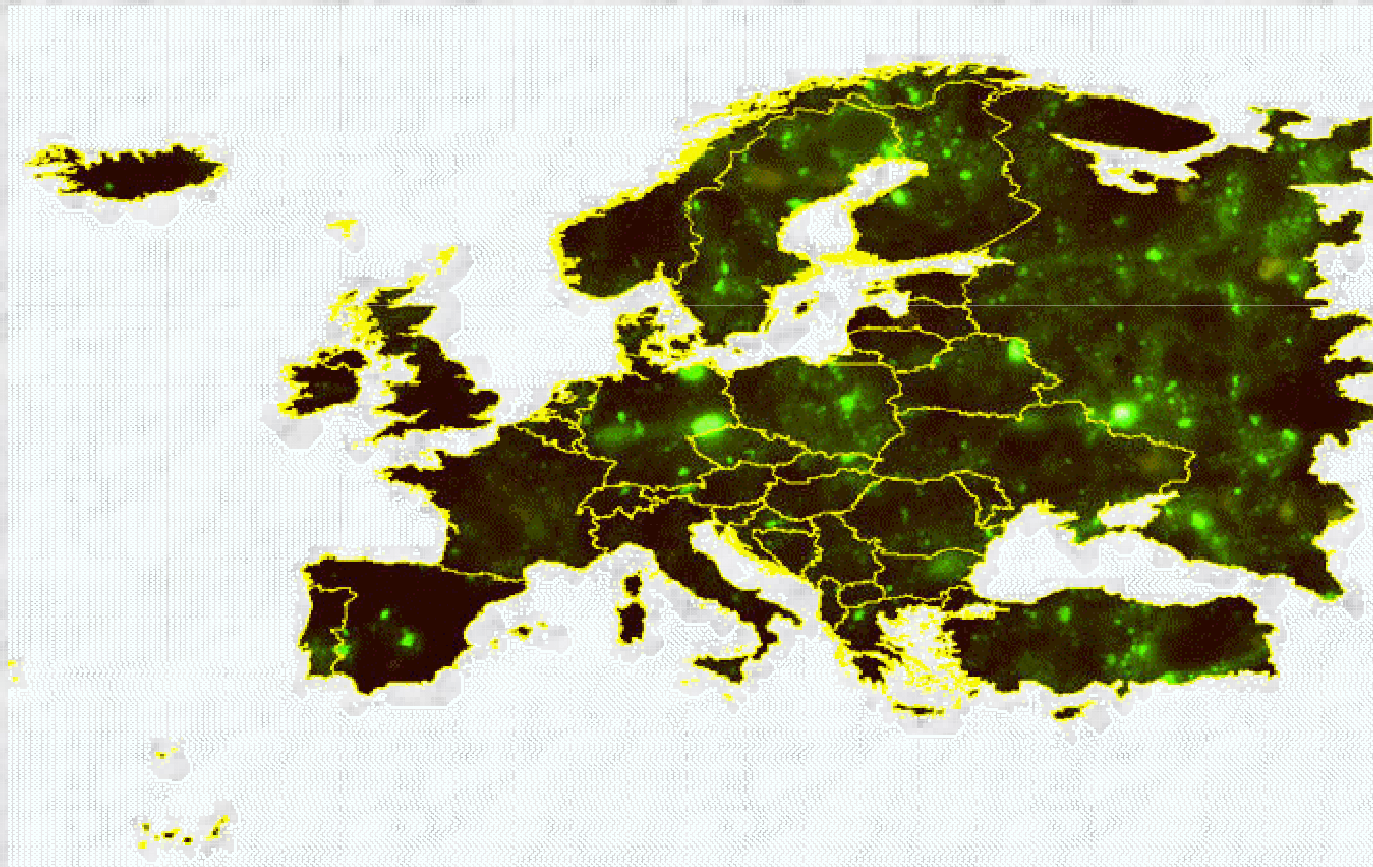


# Rabbia

Scuola di Scienze Mediche Veterinarie

UNICAM

# Una emergenza globale



# Rabbia: eziologia

- Ordine *Mononegavirales*
- Famiglia *Rhabdoviridae*
- Genere
  - *Lyssavirus*
    - Virus Rabbia, Lagos bat, Mokola virus, Duvenhage virus, European bat virus 1 & 2 ed il nuovo Australian bat virus.
  - *Ephemerovirus*
  - *Vesiculovirus*

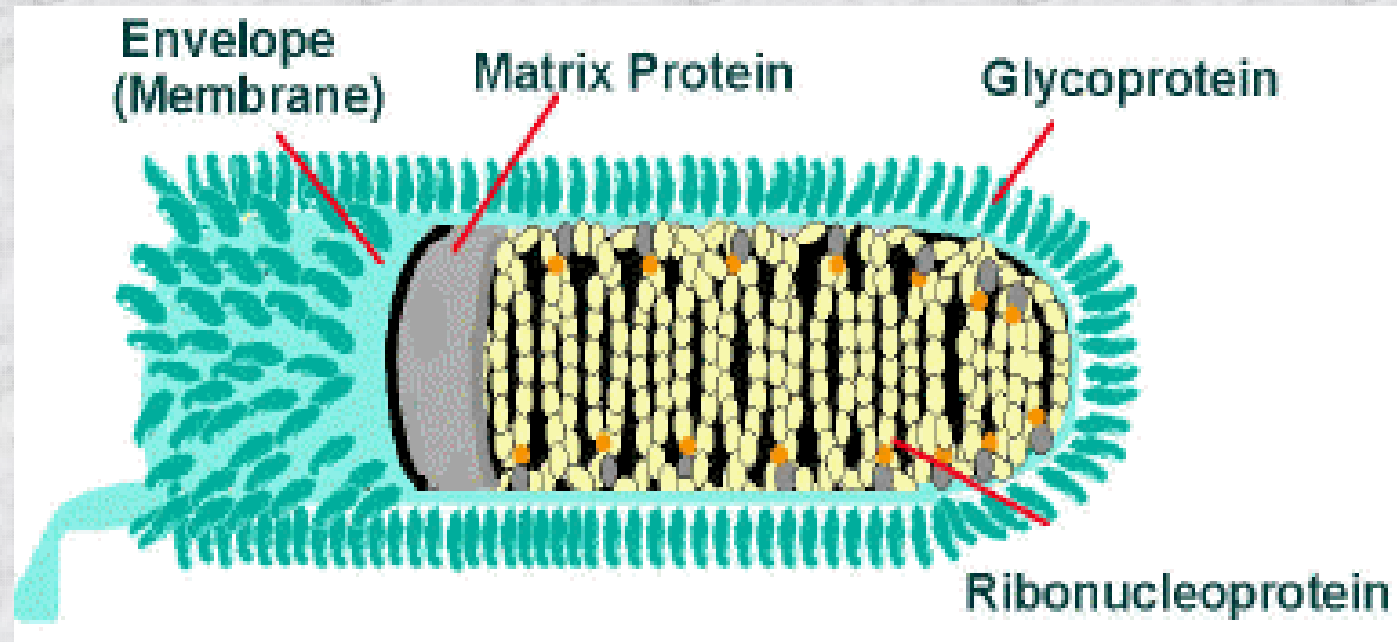
# Rabbia: eziologia

- Dimensioni: 180 nm X 75 nm
- Genoma codifica per 5 proteine
  - nucleoproteina (N)
  - fosfoproteina (P)
  - proteine matrice (M)
  - glicoproteina (G)
  - polimerasi (L)

