

10. PESTE EQUINA

La peste equina (PE) è una malattia virale setticemica degli equidi, trasmessa da *Culicoides*; colpisce prevalentemente i cavalli ma sono recettivi anche muli, asini e zebre. È caratterizzata da edema sottocutaneo e polmonare, emorragie nei parenchimi e raccolta di liquidi sierosi in tutte le cavità del corpo. Morbilità e letalità sono generalmente elevate. Il cane è l'unico animale domestico non solipede a manifestare segni clinici di malattia, talvolta con esito mortale. Il virus appartiene alla famiglia *Reoviridae*, genere *Orbivirus*.

Del virus della PE se ne distinguono 9 sierotipi, caratterizzati da virulenza variabile.

La prima descrizione di una patologia simile alla PE si trova in un documento arabo del 1327.

Sintomatologia

La sintomatologia della PE è distinta in 4 forme cliniche:

- iperacuta o polmonare;
- acuta o mista;
- subacuta o cardiaca;
- febbrile.

Il periodo di incubazione della malattia ha una durata media di 5-7 giorni, oscillando da un minimo di 3 a un massimo di 14 giorni.

Alla base della sintomatologia c'è la capacità del virus di indurre un coinvolgimento delle cellule endoteliali dei vasi sanguigni a cui segue aumentata permeabilità vasale con formazione di edemi e versamenti in cavità toracica, addominale e nel sacco pericardico. Queste alterazioni sono accompagnate da processi congestizi ed emorragici.

La forma iperacuta è caratterizzata da un periodo di incubazione di 3-5 giorni e da ipertermia che, con andamento di tipo esponenziale (Figura 52), dopo 5 giorni raggiunge i 40-41°C. La letalità è elevata, potendo raggiungere il 95%. La morte sopravviene entro poche ore dalla comparsa dei sintomi o nei 3-4 giorni che seguono.

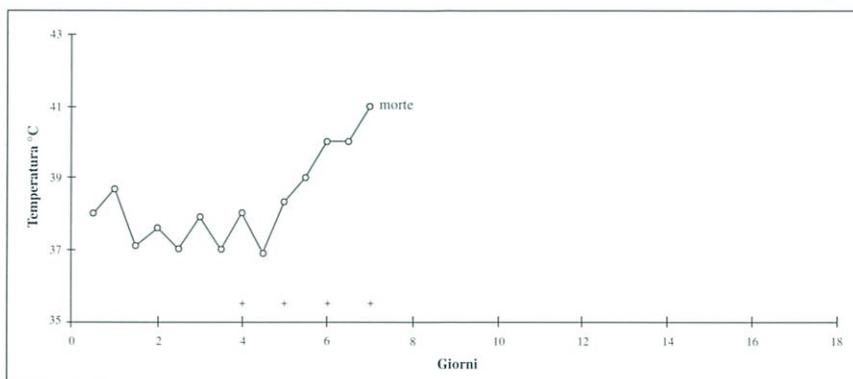


Figura 52: Forma iperacuta: curva termica, (+) periodo viremico.

Al rialzo febbrile fanno seguito disturbi respiratori di gravità crescente, dalle narici dilatate fuoriesce liquido biancastro e schiumoso (Figura 53).



Figura 53: Forma iperacuta: fuoriuscita di liquido schiumoso dalle narici.

Poiché la posizione di decubito rende più difficoltosa la respirazione, l'animale colpito dalla forma iperacuta rimane in piedi, con arti divaricati e testa estesa sul collo, fino agli ultimi istanti di vita.

La forma subacuta è riscontrabile nelle aree dove la malattia è presente allo stato endemico. Il periodo di incubazione varia da 7 a 14 giorni. La malattia esordisce con ipertermia che raggiunge i 41°C in ottava giornata.

In questa forma la reazione febbrile può essere presente solo al mattino (Figura 54), mentre nelle ore pomeridiane può scendere a livelli normali, pertanto è importante rilevare la temperatura almeno due volte al giorno. In concomitanza dell'abbassamento febbrile, compaiono gli edemi a livello delle fosse sopraorbitali (Figura 55), che possono estendersi alle palpebre e a tutta la testa, che in tal caso, appare deformata. Nella PE non si evidenzia edema delle parti distali degli arti, contrariamente a quanto si verifica nelle forme tipiche di arterite virale e di porpora emorragica, nelle quali l'edema inizia nelle estremità distali per estendersi poi alle regioni più alte del corpo.

La mucosa della cavità orale e la lingua si presentano cianotiche, quest'ultima è edematosa, al suo apice e sulla superficie ventrale sono evidenziabili emorragie puntiformi (Figura 56). Questo quadro clinico, conseguenza dell'interessamento polmonare, giustifica l'appellativo di "bluetongue del cavallo", dato alla peste equina.

La mucosa congiuntivale è congesta, sulla superficie sono presenti petecchie emorragiche (Figura 57) e ulcere, la lacrimazione può avere carattere emorragico (Figura 58).

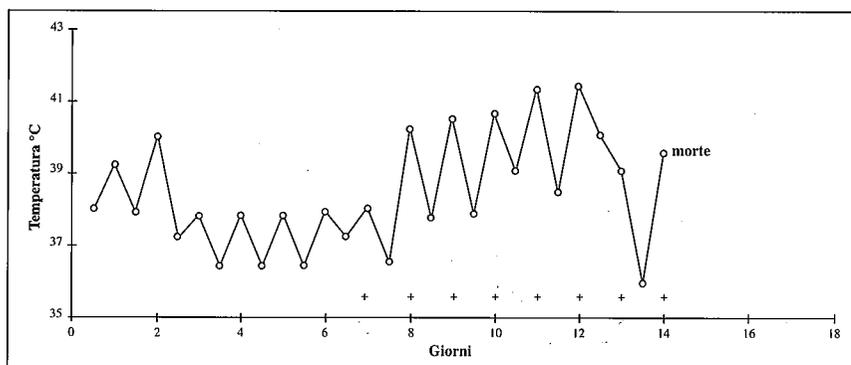


Figura 54: Forma subacuta: curva termica, (+) periodo viremico.

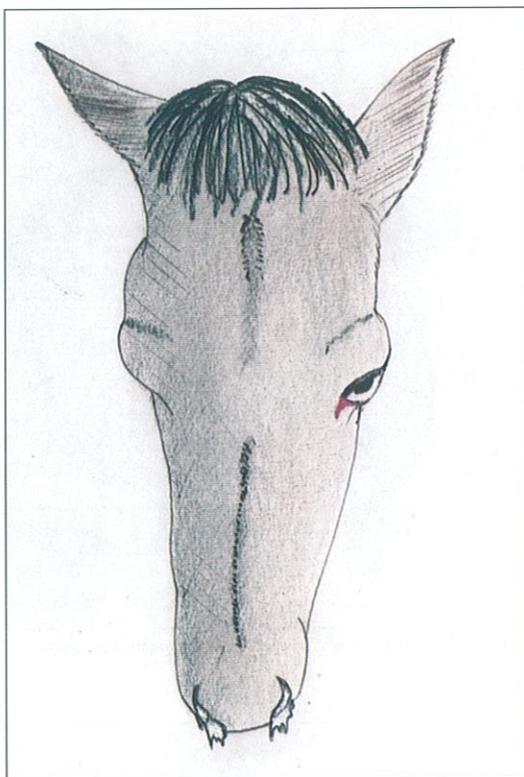


Figura 55: Edema delle fosse sopraorbitali e scolo nasale.

