi 40 anni, sono stati descritti 12 casi di malattia nei bovini e 3 nelle capre.

Nella popolazione giapponese, la diminuita prevalenza della malattia negli ultimi 20 anni è probabilmente dovuta, oltre che all'immunizzazione delle popolazioni animali, ai cambiamenti nel sistema di vita: le abitazioni, non più come in passato, sono separate dagli allevamenti e dai campi di riso. Nel resto dell'Asia, si registrano annualmente circa 40.000 casi di malattia. Di questi, circa 1/3 è letale e in 1/3 le manifestazioni cliniche sono seguite da postumi neurologici. Per questo la EG è considerata una tra le più gravi zoonosi dei paesi asiatici.

Diagnosi differenziale

Molti sono gli agenti e le cause di encefaliti nell'uomo e negli animali. Negli equini bisogna tenere presente le infezioni da *Flavivirus* (West Nile disease), quelle da *Alphavirus* (EEV, EEO, EEE e Getah), la malattia di Borna, la rabbia, l'herpesvirus equino tipo 1, la nematodiasi cerebrospinale, la meningoencefalosi da *Setaria digitata*, la criptococcosi (*Cryptococcus neoformans*) e l'avvelenamento da metalli pesanti.

Nei suini la diagnosi differenziale viene attuata nei confronti di peste suina classica, malattia di Aujeszky, malattia di Teschen (enterovirus porcino 1), infezione da Getah virus, toxoplasmosi, infezione da parvovirus, infezione da enterovirus e brucellosi.

Nell'uomo bisogna prendere in considerazione i virus della dengue, della febbre gialla e dell'encefalite da zecche (tick borne disease).

Profilassi

La vaccinazione e il controllo del movimento degli animali sono le misure di profilassi utilizzate nei paesi dove si hanno condizioni di endemicità. Se in un paese indenne si dovesse verificare un focolaio di malattia, si dovrà procedere all'abbattimento e distruzione di tutti gli animali presenti nel focolaio e alla dichiarazione di un'area di protezione di circa 50 km di raggio.

In Giappone, i cavalli vengono immunizzati con un vaccino inattivato, somministrato per via sottocutanea in due dosi a distanza di un mese l'una dall'altra. In seguito si pratica la vaccinazione su base annuale, almeno un mese prima della stagione in cui la EG si manifesta.

Per i suini è disponibile un vaccino attenuato che previene la viremia e l'aborto. I ceppi di virus utilizzati per la sua produzione sono caratterizzati da una bassa neuropatogenicità e da un basso tasso di propagazione nelle ghiandole salivari dei vettori. In Cina, i vaccini attenuati vengono usati anche per l'immunizzazione dell'uomo.

Bibliografia

Acha P.M. et B. Szyfres 1989. Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux, 2^{me} Edition. Office International des Epizooties, pp. 341-369.

- Buescher E.L. and W.F. Scherer 1959. Ecologic studies of Japanese encephalitis virus in Japan. IX. Epidemiologic correlation and conclusions. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **8**: 718-722.
- Burns K.F. 1950. Congenital Japanese B encephalitis infection in swine. *Proceeding Society of Experimental Biology and Medicine*, pp. 75621-75625.
- Campbell L.C. 1989. Report of the Committee on infectious diseases of horses. *Proceeding, Annual Meeting of the United States Animal Health Association*, **93**: 366-373.
- Cross J.H., J.C. Lien, W.C. Huang, S.C. Lien, S.F. Chiu, J. Kuo, H.H. Chu and Y. Chang 1972. Japanese encephalomyelitis surveillance in Taiwan, II, Isolation from mosquitoes and bats in Taipei area 1969-1970. *Journal Formosan Medical Association*, **70**: 681-686.
- Fujisaki Y., T. Sugimori, T. Morimoto and Y. Miura 1975. Development of an attenuated strain for Japanese encephalitis live virus vaccine for porcine use. *National Institute of Animal Health, Quarterly*, **15**: 15023.
- Geevarghese G., B.H. Shaikh, P.G. Jacob and H.R. Bhat 1994. Persistence of haemagglutination-inhibition antibodies to Japanese Encephalitis and West Nile viruses in naturally infected domestic pigs in Karnataka State, India. *Acta Virol.*, **38(4)**: 235-237.
- Gould D.J., R.J. Byrne and D.E. Hayes 1964. Experimental infection of horses with Japanese encephalitis virus by mosquito bite. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **13**: 742-746.
- Habu A., Y. Murakami, A. Ogasa and Y. Fujisaki 1977. Disorder of spermatogenesis and viral discharge into semen in boars infected with Japanese encephalitis virus. *Virus (Tokyo)*, **27**: 21-26.
- Han G.S., B.O. Chen and C.H. Huang 1974. Studies on attenuated Japanese B encephalitis virus vaccine. II. Safety, epidemiological and serological evaluation of attenuated 2-8 strain vaccine after immunization of horses. *Acta Microbiologica Sinica*, **14**: 185-190.
- Igarashi A., M. Tanaka, K. Morita, T. Takasu, A. Ahmed, D.S. Akram and M.A. Waqar 1994. Detection of west Nile and Japanese encephalitis viral genome sequences in cerebrospinal fluid from acute encephalitis cases in Karachi, Pakistan. *Microbiol. Immunol.*, **38(10)**: 827-830.
- Kheng C.S., T.K. Chee, N.J. Marchette, R. Garcia, A. Rudnick and R.F. Coughlan 1968. Japanese B encephalitis in a horse. *Australian Veterinary Journal*, **44**: 23-25.
- Kumanomido T., H. Nakamura, T. Matsumura, T. Sugiura and Y. Akiyama 1986. Evaluation of vaccination program with a commercial inactivated Japanese encephalitis virus vaccine for horses. *Bulletin of the Equine Research Institute*, **23**: 35-41.
- Reeves W.C. 1974. Overwintering of arboviruses. *Progress in Medical Virology*, **17**: 193-220.

- Reeves W.C., J.L. Hardy, W.K. Reisen and M.M. Milby 1994. Potential effect of global warming on mosquito-borne arboviruses. *J. Med. Entomol.*, **31**(3): 323-332.
- Rosen L., D. Shroyer and J.C. Lien 1980. Transovarial transmission of Japanese encephalitis virus by *Culex tritaeniorhynchus* mosquitoes. *American Journal of Tropical Medicine*, **29**: 711-712.
- Ruff T.A. 1994. Japanese B encephalitis vaccine. Time for a reappraisal? *Med. J. Aust.*, **161**(8): 511.
- Scherer W.F., J.T. Moyer, T. Izumi, I. Gresser and N.J. McCown 1959. Ecologic studies of Japanese encephalitis virus in Japan. VI. Swine infection. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **8**: 698-706.
- Sithiprasasna R., D. Strickman, B.L. Innis and K.J. Linthicum 1994. Elisa for detecting dengue and Japanese encephalitis viral antigen in mosquitoes. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, **88**(4): 397-404.
- Venugopal K. and E.A. Gould 1994. Towards a new generation of flavivirus vaccines. *Vaccine*, **12**(11): 966-975.