# Rabbia: eziologia

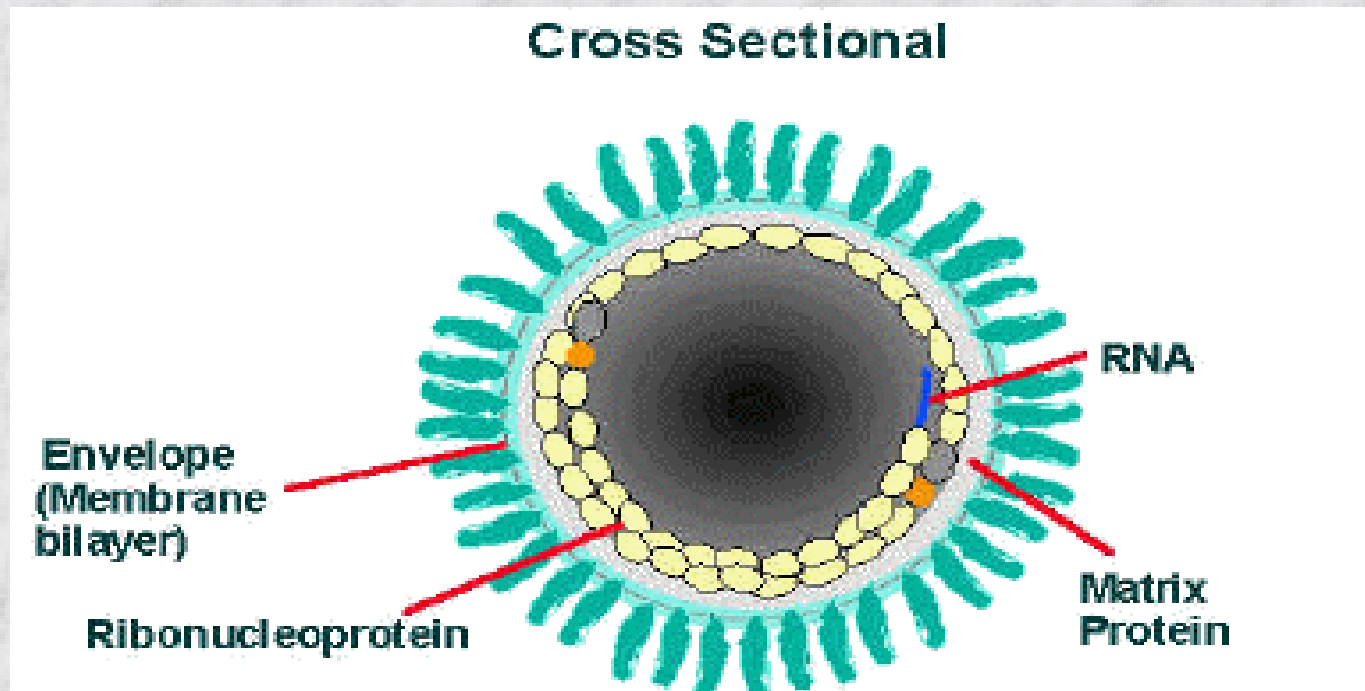
- Presenza di 2 componenti strutturali maggioritari:
  - Core Ribonucleoproteico ad elica (RNP)
    - Associato a fosfoproteina e polimerasi
  - Envelope
- La glicoproteina forma circa 400 spikes trimerici posti sulla superficie del virus
- La proteina M è associata sia all'envelope che al RNP e rappresenta la proteina centrale dell'assemblaggio dei rhabdovirus

# Rabbia: eziologia



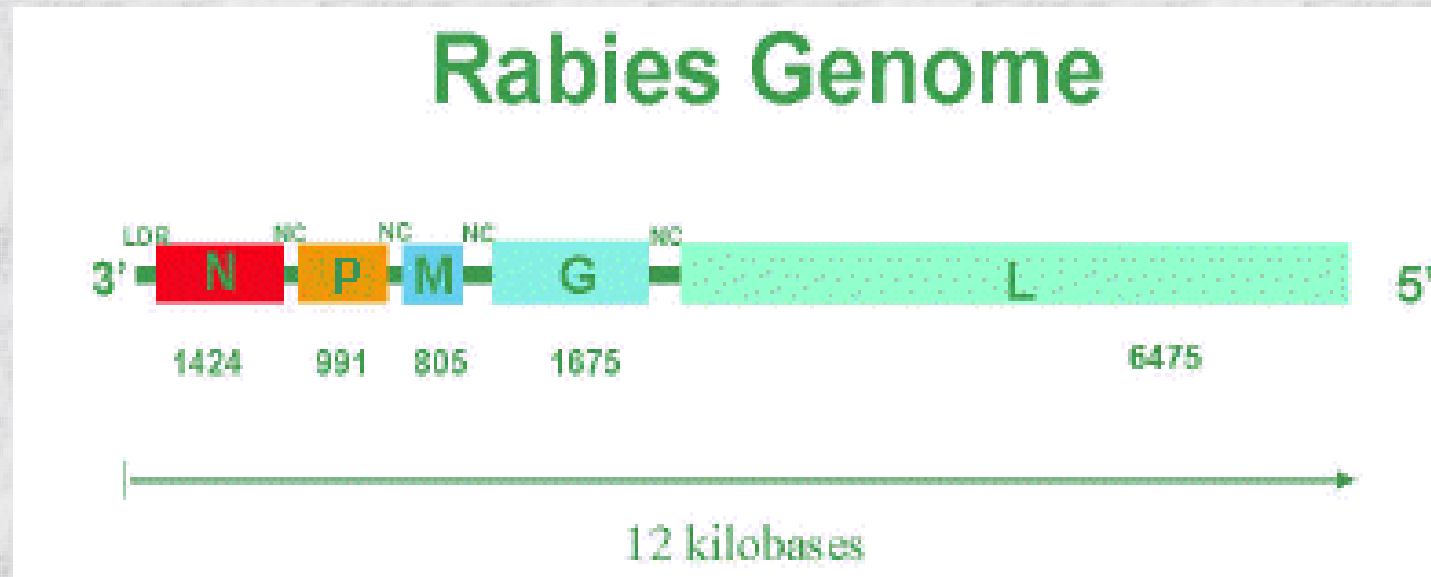
- Virione della Rabbia: forma a proiettile con peplomeri glicoproteici spike-like di 10 nm disposti sulla superficie.

# Rabbia: eziologia



- Envelope bilaminare
- Membrana matrice

# Rabbia: genoma



- RNA monocatenario, negativo, non segmentato
- Codifica per le proteine N, P, M, G ed L