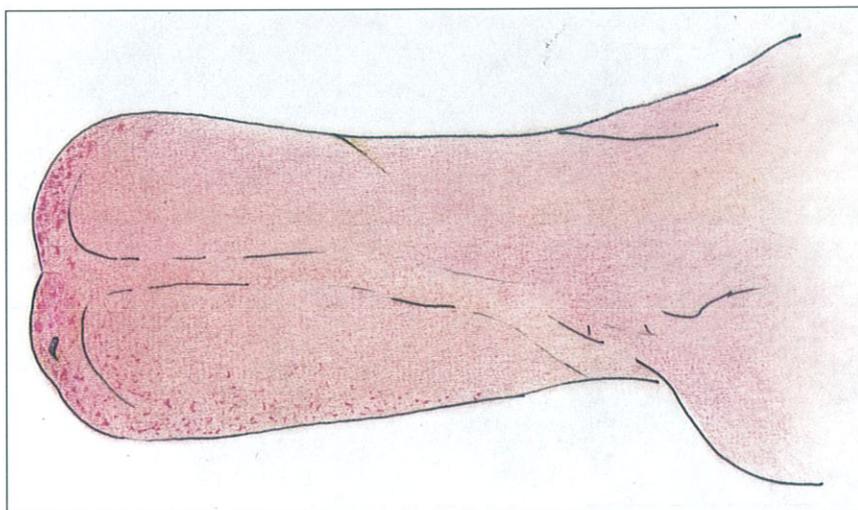


Figura 56: Emorragie puntiformi sulla superficie ventrale della lingua.

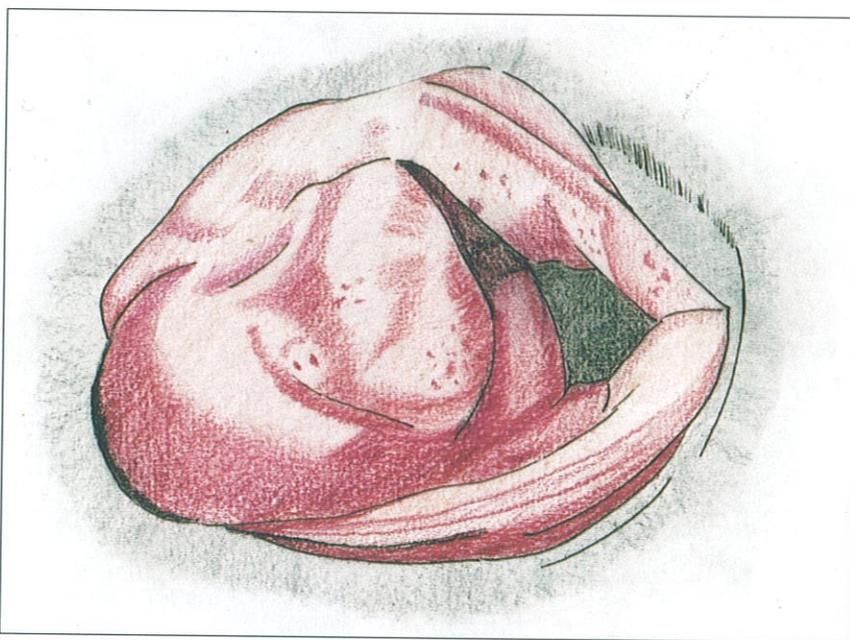


Figura 57: Edema, congestione ed emorragie della congiuntiva.

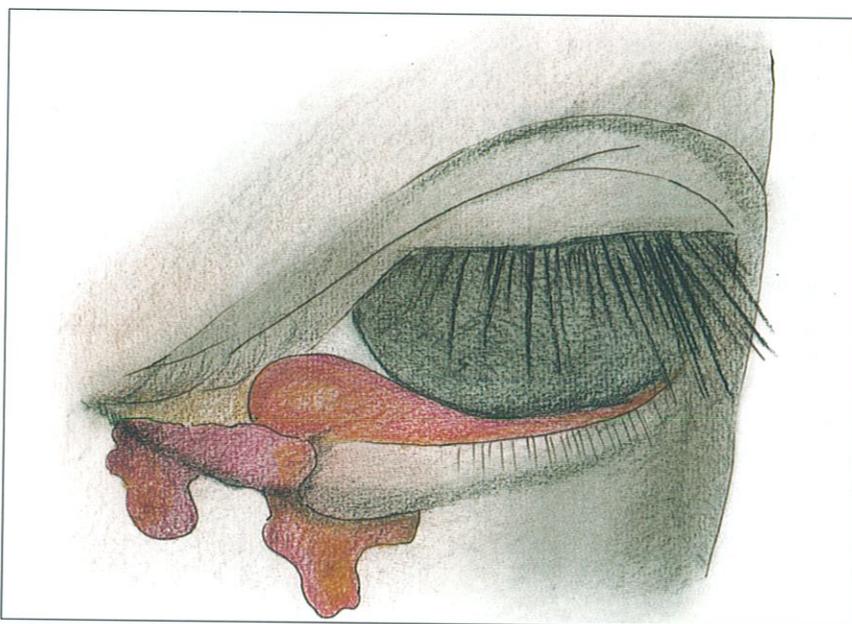


Figura 58: Lacrimazione emorragica.

Nei casi più gravi e prima della morte, si ha un improvviso incremento della frequenza respiratoria associata a tremori muscolari, intensa sudorazione e decubito laterale prolungato. Il 50% degli animali colpiti muore.

La forma acuta o mista, è il risultato dell'associazione dei sintomi delle due forme cliniche appena descritte ed è quella che si osserva più frequentemente.

La forma febbrile si manifesta in animali parzialmente immuni o nelle specie meno recettive, come l'asino africano e la zebra. Il principale rilievo clinico è l'ipertermia che dura 1-5 giorni e che può essere accompagnata da anoressia e depressione del sensorio.

Anatomia patologica

Il quadro anatomopatologico della PE varia a seconda del decorso della malattia.

È possibile individuare processi flogistici a carico del polmone, degenerativo-necrotici a carico degli organi parenchimosi e proliferativi a carico degli elementi istiocitari del sistema linfatico.

Macroscopicamente è caratteristico, anche se non patognomonico, il rinvenimento di infiltrazioni sierogelatinose nel tessuto sottocutaneo, intermuscolare e intramuscolare, in corrispondenza della testa, del legamento nucale e, nei casi più gravi, delle spalle.

Nella trachea si osservano emorragie, presenza di essudato denso e giallastro ed edema della parete. L'edema può essere di tale entità da ridurre il lume, accentuando la difficoltà respiratoria. L'albero bronchiale e gli alveoli polmonari sono anch'essi pieni di essudato, dalla superficie di taglio dell'organo gema liquido schiumoso.

La cavità toracica può contenere sino a 8 litri di essudato sieroemorragico che, se esposto all'aria, tende a coagularsi.

Nella forma iperacuta, a livello polmonare, aree congestizie si alternano ad aree di tessuto normale (Figura 59), non si osserva edema interstiziale.

Nelle forme a decorso più lento la porzione apicale del polmone è emorragica, mentre la porzione distale presenta edema interstiziale (Figura 60). L'edema è presente anche a livello dei setti interlobulari (Figura 61).

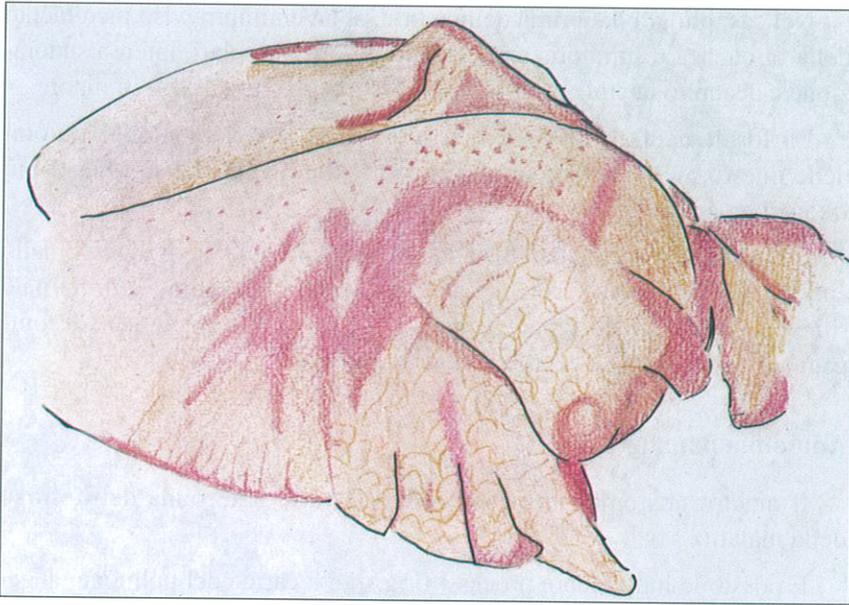


Figura 59: Polmone: aree congeste ed emorragiche alternate ad aree normali.