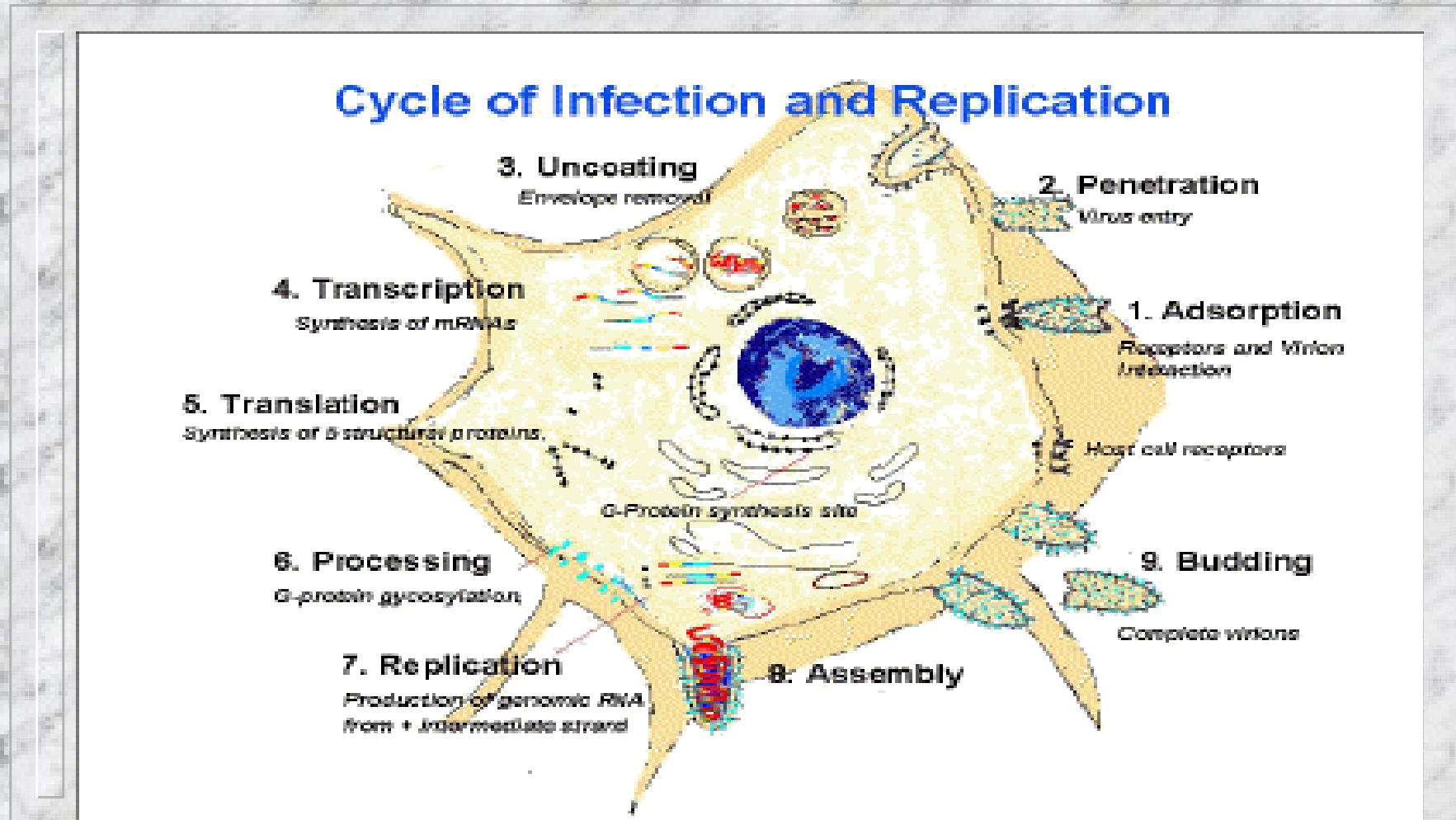
# Rabbia: ciclo di replicazione

- Fusione dell'envelope virale alla membrana della cellula ospite (adsorbimento)
- Interazione della proteina G con i recettori cellulari specifici.
- Penetrazione ed ingresso nel citoplasma per pinocitosi
- I virioni si aggregano in endosomi (vescicole citoplasmatiche).
- Le membrane virali si fondono alle membrane endosomiali, causando il rilascio dell'RNP nel citoplasma (uncoating).

# Rabbia: ciclo di replicazione

- Poiché i Lyssavirus hanno un genoma costituito da acido ribonucleico (RNA) lineare, single-stranded, negative-stranded, un "positive" strand complementare di RNA deve essere trascritto prima della replicazione virale.
- Sintesi proteiche
- Ricostruzione del capsid
- Acquisizione envelope dalla membrana cellulare

# Rabbia: ciclo di replicazione



# Rabbia

- Il virus della rabbia causa una encefalite acuta in tutti gli animali a sangue caldo ad esito letale.
- Solo alcune specie di mammiferi possono fungere da reservoirs
  - Procione, volpe, coyote, moffetta, mangosta
  - Molte specie di chiroteri insettivori ematofagi

# Rabbia: caratteristiche biologiche

## ■ Virus da strada

- responsabile di malattia spontanea
- periodo d'incubazione variabile

## ■ Virus fisso di Pasteur

- stipite adattato sul coniglio mediante passaggi seriali, inoculato per via intracerebrale
- periodo d'incubazione fisso
  - 6 giorni

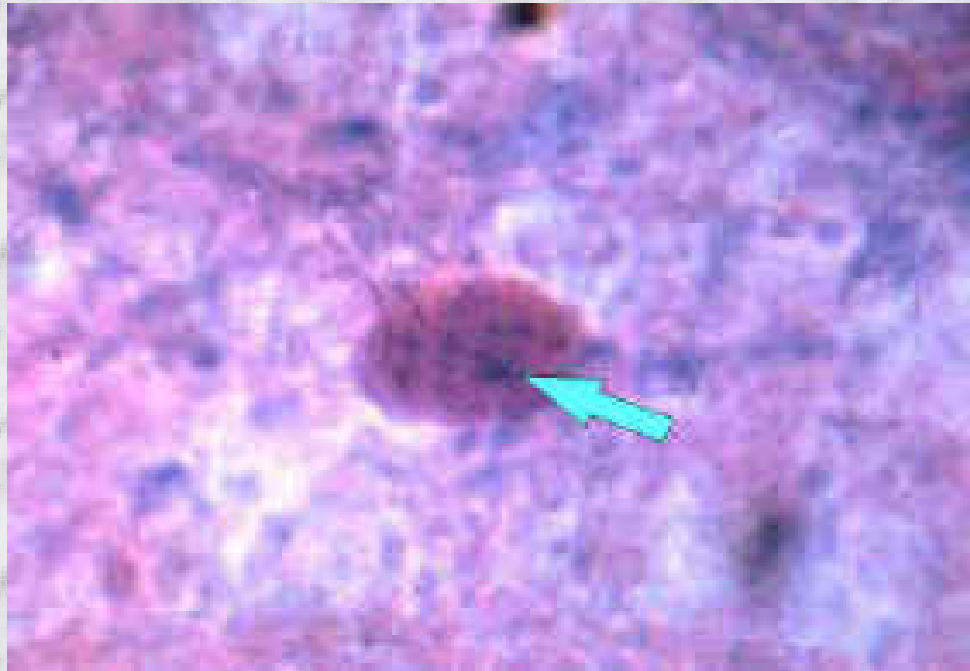
# Virus fisso di Pasteur

- Ottenuto dopo 80 passaggi sul coniglio
- Patogeno solo se inoculato per via
  - intracerebrale
  - endoculare
  - intranasale
- Induce sempre forma paralitica
  - fa eccezione la cavia
    - forma furiosa con morte in 24 ore (7<sup>a</sup> giornata)

# Virus fisso di Pasteur

- Induce lesioni istologiche rappresentate da granulazioni nel citoplasma delle cellule nervose da non confondere con i Corpi del Negri
- **Corpi del Negri**
  - fenomeni degenerativi - non inclusi virali
- Il virus da strada replica nella nevroglia e dopo distruzione invade i neuroni
- Il virus fisso replica nel neurone e lo distrugge in 4-5 giorni
  - Solo forme paralitiche e assenza di inclusi

# Rabbia: Corpi del Negri



Colorazione di Sellers



# Rabbia: caratteristiche antigeniche

- Variabile dal punto di vista antigenico
  - in relazione alla specie animale ed all'area geografica di isolamento
- Assenza di correlazione con altri virus rabbia-like
- Presenza di antigene solubile in grado di indurre formazione di anticorpi neutralizzanti e fissanti il complemento
- Presenza di antigene emagglutinante
  - attivo su emazie di Oca a 4°C

# Rabbia: epidemiologia

- **Ciclo silvestre**

- sono implicati gli animali selvatici

- **Ciclo urbano**

- sono implicati gli animali domestici e randagi

In entrambi i casi può essere coinvolto

**l'UOMO**

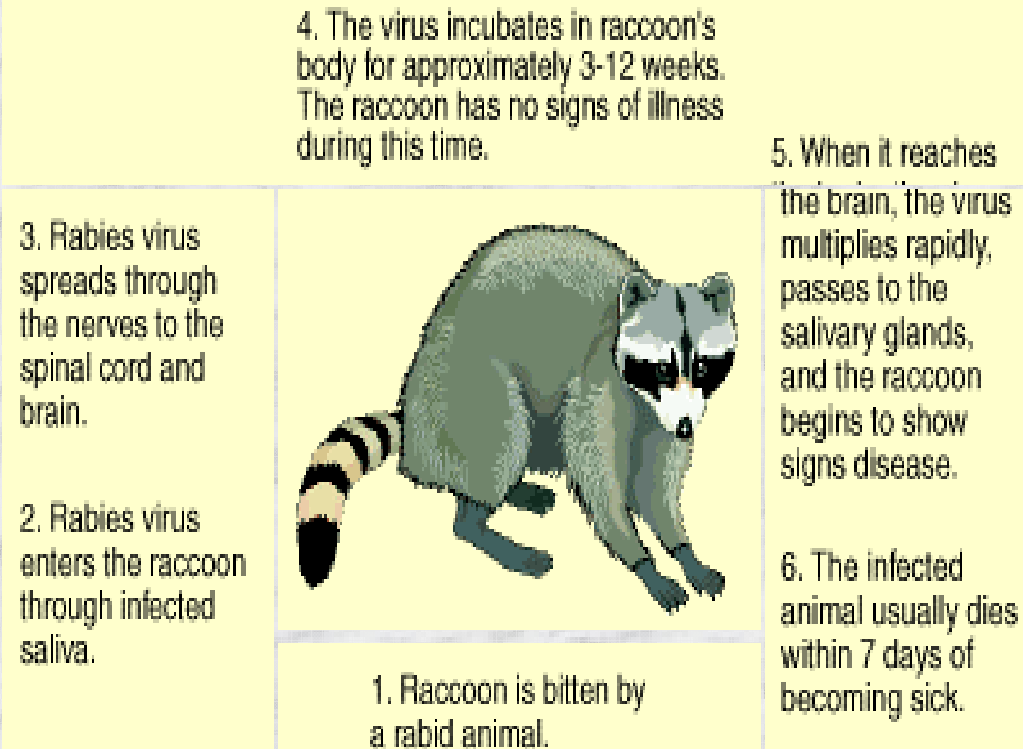
**L'alta letalità condiziona la diffusione**