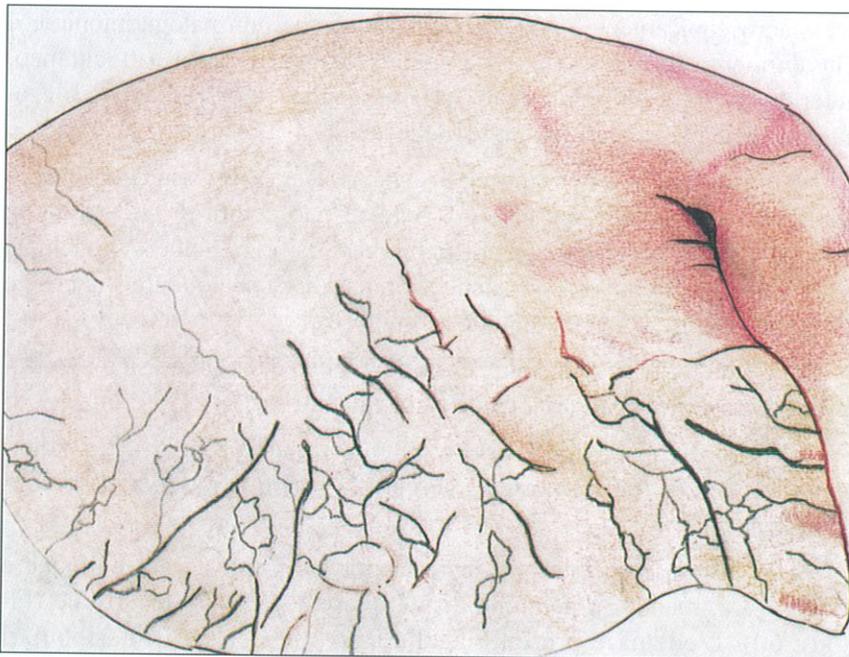


Figura 60: Emorragie nella porzione apicale del polmone ed edema interstiziale in quella distale.

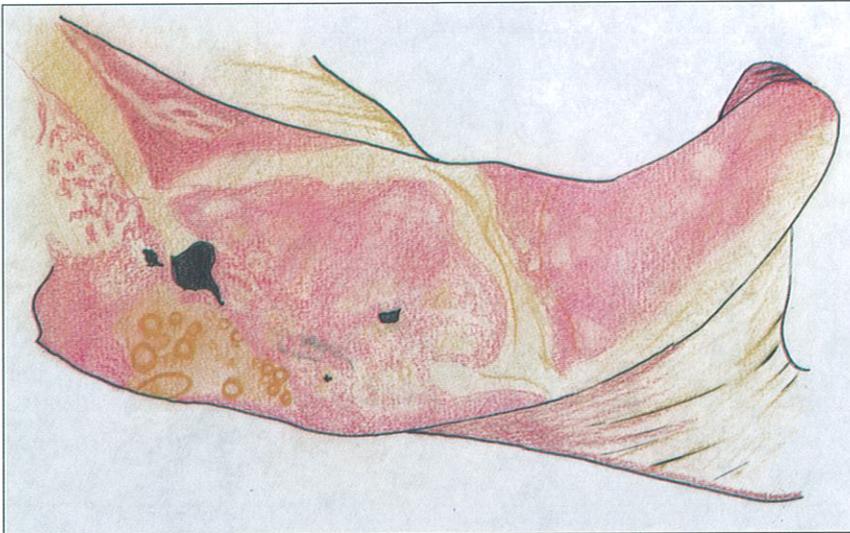


Figura 61: Edema dei setti interlobulari del polmone.

Le lesioni cardiache sono imponenti. Le emorragie a carico del ventricolo sinistro sembrano instaurarsi nella fase agonica della malattia, tanto che non è possibile rilevarne la presenza in animali sacrificati in fase preagonica. Ciò sembrerebbe indicare che esse non rientrino nella patogenesi della malattia.

All'apertura del sacco pericardico si osserva accumulo di liquido limpido-giallastro ed emorragie subepicardiche.

Emorragie profonde sono evidenziabili nel solco coronarico e nel sacco pericardico che spesso è edematoso (Figura 62).

Nel ventricolo sinistro si possono riscontrare emorragie subepicardiche e subendocardiche soprattutto in prossimità dei muscoli papillari (Figura 63).

Petecchie emorragiche si possono osservare nell'endocardio del ventricolo destro e a livello delle relative valvole atrioventricolari che si presentano edematose.

Nonostante le gravi lesioni descritte, il tessuto cardiaco non è sede di replicazione virale.

La marcata congestione del fondo dello stomaco associata a emorragie (Figura 64), può indurre a formulare una diagnosi clinica di avvelenamento, specie in presenza di un focolaio primario di malattia.



Figura 62: Emorragie del sacco pericardico.

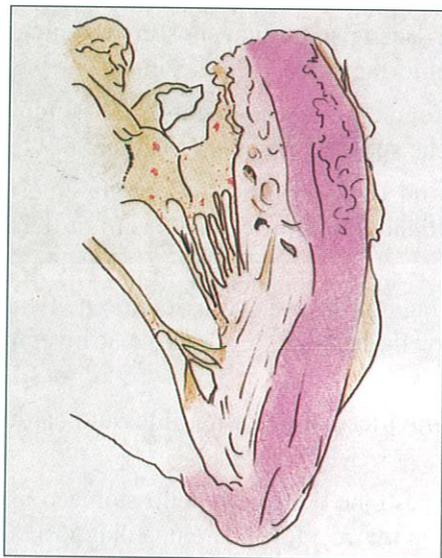


Figura 63: Emorragie ventricolari.

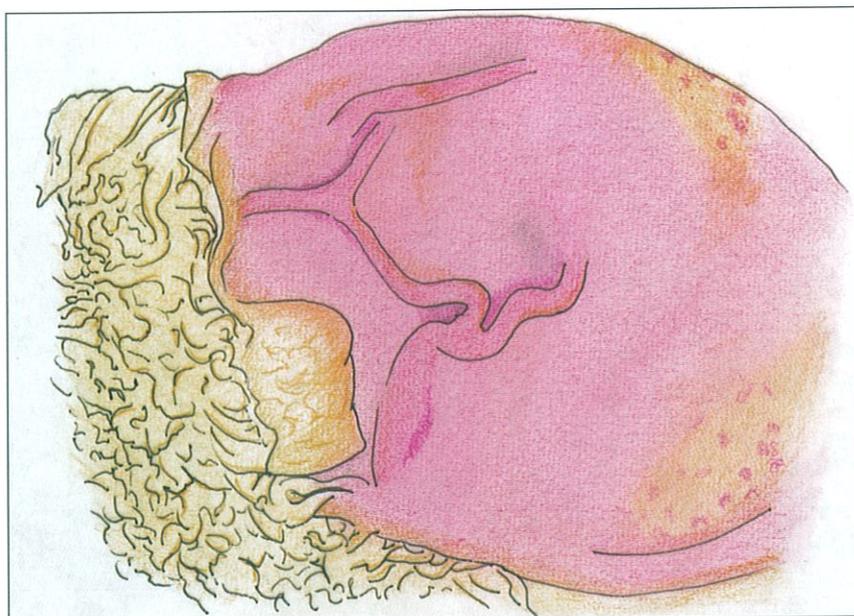


Figura 64: Congestione del fondo dello stomaco.

Nel piccolo intestino si osservano con frequenza, a livello della mucosa e della sottomucosa, congestione ed emorragie petecchiali; queste, a volte, sono localizzate intorno ai vasi sanguigni (Figura 65), in altri casi le aree emorragiche della mucosa si alternano con aree di tessuto normali (Figura 66). Nel grosso intestino sono più frequenti le emorragie sottosierose (Figura 67), unitamente a edema molto pronunciato della mucosa, che si può estendere sino al retto.

Queste alterazioni rappresentano la base patogenetica della colica, che spesso si riscontra nel decorso di PE. Quando i sintomi della colica si uniscono alle emorragie della mucosa gastrica, si può pervenire inizialmente a una diagnosi errata. L'ascite, in genere, si riscontra solo nella forma subacuta.

La replicazione del virus avviene nei tessuti linfoidi: milza e linfonodi. Questi ultimi sono spesso tumefatti e succosi ed è frequente il riscontro di edema perilinfonodale. La splenomegalia, riportata da alcuni autori, è il risultato della concomitanza di altre patologie come la piroplasmosi. Nelle forme non complicate di peste equina, la milza presenta emorragie subcapsulari (Figura 68), ma i margini sono sottili e l'organo non è aumentato di volume.

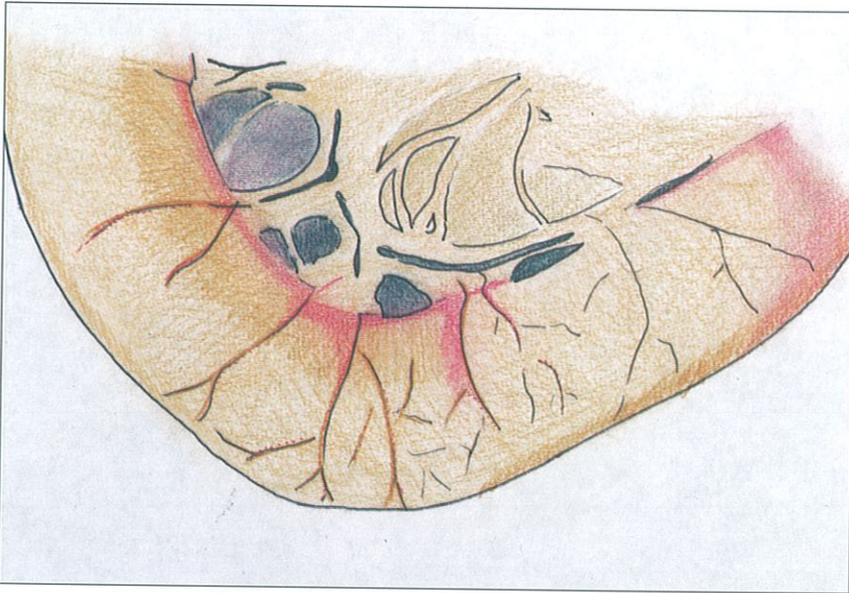


Figura 65: Emorragie sottosierose del piccolo intestino.

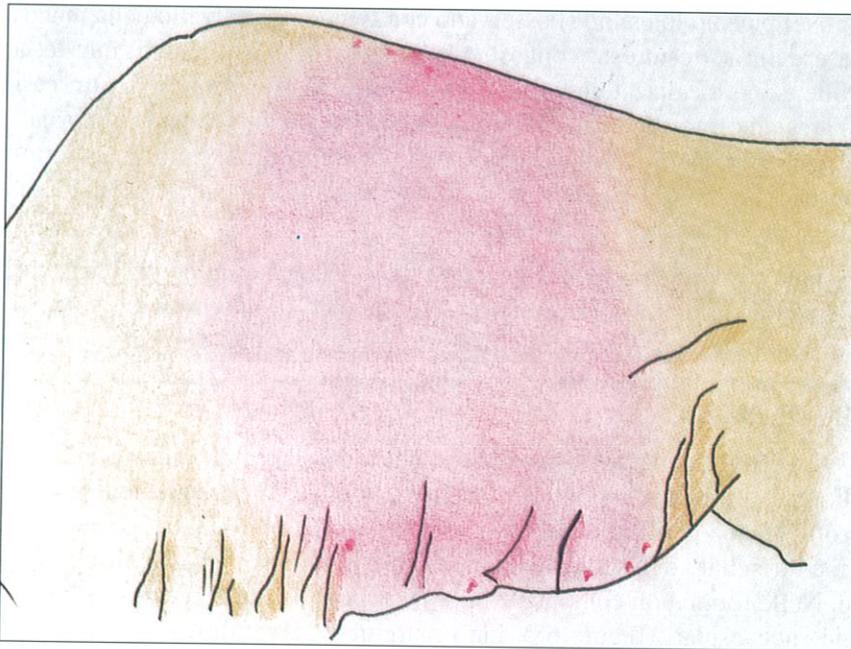


Figura 66: Mucosa del piccolo intestino: alternanza di aree emorragiche e normali.

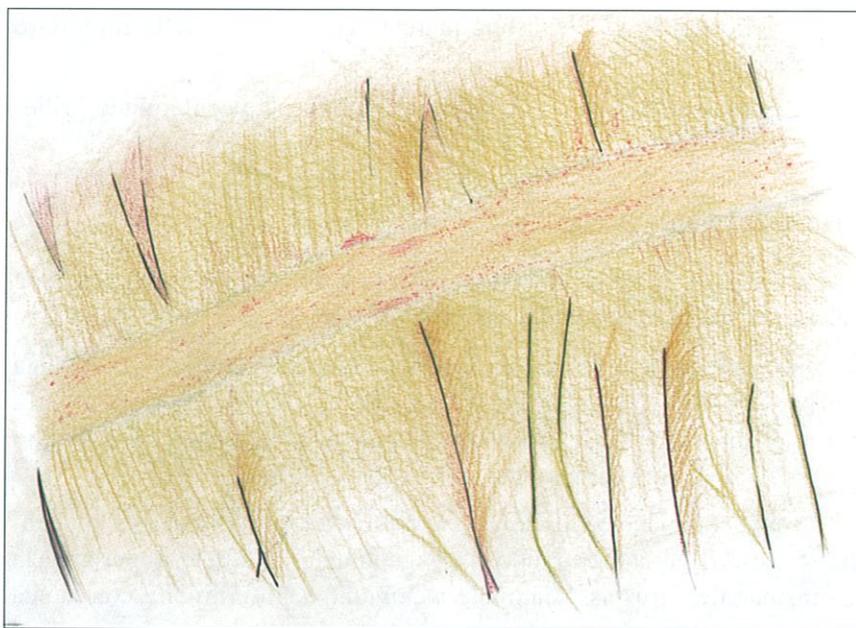


Figura 67: Grosso intestino: emorragie sottosierose.



Figura 68: Milza: emorragie subcapsulari.

A livello renale si rileva una marcata congestione della midollare (Figura 69).

Le lesioni istologiche non sono patognomoniche e confermano i rilievi macroscopici.

Diagnosi di Laboratorio

La diagnosi di PE si effettua mediante isolamento e identificazione del virus a partire da sangue o campioni di organi.

Questi ultimi devono essere raccolti in soluzione tampone glicerinata a pH 7,2 e conservati a temperatura tra 4-10°C. Gli organi vengono omogenati e, dopo centrifugazione, il surnatante viene decantato e conservato a +4°C o -70°C fino al momento dell'uso.

Il sangue, almeno 5 ml, deve essere prelevato in presenza di anticoagulante e refrigerato, evitando il congelamento che determinerebbe la liberazione del virus associato alle membrane degli eritrociti, con la sua

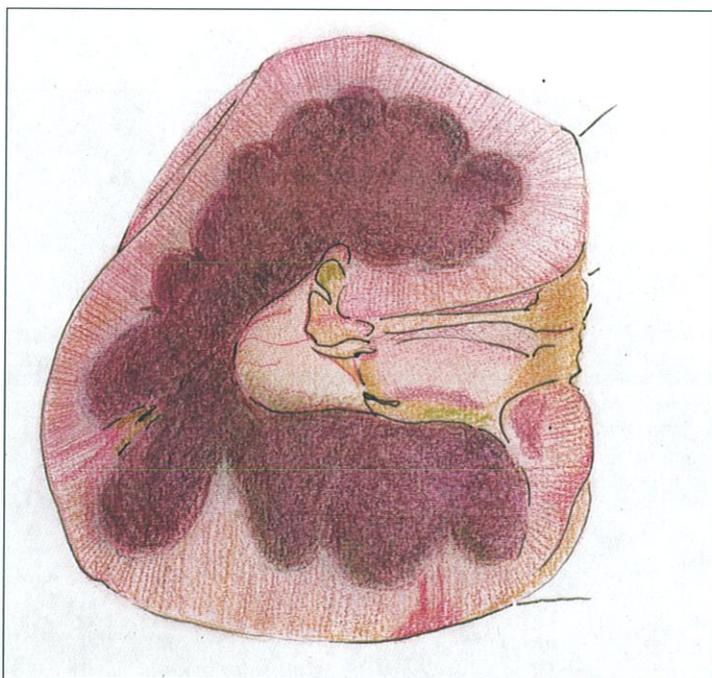


Figura 69: Rene, congestione della midollare.

conseguente neutralizzazione per la presenza di anticorpi nel plasma. A un'aliquota del campione viene asportato il plasma, gli eritrociti rimasti vengono lavati e quindi lisi con l'aggiunta di un uguale volume di acqua distillata. A lisi avvenuta il campione viene conservato a 4°C.