# Rabbia: Trasmissione Procione



# Rabbia: ciclo nel Procione

## Figure 1. The infectious path of rabies virus



# Maschio di pipistrello rosso



# Pipistrello bianco, maschio



# Pipistrello messicano free-tailed



# Pipistrello big brown





# Pipistrello little-brown

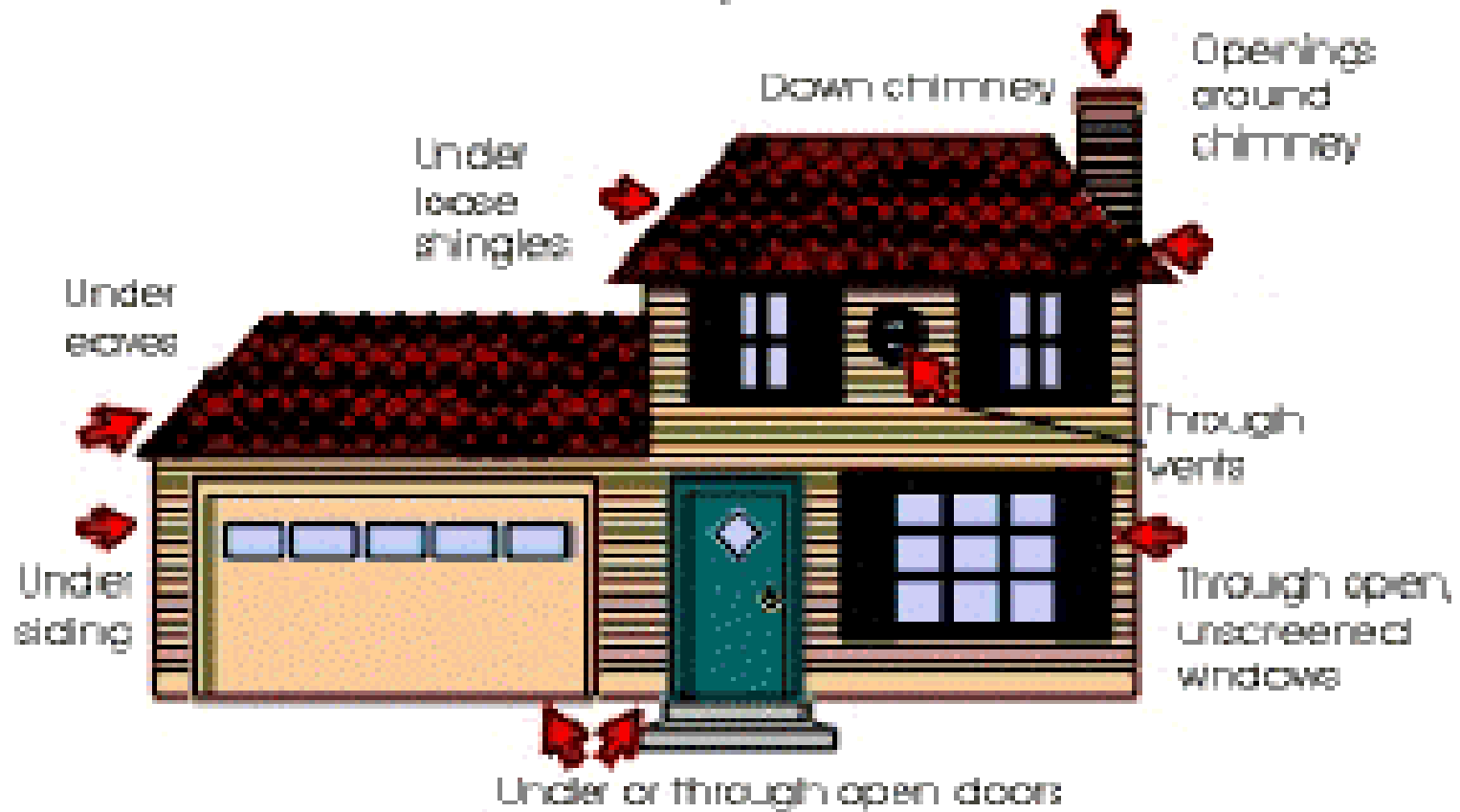


# Pipistrello argentato



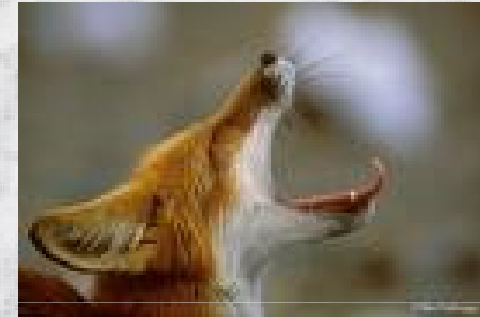
# Vie d'ingresso dei pipistrelli

## Common Bat Entry Points



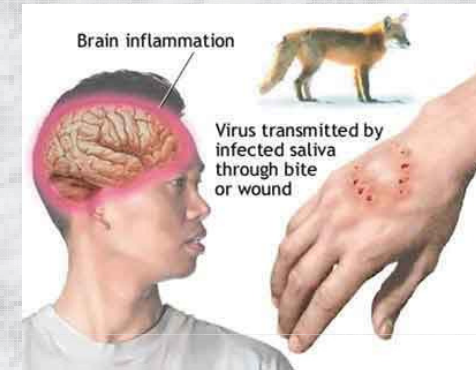
# Rabbia: Trasmissione

## Volpe rossa



# Rabbia: trasmissione

- Passaggio di saliva infetta
- Varie vie di trasmissione
  - contaminazione delle mucose
    - occhio, naso, bocca
  - aerosol
  - trapianto corneale
- Il più comune modo di trasmissione è con il morso e con la saliva di animali infetti



# Rabbia trasmissione

- In seguito a infezione primaria il virus si eclissa
- In tale fase non è facilmente svelabile
- Questa fase può durare diversi giorni o mesi
- Ingresso del virus nei nervi nel sito d'ingresso
- Presenza del virus nel tessuto muscolare

# Rabbia: patogenesi

- L'infezione non sempre è seguita da malattia clinicamente manifesta
  - il virus, in bassa concentrazione, si è esaurito nella sede di inoculo
  - l'infezione si conclude prima di raggiungere il S.N.C.
    - presenza di anticorpi neutralizzanti in soggetti sicuramente non vaccinati

# Rabbia: patogenesi

- Affinché si realizzi l'infezione
  - concentrazione elevata del virus
    - morsicature profonde e numerose aumentano la possibilità di insorgenza della malattia
  - morsicatura in zone altamente innervate
    - testa, collo, polpastrelli, genitali
  - una volta penetrato il virus deve raggiungere il Sistema Nervoso Centrale



# Rabbia: patogenesi

- **Eventi iniziali**
  - morsicatura, lambitura, inf. diaplacentare
- **Invasione del Sistema Nervoso Centrale**
  - Migrazione centripeta (3mm/h)
- **Disseminazione verso siti esterni al SNC**
  - Migrazione centrifuga
- **Reazioni dell'organismo**

# Rabbia: patogenesi

- Replicazione del virus sempre in sede muscolare
- Il virus non è citolitico per i miociti
  - trasferimento da cellula a cellula per contiguità
    - impossibile neutralizzazione da parte anticorpi
- Passaggio del virus nel cilindrasse dei nervi
  - inizio progressione verso il S.N.C.
    - virus esposto, suscettibile azione anticorpi

# Rabbia: patogenesi

- Localizzazione virus nei recettori neuromuscolari e neurotendinei
- Progressione passiva lungo l'assone
  - cellule perenni prive di ribosomi
    - assenza di replicazione virale
- Replicazione del virus nei gangli spinali
- Propagazione lungo il midollo spinale
- Raggiungimento encefalo
- Importante stazione intermedia: *Ganglio di Gasser*

# Rabbia: patogenesi

- Replicazione nelle cellule del corno d' Ammone
- Replicazione cellule del Purkinie
- Invasione di tutto l'encefalo
- La replicazione vera e propria si realizza nelle cellule della Glia
- Il neurone subisce solo gli effetti di tale replicazione