È possibile anche effettuare l'isolamento del virus dai vettori; in tal caso bisogna procedere alla cattura degli stessi, provvedendo al loro invio in laboratorio in contenitore refrigerato. Nel caso in cui i *Culicoides* siano stati raccolti in una soluzione al 2-5% di formalina è necessario procedere ad un lavaggio preliminare per rimuovere il fissativo.

Si raggruppano quindi gli insetti in un numero variabile da 100 a 500 e si omogeneizzano.

Le sospensioni così preparate vengono utilizzate per infettare uova embrionate, topini neonati e colture cellulari. Le uova embrionate, all'11° giorno di incubazione, vengono inoculate per via endovenosa. Dagli embrioni morti tra il 2° e il 7° giorno si preleva il cuore, che viene omogenato e il materiale così preparato utilizzato per prove di identificazione virale.

I topini neonati vengono inoculati per via intracerebrale. I cervelli degli animali che muoiono o che presentano sintomi di paralisi tra il 2° e il 10° giorno dall'inoculazione sono raccolti, omogenati e sonicati in soluzione fisiologica tamponata.

Le colture di cellule BHK-21 o Vero, infettate con materiale in esame, vengono osservate per 7 giorni allo scopo di evidenziare l'effetto citopatico. Il virus della PE può richiedere da 1 a 3 passaggi di adattamento alle colture cellulari.

Per l'identificazione del virus si utilizzano prove gruppo specifiche: la fissazione del complemento, l'immunofluorescenza e l'ELISA sia indiretta che competitiva.

Quest'ultima, comunemente utilizzata per la messa in evidenza degli anticorpi, ha sensibilità pari a quella della sieroneutralizzazione e superiore a quella della fissazione del complemento. La prova presenta vari vantaggi: sensibilità e specificità elevati, risultati ottenibili in 2-4 ore e reagenti standardizzati. L'esecuzione della prova non offre difficoltà e ben si adatta all'esame di un elevato numero di campioni.

L'immunodiffusione in gel di agar è poco sensibile e non è di uso corrente.

Le prove sierologiche tipo specifiche sono la sieroneutralizzazione e l'inibizione dell'emoagglutinazione. La prima è molto sensibile e può essere usata anche per la tipizzazione degli anticorpi presenti nei sieri in esame, tuttavia, comporta lo svantaggio di dover lavorare con virus vivo e tempi di esecuzione variabili da 5 a 6 giorni.

L'inibizione dell'emoagglutinazione presenta due svantaggi: la presenza di inibitori aspecifici nei sieri equini e la laboriosità della preparazione dell'antigene.

Epidemiologia

La PE è una malattia infettiva non contagiosa, trasmessa dalla puntura di insetti del genere *Culicoides*. In Africa è *C. imicola* a giocare un ruolo epidemiologico, ma altre specie potrebbero agire da vettori, tra le quali *C. variipennis*, che non è presente nell'Africa australe ma è il vettore della bluetongue negli Stati Uniti. Il ruolo epidemiologico di *Culex pipiens*, *Anopheles stephensi* e *Aedes aegypti*, nella trasmissione del virus della PE, è stato sospettato ma mai confermato.

Durante i primi trent'anni di questo secolo, si cercò di isolare il virus da vari generi di insetti, ma sempre con risultati negativi. Fu nel 1940 che Du Toit, in Sud Africa, dopo aver notato nelle vicinanze degli animali una moltitudine di *Culicoides* spp. iniziò a studiarli. Nel 1944 riuscì a isolare da questi insetti sia il virus della bluetongue, che quello della peste equina.

La possibilità di trasmissione meccanica da parte di mosche ematofaghe non è stata dimostrata.

La PE è conosciuta in Sud Africa sin dal 1719. Nel 1944 si sono avuti focolai in Medio Oriente e in Egitto. Nella prima metà degli anni '60 la malattia si manifestò in Turchia, Iran, Afghanistan, Pakistan, provocando la morte di circa 300.000 cavalli. Nel 1966 è stata confermata in Spagna dove è riapparsa negli anni 1987-1990 a causa di zebre infette importate dalla Namibia. Dalla Spagna la malattia si è diffusa al vicino Marocco (Figura 70).

Le specie recettive alla PE, oltre ai cavalli, sono: muli, asini, zebre, cani e probabilmente cammelli, anche se in questi ultimi animali, in Egitto, durante l'epidemia del 1944, non furono evidenziati anticorpi.

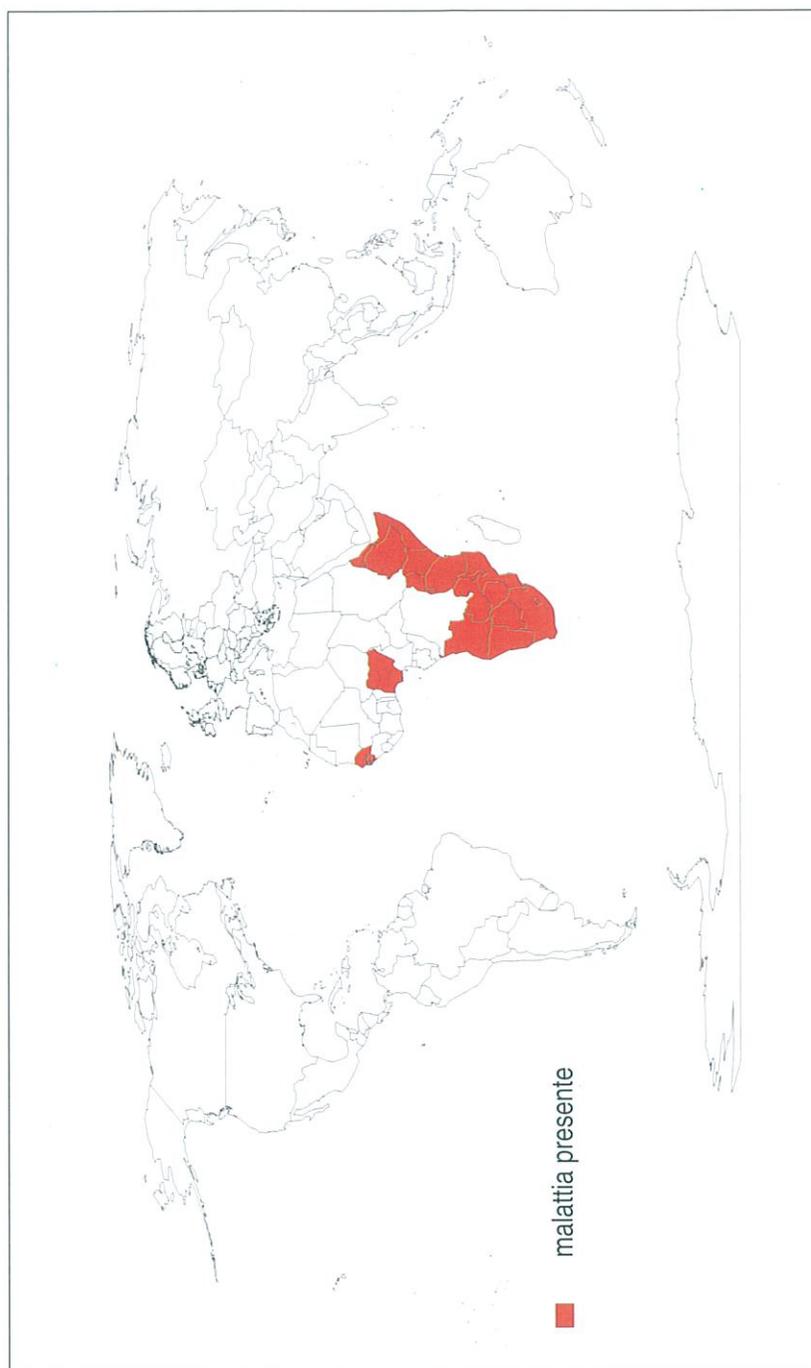


Figura 70. Distribuzione geografica della peste equina.

Gli asini europei e asiatici sono recettivi e presentano sintomatologia clinica, mentre gli asini africani infettandosi manifestano esclusivamente un rialzo termico. Lo stesso avviene nelle zebre che, superato l'anno di età, acquisiscono anticorpi nei confronti del virus. I cani possono infettarsi sia tramite vettori che per ingestione di carni contaminate, tuttavia, non sembrano avere un ruolo epidemiologico. Se il cane è alimentato con grossi bocconi di carne, il virus nello stomaco non viene a contatto con i succhi gastrici e passando nell'intestino, infetta l'animale. Se invece l'alimentazione avviene con carni tritate, il virus può essere aggredito dai succhi gastrici e inattivato.

In Egitto, nel bufalo e nelle pecore, sono stati evidenziati anticorpi in assenza di sintomatologia clinica.

Nell'elefante (*Loxodonta africana*) sono stati evidenziati anticorpi fissanti il complemento, che si sono dimostrati in seguito di natura aspecifica.

Nell'epidemiologia delle malattie trasmesse da vettori è estremamente importante la durata e l'intensità della viremia. Nel caso del cavallo, essa è rilevabile per circa 7 giorni, in alcuni casi può perdurare anche per 14 giorni. Il titolo virale in genere varia da 10^3 a 10^5 dosi infettanti per ml di sangue. Il titolo virale necessario per infettare *Culicoides* spp. è di circa 10^4 dosi infettanti per ml di sangue.

Nel caso di asini e zebre la viremia è stata dimostrata per periodi di oltre 28 giorni. Il titolo virale è inferiore a quello riscontrato nei cavalli, ma sempre sufficiente a infettare i vettori. Questi animali giocano pertanto un ruolo epidemiologico.

Si può ipotizzare che l'epidemiologia della PE sia caratterizzata da 2 cicli: uno primario tra l'ospite portatore e l'insetto vettore, e uno secondario quando il vettore infettando il cavallo fa sì che la malattia si manifesti clinicamente. La zebra potrebbe assolvere totalmente o parzialmente il ruolo di serbatoio del virus: ciò spiegherebbe perché la peste equina non si insedia permanentemente al di fuori del continente africano. Infatti, al di fuori dell'Africa è stato osservato solo il ciclo secondario, che può perdurare per anni soprattutto nelle zone a clima temperato, dove l'attività dei vettori non è stagionale. Se la teoria della zebra come serbatoio naturale del virus fosse vera, la malattia, al di fuori del continente africano, una volta eradicata, si potrebbe ripresentare solo se reintrodotta con l'importazione di animali infetti. Si deve tuttavia notare che, se la zebra

sembra giocare un importante ruolo epidemiologico, ci sono paesi dell'Africa, come lo Zaire, dove la prevalenza della malattia è elevata, anche se il numero delle zebre è estremamente ridotto, per cui non va esclusa la presenza di un altro serbatoio del virus.

In Africa equatoriale esistono entrambi i cicli. Per quanto riguarda l'Africa australe, non esistono barriere naturali che la separino dall'Africa tropicale, per cui ogni estate la malattia si espande da nord a sud, dai confini del Monzambico verso le regioni meridionali del Transvaal e del Capo. L'Africa settentrionale, al contrario, è protetta dal deserto del Sahara che rappresenta una barriera al diffondersi dell'infezione. Gli unici varchi sono la valle del Nilo e la costa occidentale. Infatti nel 1966 la PE fu diagnosticata in Nigeria e da lì si diffuse, a nord lungo la costa occidentale fino al Senegal, al Nord Africa e nel Sud della Spagna.

La PE si manifesta alla fine dell'estate. Benché *Culicoides* spp. siano attivi dall'inizio della stagione, non è mai stato possibile isolare il virus dal vettore sino a estate inoltrata. La malattia si manifesta a seguito di un'amplificazione virale che si verifica con il ciclo primario e quando il numero dei vettori raggiunge il livello più alto. Queste due condizioni si realizzano, appunto, nell'emisfero australe nei mesi di marzo e aprile e nell'emisfero settentrionale, più precisamente in Spagna, nei mesi di settembre e ottobre.

La malattia scompare improvvisamente con l'arrivo dei primi freddi, quando la temperatura si mantiene al di sotto dei 12°C. È da notare che la prevalenza della malattia è più alta quando a episodi di pioggia seguono giornate di caldo intenso.

Diagnosi differenziale

La diagnosi differenziale deve prendere in considerazione:

- la porpora emorragica in cui sono presenti edema ed emorragie, ma in forma più grave e diffusa;
- l'arterite virale dove l'edema colpisce anche le parti distali degli arti;
- le babesiosi;
- le tripanosomosi.

Profilassi

In un paese indenne la PE è generalmente introdotta tramite equidi infetti, ma non può essere esclusa l'introduzione accidentale a opera di insetti trasportati da aerei, navi o vento. Pertanto l'introduzione di equidi domestici e selvatici da paesi dove la malattia è presente deve essere rigorosamente regolamentata e prevedere la quarantena in locali a prova di insetto e, quando possibile, l'importazione nella stagione in cui i vettori non sono attivi.

In una situazione epidemica, il successo nel controllo della malattia è in gran parte dovuto alla rapidità con cui si arriva alla diagnosi. L'isolamento del virus deve essere seguito dalla tipizzazione, visto che i metodi di profilassi a medio termine possono prevedere la vaccinazione utilizzando il sierotipo responsabile del focolaio.

La zona di protezione dovrà avere un raggio di almeno 50 km. È necessario impedire la movimentazione degli equini in quanto i loro spostamenti rappresentano il maggiore rischio di diffusione dell'infezione, più di quanto possa rappresentarlo il movimento dei vettori.

Gli animali infetti sono fonte di infezione per *Culicoides* spp. La viremia inizia 24 ore prima del rialzo termico, la sintomatologia clinica si manifesta solo più tardi, per cui aspettare la comparsa dei sintomi clinici rappresenta un rischio di diffusione della malattia. È bene rilevare la temperatura due volte al giorno, per le ragioni già esposte, ogni animale nello stato febbrile deve essere immediatamente isolato in stalle a prova di insetto per almeno 3-4 giorni, tempo necessario per la manifestazione dei sintomi. L'animale con sintomatologia clinica in atto deve essere immediatamente abbattuto. In caso non si disponga di stalle idonee, anche l'animale sospetto va immediatamente soppresso.

Tutti gli animali suscettibili devono essere stabulati in ambienti a prova di insetto, tenendo presente che *Culicoides* spp. sono attivi 1 o 2 ore prima del tramonto fino a due ore dopo l'alba. Si possono anche utilizzare sugli animali prodotti repellenti. Un accurato studio dell'habitat di *Culicoides* spp. consente di distruggere i "rifugi" degli insetti in prossimità delle stalle.

In situazione di endemicità, alla stabulazione dei cavalli si accompagna la vaccinazione. Il virus della PE fu isolato, per la prima volta in Sud Africa, da Arnold Theiler con un procedimento analogo a quello usato per la febbre gialla: l'inoculazione per via intracerebrale di topini neona-

ti. Nel 1934 fu prodotto il primo vaccino commerciale che conteneva tre sierotipi. In Sud Africa l'immunizzazione viene attualmente effettuata mediante l'inoculazione di un vaccino attenuato contenente otto dei nove sierotipi di virus. Il vaccino è somministrato in due dosi vaccinali quadrivalenti distanziate di 3 settimane l'una dall'altra. Questo intervallo può essere prolungato ma non ridotto poiché al 16°-18° giorno si hanno ancora fenomeni di interferenza fra i virus inoculati.