# Rabbia: patogenesi

- Regione del corno d'Ammonio controlla le sensazioni di lingua, viso, collo, movimento arti e corde vocali.
- Diffusione del virus in senso centrifugo mediante il cilindro del nervo
- raggiunge i gangli salivari e replica attivamente nelle cellule acinose mucipare
- Altamente citolitico, distrugge gli acini e si riversa nella saliva
- Nell'uomo e negli erbivori non citolitico
- *In vitro* non citolitico
- Diffusione in tutto l'organismo - muscolatura toracica

# Rabbia: sintomatologia

- Fase prodromica
- Fase clinica evidente
  - Forma furiosa
  - Forma paralitica o muta

# Rabbia: sintomatologia

## ■ Fase prodromica

- non sempre caratterizzata da sintomi
- quando presenti molto vaghi e aspecifici
- visibile nell'uomo e nel cane
  - Anoressia
  - Vomito
  - Fotofobia
  - Difficoltà assunzione acqua
  - Scialorrea
- durata 2-3 giorni

# Rabbia: sintomatologia

## ■ Fase clinica

### – Forma furiosa

- Progressivo aumento dello stato di ipereccitabilità
- Reazione esagerata ad ogni minimo stimolo
- Animale insaziabile, pica
- Perdita orientamento
- Intensa sensazione di dolore in seguito a neurite
- Prurito generalizzato (Aujeszky: localizzato)
- Tendenza a fuggire, aggressivo



# Rabbia: sintomatologia

## ■ Forma clinica

### – Forma furiosa

- Occhio assente, vacuo, vitreo
- Cambiamento tonalità voce, gutturale
- Interessamento muscoli glottide
  - impossibilità a deglutire
- Intensa scialorrea con presenza di bava in bocca
- L'animale ha sete ma non riesce a bere, idrofobia
- Bocca beante per paralisi masseteri, lingua pendula

### – Durata 4-5 giorni

# Rabbia: sintomatologia

## ■ Fase clinica

### – Forma paralitica o muta

- Inizia con il cambiamento della voce
- Animale depresso, con sguardo assente, perso nel vuoto, privo di aggressività
- Impossibilità a mantenere la stazione
- Comparsa dei segni paralitici
  - inizio dalla parte posteriore
- Morte per paralisi muscoli respiratori

# Rabbia: diagnosi

## ■ Diagnosi clinica

- Collettiva
- Urbana
  - sporadica
- Silvestre
  - endemica
- Individuale

# Rabbia: diagnosi

## ■ Esame istologico

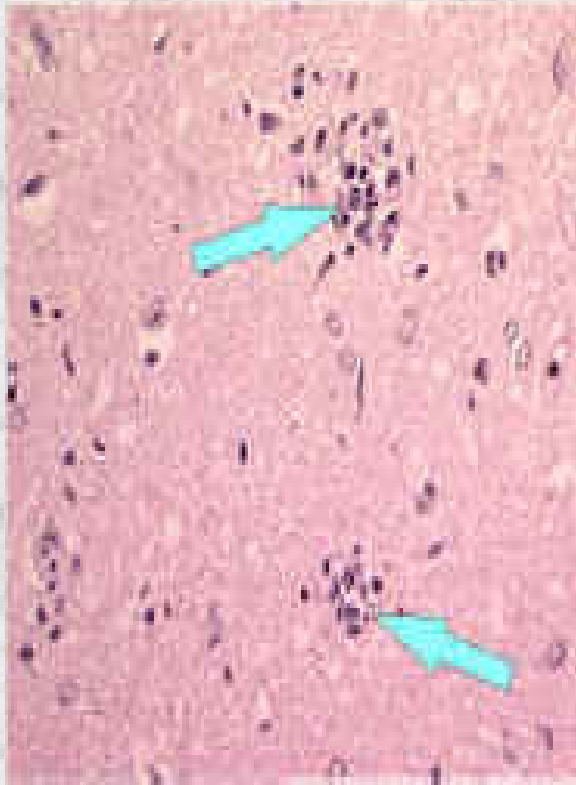
- Presenza di lesioni riportabili a
  - Meningite
  - Infiltrazione perivascolare a manicotto
  - Neuronofagia
- Corpi del Negri
  - patognomoniche nel cane nelle cellule piramidali del Corno d'Ammon
  - nel bovino nelle cellule del Purkinje del cervelletto

# Rabbia: diagnosi

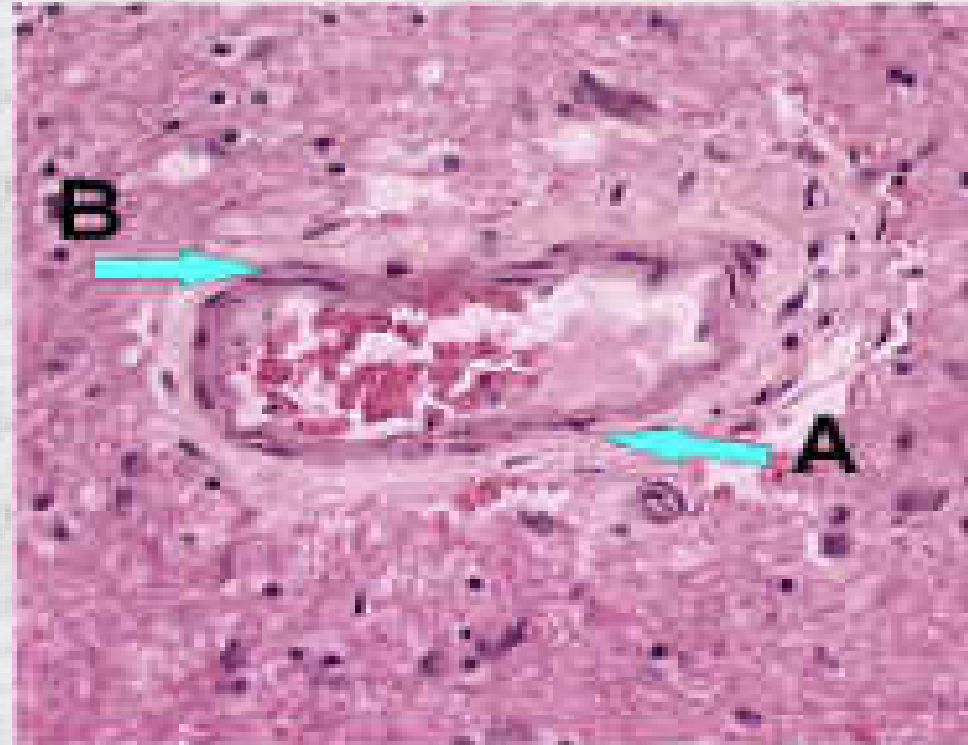


Inflammation perivascolare, SNC (100X e 200X)