Il sierotipo 9 non è compreso nel vaccino usato in Sud Africa poiché ha una scarsa patogenicità e non si riscontra in Africa australe. Il suo riscontro è più frequente nell'emisfero settentrionale: è stato isolato nel 1959 in Pakistan, Iran e nell'Africa centrale e settentrionale. Nel 1965 è stato isolato in Nigeria e, più recentemente, in Arabia Saudita.

Inoltre, la correlazione tra i sierotipi 6 e 9 è tale che gli anticorpi anti-sierotipo 6 proteggono anche nei confronti del sierotipo 9. Tra gli 8 sierotipi inclusi nel vaccino esistono le seguenti correlazioni antigeniche:

sierotipo:	1	3	5	6	1 ^a dose vaccinale
	↑	↓	↓	↓	
sierotipo:	2	7	8	4	2 ^a dose vaccinale

Con il metodo della doppia dose vaccinale, la seconda inoculazione, oltre ad ampliare la risposta anticorpale, agisce come dose di richiamo sfruttando le correlazioni antigeniche. Solo dopo la seconda vaccinazione si può avere un'immunità polivalente e duratura. Lo schema di vaccinazione descritto induce la formazione di anticorpi neutralizzanti che permangono per due o tre anni, oltre questo periodo gli animali esposti all'infezione sono protetti dalla malattia clinica, ma possono presentare viremia.

Nel corso degli anni il vaccino attenuato preparato da tessuto nervoso di topini, a causa del suo neurotropismo, ha provocato casi sporadici di encefalite negli equini.

Successivamente, con l'utilizzo di colture cellulari, si è potuto dimostrare che la popolazione virale era costituita da due componenti geneticamente stabili: una componente che in colture cellulari induce la formazione di piccole placche e l'altra che induce la formazione di grandi placche.

La prima componente ha spiccato tropismo per il polmone e provoca alterazioni a carico del tessuto endoteliale, inoculata al cavallo induce una forma iperacuta di malattia. La seconda, avendo tropismo per il tessuto linfoide, inoculata al cavallo non induce alcun sintomo di malattia. Quest'ultima componente si è dimostrata appropriata per la produzione del vaccino.

La sperimentazione condotta nel tentativo di mettere a punto un vaccino inattivato di sicura efficacia, non ha dato risultati soddisfacenti.

Più di recente, con l'utilizzo di tecnologie più avanzate, sembra sia possibile produrre vaccini monovalenti inattivati di efficacia soddisfacente.

Bibliografia

- Alexander R.A. 1935. Studies on the neurotropic virus of horsesickness. I. Neurotropic fixation. Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry, **4**: 291-321.
- Alexander R.A. 1935. Studies on the neurotropic virus of horsesickness. II. Some physical and chemical properties. Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry, **4**: 323-348.
- Alexander R.A. 1935. Studies on the neurotropic virus of horsesickness. III. The intracerebral protection test and its application to the study of immunity. Onderstepoort Journal of Veterinary Science, **4**: 349-377.
- Alexander R.A. 1936. Studies on the neurotropic virus of horsesickness. V. The antigenic response of horses to simultaneous trivalent immunization. Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry, **7**: 11-16.
- Alexander R.A. 1948. The 1944 epizootic of horsesickness in the Middle East. Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry, **23**: 77-92.
- Alexander K.A., P.W. Kat, J. House, C. House, S.J. O' Brien, M.K. Laurenson, J.W. McNutt and B.I. Osburn 1995. African horse sickness and African carnivores. Veterinary Microbiology, **47**: 133-140.
- Anderson E.C., P. Mellor and C. Hamblin 1989. African horsesickness in Saudi Arabia. The Veterinary Record, **4**: 489.
- Anon. 1991. African horsesickness. In: Manual of Recommended Diagnostic Techniques and Requirements for Biological Products for Lists A and B Diseases. Vol. III. Office International des Epizooties, Paris, France.
- Awad F.I., M.M. Amin, S.A. Salama and S. Knide 1981. The role played by *Hyalomma dromedarii* in the transmission of African horsesickness virus in Egypt. Bulletin of Animal Health and Production in Africa, **29E**: 337-340.

- Barnard H.J.H. 1994. Epidemiology of African horsesickness: duration of viraemia in zebra (*Equus burchelli*). Onderstepoort Journal Veterinary Research, **61**: 391-393.
- Best J.R., A. Abegunde and W.P. Taylor 1975. An outbreak of African horsesickness in Nigeria. The Veterinary Record, **97**: 394.
- Blackburn N.K. and R. Swanepoel 1988. African horsesickness in Zimbabwe: 1972 to 1981. Tropical Animal Health and Production, **20**: 169-176.
- Blackburn N.K. and R. Swanepoel 1988. Observations on antibody levels associated with active and passive immunity to African horsesickness. Tropical Animal Health and Production, **20**: 203-210.
- Bosman P., G.K. Bruckner et A. Faul 1995. African horse sickness surveillance systems and regionalisation/zoning: the case of South Africa. Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties, **14**(3): 645-653.
- Bremer C.W., H. Huismans and A.A. Van Dijk 1990. Characterization and cloning of the African horsesickness virus genome. Journal of General Virology, **71**: 793-799.
- Coetzer J.A.W. and B.J. Erasmus 1994. African Horsesickness. In: J.A.W. Coetzer G.R. Thompson and R.C. Tustin, (eds.), Infectious disease of Livestock, vol. 2, Oxford University Press, Southern Africa.
- Davies F.G. and L.J. Lund 1974. The application of fluorescent antibody techniques to the virus of African horsesickness. Research in Veterinary Science, **17**: 128-130.
- Davies F.G. and S. Otieno 1977. Elephants and zebras as possible reservoir hosts for African horsesickness virus. The Veterinary Record, **100**: 291-292.
- Dubourget P., J.M. Preaud, N. Detraz, F. Lacoste, A.C. Fabry, B.J. Erasmus and M. Lombard 1994. Developments in vaccines for African horse sickness. Foot and mouth disease, African horse sickness and contagious bovine pleuropneumonia: OIE Scientific Conference, Gaborone, Botswana, 20-23 April, 1994: summaries and conclusions. 1994, 37.
- Du Plessis D.H., W. Van Wyngaardt, G.H. Gerdes and E. Opperman 1991. Laboratory confirmation of African horsesickness in the Western Cape: Application of a F(ab')₂-based indirect Elisa. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, **58**: 1-3.
- Du Toit R.M. 1944. The transmission of bluetongue and horsesickness by *Culicoides*. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, **19**: 7-16.
- Erasmus B.J. 1963. Cultivation of horsesickness virus in tissue culture. Nature, **200**: 716-719.
- Erasmus B.J. 1964. Some observations on the propagation of horsesickness virus in tissue culture. Bulletin de l'Office International des Epizooties, **62**: 923-928.
- Erasmus B.J. 1972. The pathogenesis of African horsesickness. Proceedings of the Third International Conference on Equine Infectious Diseases, Paris, 1-11. Basel, Karger.
- Erasmus B.J. 1977. Bluetongue and African horsesickness viruses. International Symposium on Reoviridae, May 1977. Guelph.