# Rabbia: diagnosi



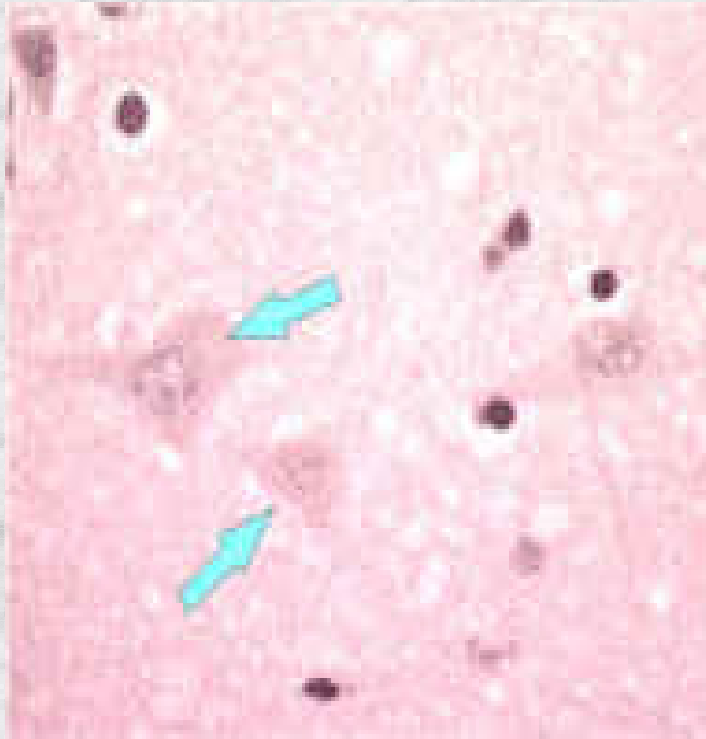
Inclusi virali



Vaso senza cellule infiammatorie

A - Globuli rossi B - Cellule epiteliali squamose

# Rabbia: diagnosi

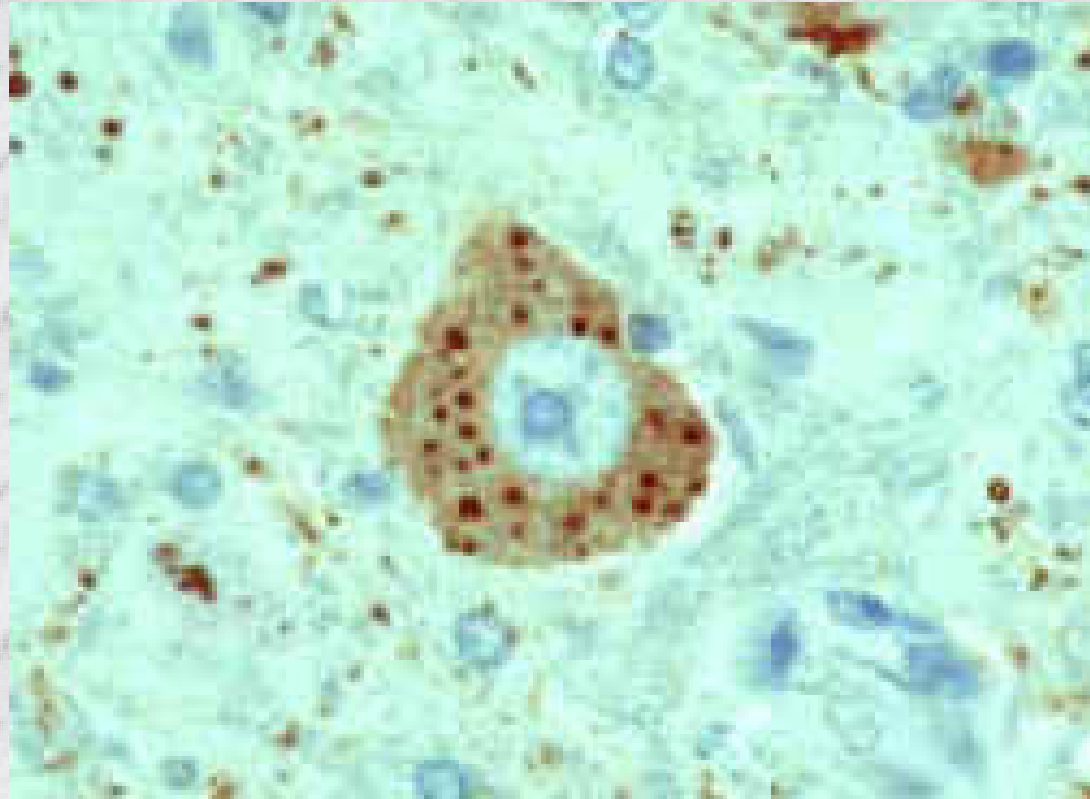


Neurone normale



Corpi del Negri

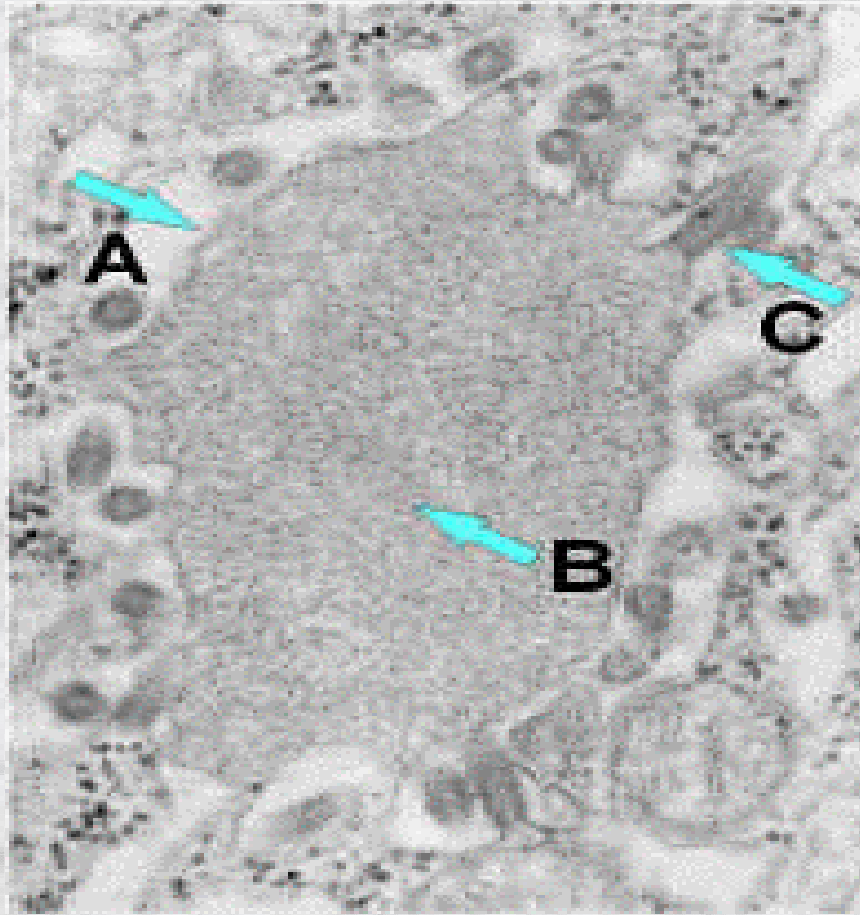
# Rabbia: diagnosi



Neurone infetto: Tecnica complesso Avidina-Biotina



# Rabbia: diagnosi



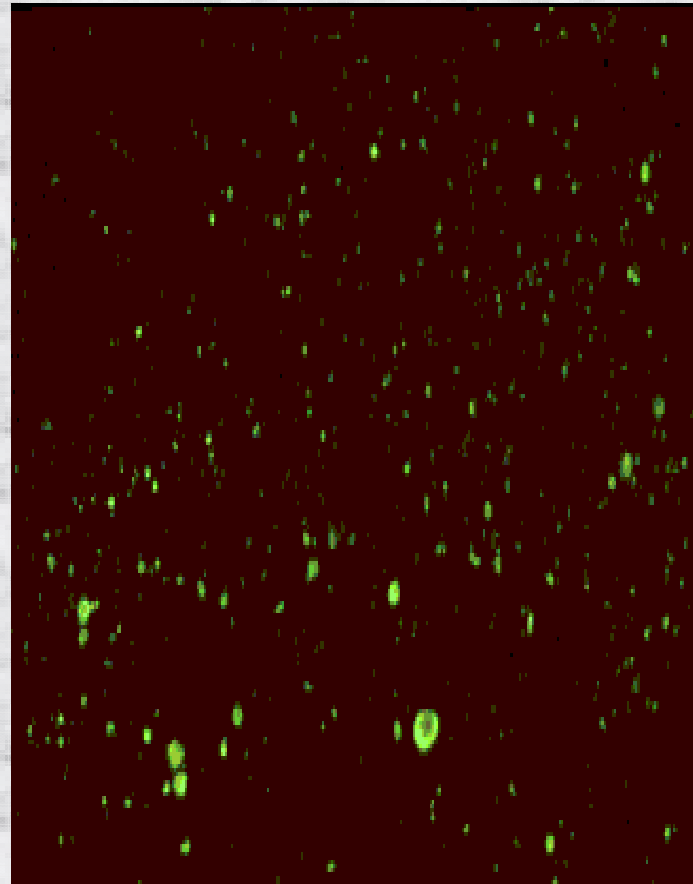
- A - Corpi del negri
- B - Abbondanti RNP nell'inclusione
- C - Budding

# Rabbia: diagnosi

## ■ Immunofluorescenza

- Rapida esecuzione
- Elevata attendibilità
- Risultati positivi anche in assenza di Corpi del Negri all'esame istologico
- Applicabile anche ai tessuti extraneurali prelevati *intravivam*
  - Skin test
  - Corneal test

# Rabbia: immunofluorescenza



# Rabbia: diagnosi

- Infezione sperimentale

- Inoculazione materiale sospetto per via cerebrale in topino neonato di 1 giorno
- Animali morti con sintomi nervosi dopo 3° giorno o sacrificati fino all'8°
  - Esame istologico
  - Immunofluorescenza