- Erasmus B.J. 1978. A new approach to polyvalent immunization against African horsesickness. *In*: Bryans J.T. and Gerber H., (ed.). *Equine Infectious Diseases, Proceedings of the Fourth International Conference on Equine Infectious Diseases, 24-27 September 1976, Princeton, New Jersey, Veterinary Publications, Inc.*
- Erasmus B.J., E. Young, L.M. Pieterse and S.T. Boshoff 1978. The susceptibility of zebra and elephants to African horsesickness virus. *In*: Bryans J.T. and Gerber H., (ed.). *Equine Infectious Diseases. Proceedings of the Fourth International Conference on Equine Infectious Diseases, 24-27 September 1976, Princeton, New Jersey, Veterinary Publications, Inc.*
- Hamblin C., C. Cruciere, M.A. Cubillo, M. Diaz Laviada, H. Hooghus, P.P.C. Mertens, E. Plateau, C. Rubio, J.M. Sanchez Vizcaino, A. Wade Evans, S. Zientara, H. Nakajima and W. Plowright 1994. African horse sickness in Europe: development and validation of diagnostic assays. *Equine infectious diseases VII: Proceedings of the Seventh International Conference, Tokyo, Japan 8th-11th June 1994*, 328.
- Hamblin C., S.D. Graham, E.C. Anderson and J.R. Crowther 1990. A competitive Elisa for the detection of group-specific antibodies to African horsesickness virus. *Epidemiology and Infection*, **104**: 303-312.
- Hamblin C., P.S. Mellor, S.D. Graham, H. Hooghuis, R.C. Montejano, M.A. Cubillo and J. Boned 1991. Antibody in horses, mules and donkeys following monovalent vaccination against African horsesickness. *Epidemiological Infections*, **106**: 365-371.
- Hamblin C., P.P.C. Mertens, P.S. Mellor, J.N. Burroughs and J.R. Crowther 1991. A serogroup specific enzyme-linked immunosorbent assay for the detection and identification of African horsesickness viruses. *Journal of Virological Methods*, **31**: 285-292.
- Hamblin C., T. Woolhouse, P.P.C. Mertens, G. Halabi, A.M. Wade Evans, M. Schwyzer and M. Ackermann (Editors) 1995. Preliminary studies for the evaluation of an improved competitive ELISA for the detection of antibodies against African horse sickness viruses. *Immunobiology of viral infections. Proceedings 3rd Congress of the European Society for Veterinary Virology Interlaken, Switzerland, 4-7 September, 1994*, pp. 226-229.
- Hazrati A. 1967. Identification and typing of horsesickness virus strains isolated in the recent epizootic of the disease in Morocco, Tunisia, and Algeria. *Archiv Institut Razi*, **19**: 131-143.
- Hess W.R. 1988. African horsesickness. *In*: Monath T.P., (ed.). *The Arboviruses: Epidemiology and Ecology. Vol. 11. Boca Raton, Florida, CRC Press, Inc.*
- House J.A., M. Lombard, P. Dubourget, C. House and C.A. Mebus 1994. Further studies on the efficacy of an inactivated African horse sickness serotype 4 vaccine. *Vaccine*, **12(2)**: 142-144.
- House C., P.E. Mikiciuk and M.L. Berringer 1990. Laboratory diagnosis of African horsesickness: Comparison of serological techniques and evaluation of storage methods of samples for virus isolation. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigations*, **2**: 44-50.

- Huq M.M. 1961. African horsesickness in Pakistan. Bulletin de l'Office International des Epizooties, **55**: 278-284.
- Laegreid W.W. 1994. Diagnosis of African horsesickness. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, **17**: 297-308.
- Mellor P.S. 1994. Epizootiology and vectors of African horse sickness virus. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis., **17(3-4)**: 287-296.
- Mellor P.S., J. Boned, C. Hamblin and S.D. Graham 1990. Isolations of African horsesickness virus from vector insects made during the 1988 epizootic in Spain. Epidemiology and Infection, **105**: 447-454.
- Mellor P.S. and J. Boorman 1995. The transmission and geographical spread of African horse sickness and bluetongue viruses. Ann. Trop. Med. Parasitol., **89(1)**: 1-15
- Mellor P.S., R. Capela, C. Hamblin, H. Hooghuis, P.P.C. Mertens, E. Plateau, J.M. Sanchez Vizcaino, H. Nakajima and W. Plowright 1994. African horse sickness in Europe: epidemiology. Equine infectious diseases VII: Proceedings of the Seventh International Conference, Tokyo, Japan 8th-11th June 1994, pp. 61-64.
- Mellor P.S., C. Hamblin and S.D. Graham 1990. African horse sickness in Saudi Arabia. The Veterinary Record, **127**: 41-42.
- Mellor P.S. 1993. African horsesickness: transmission and epidemiology. Veterinary Research, **24**: 199-212.
- Meiswinkel R. and L.E.O. Braack 1994. African horsesickness epidemiology: five species of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) collected live behind the ears and at the dung of the African elephant in the Kruger National Park, South Africa. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, **61(2)**: 155-170.
- Mizukoshi N., K. Sakamoto, A. Iwata, T. Tsuchiya, S. Ueda, H. Imagawa, T. Sugiura, M. Kamada, A. Fukusho, H. Nakajima and W. Plowright 1994. The complete nucleotide sequences of African horse sickness virus serotype 4 (vaccine strain) RNA segments 2 and 6 which encode the outer capsid proteins VP2 and VP5. Equine infectious diseases VII: Proceedings of the Seventh International Conference, Tokyo, Japan 8th-11th June 1994, pp. 329-330.
- Oellermann R.A., H.J. Els and B.J. Erasmus 1970. Characterization of African horsesickness virus. Archiv fur gesamte Virusforschung, **29**: 163-174.
- Orhan A. 1961. Notes on African horsesickness in Cyprus. Bulletin de l'Office International des Epizooties, **55**: 250-257.
- Ortega M.D. and F.R. Holbrook 1994. Presence of *Culicoides imicola* (Diptera: Ceratopogonidae) in Jaen, Spain. J. Am. Mosq. Control. Assoc., **10(3)**: 463.
- Ozawa Y., A. Hazrati and N. Erol 1965. African horsesickness live virus tissue culture vaccine. American Journal of Veterinary Research, **26**: 154-167.
- Rawlings P. and P.S. Mellor 1991. African horse sickness and the overwintering mechanism of culicoides spp. in the Iberian peninsula. Revue Scientific et Technique de l' OIE, **13**: 753-761.

- Roy P., P.P. Mertens and I. Casal 1994. African horse sickness virus structure. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, **17(3-4)**: 243-273.
- Saiko R.K., D.H. Gelfand, S. Stoffel, S.T. Scharf, R. Hinguchi, G.T. Horn, K.B. Mullis and H.A. Erlich 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239, pp. 487-491.
- Salama S.A., A.H. Dardiri, F.I. Awad, A.M. Soliman and A.A. Amin 1981. Isolation and identification of African horsesickness virus from naturally infected dogs in upper Egypt. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 45, pp. 392-396.
- Sellers R.F., D.E. Pedgley and M.R. Tucker 1977. Possible spread of African horse-sickness on the wind. *Journal of Hygiene, (Cambridge)*, **79**: 279-298.
- Venter G.J. and R. Meiswinkel 1994. The virtual absence of *Culicoides imicola* (*Diptera: Ceratopogonidae*) in a light-trap survey of the colder, high-lying area of the eastern Orange Free State, South Africa, and implications for the transmission of arboviruses. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, **61(4)**: 327-340.
- Venter E.H., G.J. Viljoen, L.H. Nel, H. Huismans and A.A. Van Dijk 1991. A comparison of different genomic probes in the detection of virus-specified RNA in Orbivirus-infected cells. *Journal of Virological Methods*, **32**: 171-180.
- Verwoerd D.W., H. Huismans and B.J. Erasmus 1979. Orbiviruses. *In: Filankel CONIZAT H. and Wagner R.R., (eds). Comprehensive Virology, Vol.14. New York: Plenum Press.*
- Vreede F.T. and H. Huisman 1994. Cloning, characterization and expression of the gene that encodes the major neutralization specific antigen of African horsesickness virus serotype 3. *Journal of General Virology*, **75**: 3629-3633.
- Yehya G. 1994. Problems associated with international trade and the movement of horses in the Middle East. *Comprehensive reports on technical items presented to the International Committee or to Regional Commissions 1993. Office International des Epizooties.*
- Wetzel H., E.M. Nevill and B.J. Erasmus 1970. Studies on the transmission of African horsesickness. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, **37**: 165-168.
- Williams R. 1987. A single dilution enzyme-linked immunosorbent assay for the quantitative detection of antibodies to African horsesickness virus. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, **54**: 67-70.
- Zientara S., C. Sailleau, S. Moulay and C. Cruciere 1994. Diagnosis of the African horse sickness virus serotype 4 by a one-tube, one manipulation RT-PCR reaction from infected organs. *Journal of Virological Methods*, **46(2)**: 179-188.
- Zientara S., C. Sailleau, S. Moulay, A. Wade Evans and C. Cruciere 1995. Application of the polymerase chain reaction to the detection of African horse sickness viruses. *J. Virol. Methods*, **53(1)**: 47-54.