# Rabbia: diagnosi

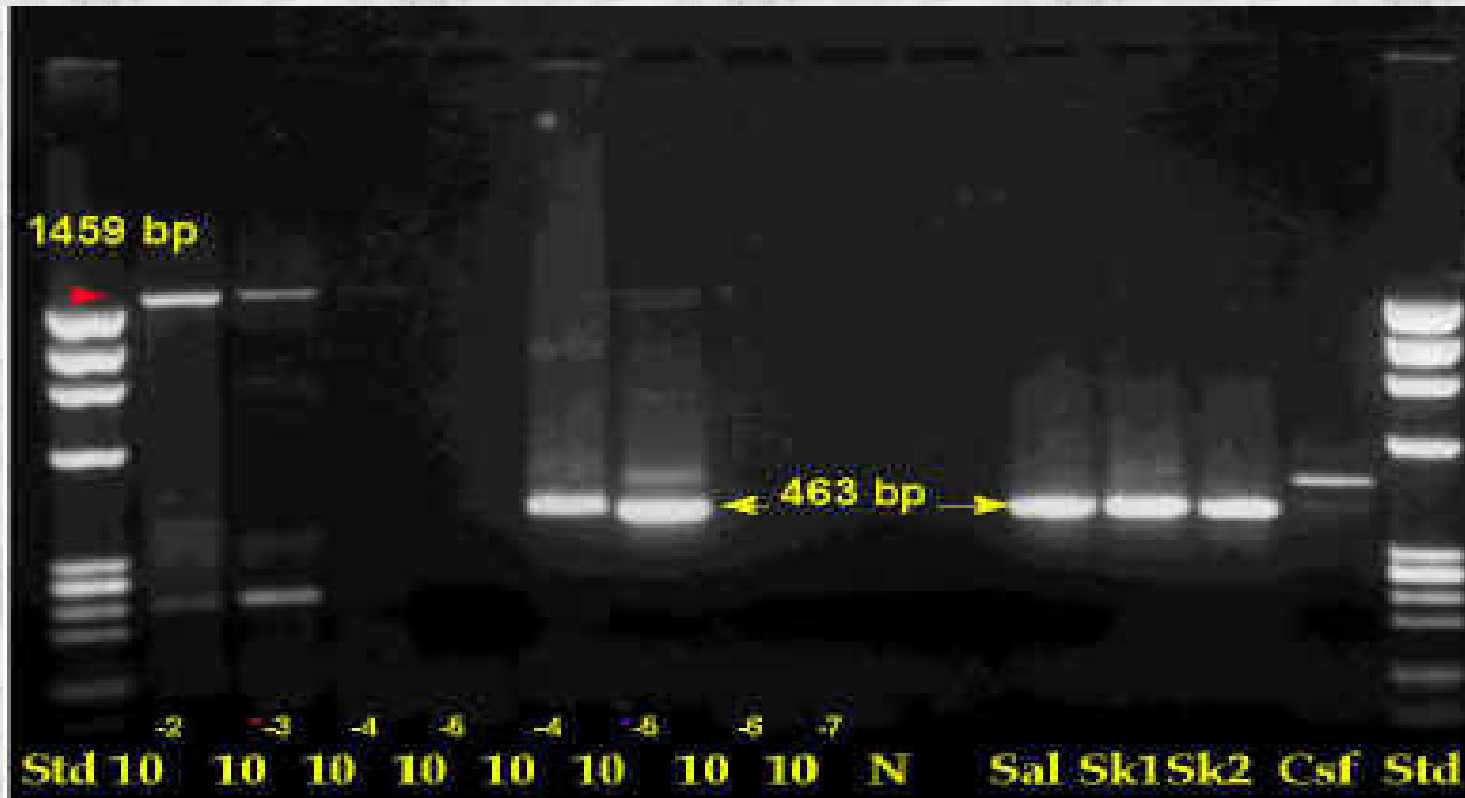
## ■ Anticorpi monoclonali

- Consentono di identificare i diversi virus del genere Lyssavirus
- Conoscenza dei vari stipiti che insistono su un territorio
  - allestimento vaccini

## ■ Biologia molecolare

- Polimerase Chain Reaction

# Rabbia: diagnosi biomolecolare



PCR

# Rabbia: profilassi sanitaria

- Attuazione del regolamento di Polizia Veterinaria volto alla prevenzione del contagio per l'uomo
  - controllo della rabbia silvestre
  - controllo dei chiropteri
  - controllo degli animali allevati allo stato brado
  - controllo della rabbia urbana

# Rabbia: profilassi sanitaria

- Vaccinazione nell'uomo limitata
  - aggressione da animali sospetti
  - attività professionale
- Vaccinazione negli animali
  - cane, gatto, furetto, bovino, equino .....
  - volontaria
  - obbligatoria in alcune regioni italiane
- Controllo del randagismo



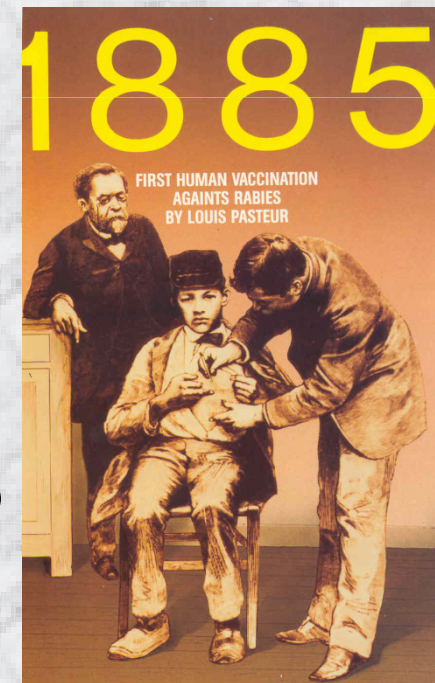


# Rabbia: profilassi sanitaria

- **Provvedimenti da adottare in caso di morso**
  - fra animali
  - fra animali e uomo
    - in entrambi i casi l'animale morsicatore sospetto di rabbia viene posto in osservazione (sequestro)
    - se il morsicatore fugge o rimane sconosciuto
      - profilassi immunizzante post-infezione
    - se il morsicato è un animale
      - abbattimento immediato (salvo deroghe)

# Rabbia: profilassi immunizzante

- Unico esempio di malattia infettiva con vaccinazione post-contagio durante il periodo d'incubazione
- Vaccinazione pre-contagio
  - riservato agli animali ???
- Vaccini a virus inattivato
- Vaccini a virus attivo modificato



# Rabbia: profilassi immunizzante

- Vaccini a virus attivo modificato
  - Stipite Flury
    - Derivato dall'uomo e adattato su embrione di pollo
    - 136 passaggi (LEP - Low Embryo Passage)
    - 186 passaggi (HEP - High Embryo Passage)
    - Matrice virale ottenuta su embrione di pollo o colture cellulari
    - Diversi incidenti vaccinali ne limitano l'impiego

# Rabbia: profilassi immunizzante

- Vaccini a virus attivo modificato
  - Stipite S.A.D. (Street Alabama Dufferin)
    - Derivato dal cane
    - Attenuato sul topo, colture cellulari di rene di hamster, rene di suino ed infine embrione di pollo
    - La matrice virale viene ottenuta su colture cellulari di rene di hamster, cane, bovino o suino
    - Dopo adattamento è stato denominato ERA (Evelyn - Rokitnicki - Abelseth)

# Rabbia: profilassi immunizzante

- Innocuità dei vaccini attenuati legata a
  - stabilità genetica del virus
  - condizioni di impiego
    - dose di inoculo
    - età, sesso e stato immunitario del soggetto
- Durata media in condizioni ottimali 2-3 anni
- Liofilizzati, monovalenti, in unica dose
- Manipolare con estrema cautela

# Rabbia: profilassi immunizzante

- Vaccini a virus inattivato
  - Virus coltivato in vivo
    - Antigene ottenuto in seguito ad inoculazione per via intracerebrale ad animali di specie diversa da quella per cui è previsto l'impiego
    - Matrice virale rappresentata dall'encefalo
  - Virus coltivato in vitro
    - Cellule renali di hamster neonato (BHK)
      - Antigene usato - Virus Fisso di Pasteur o Flury

# Rabbia: profilassi immunizzante

- Vaccini a virus inattivato
  - Innocui
  - Efficaci in dipendenza di numerosi fattori
    - individuali, struttura antigene del virus, tipo di coltura, tecnica di inattivazione, natura dell'agente inattivante, DOSE di inoculo
  - In condizioni ottimali durata immunità paragonabile a quella ottenuta con vaccini vivi
  - Adjuvante ?

# Rabbia: profilassi immunizzante

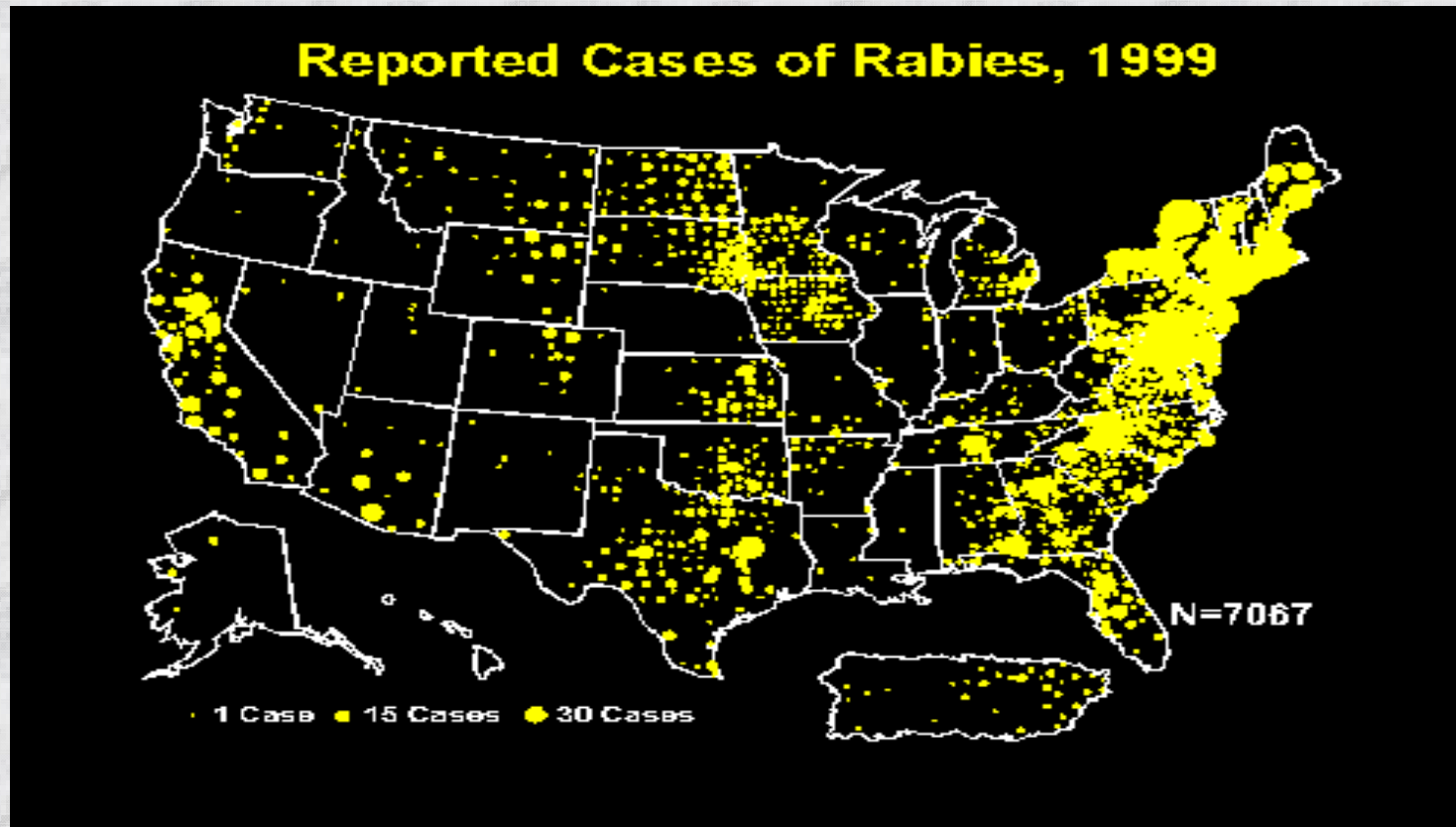
- Vaccini a DNA ricombinante
  - In via sperimentale
  - Espressione della glicoproteina virale sulla membrana citoplasmatica o nel citoplasma di cellule infette da virus Vaiolo Vaccino nel quale è stato inserito il clone cDNA della glicoproteina del virus vaccinale ERA
  - Ottima efficacia
    - anche superiore ai vaccini tradizionali



# Rabbia: profilassi immunizzante

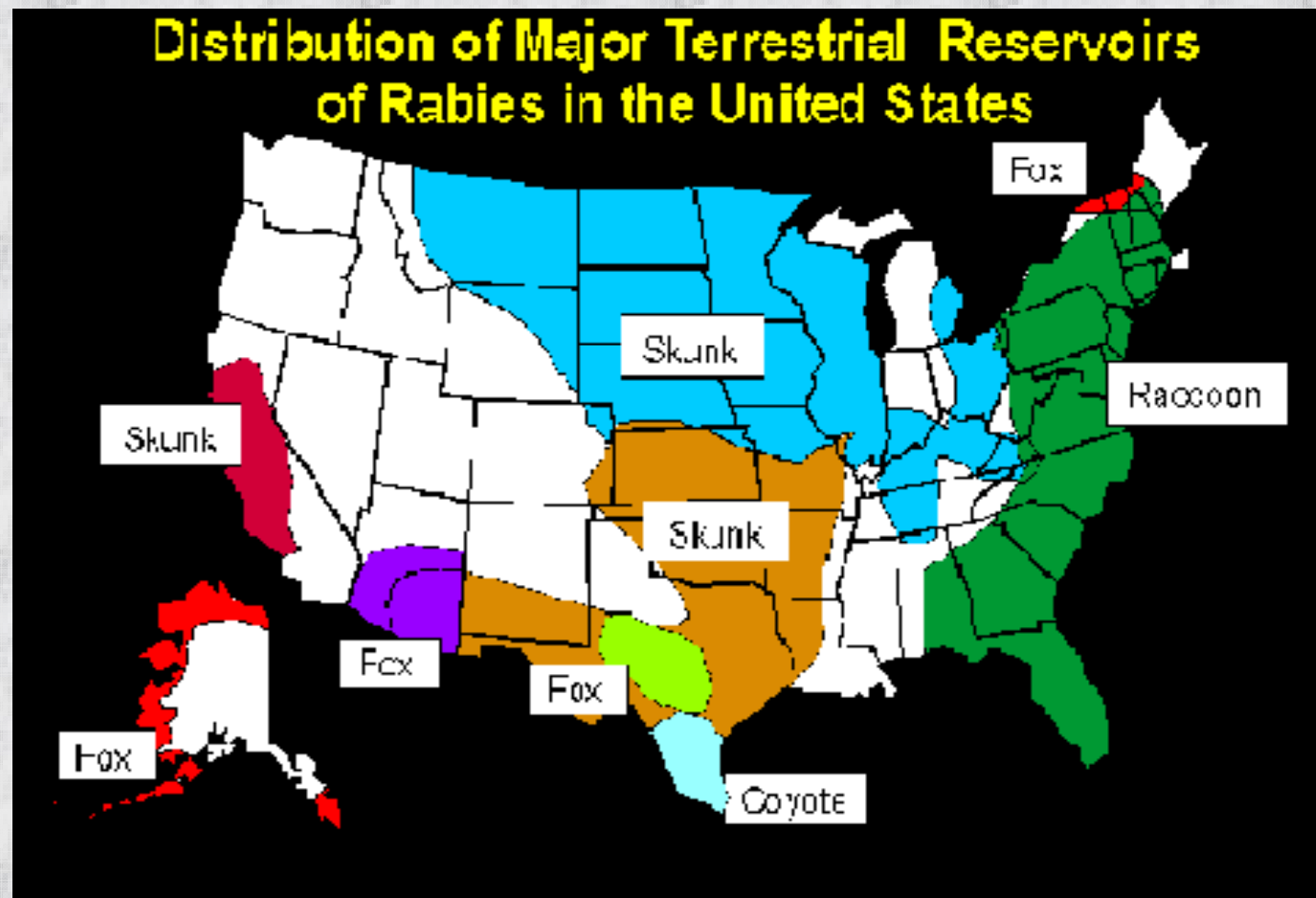
- Reazioni alla vaccinazione
  - Formazione anticorpi neutralizzanti
  - Comparsa di Linfociti T citotossici
  - Elaborazione di proteina interferente
- In caso di comparsa della fase neurologica
  - la sola somministrazione di siero immune non modifica l'esito della malattia
- Reazioni avverse neurologiche o immunitarie a sfondo allergico per uso ripetuto

# Casi di Rabbia in USA, 1999

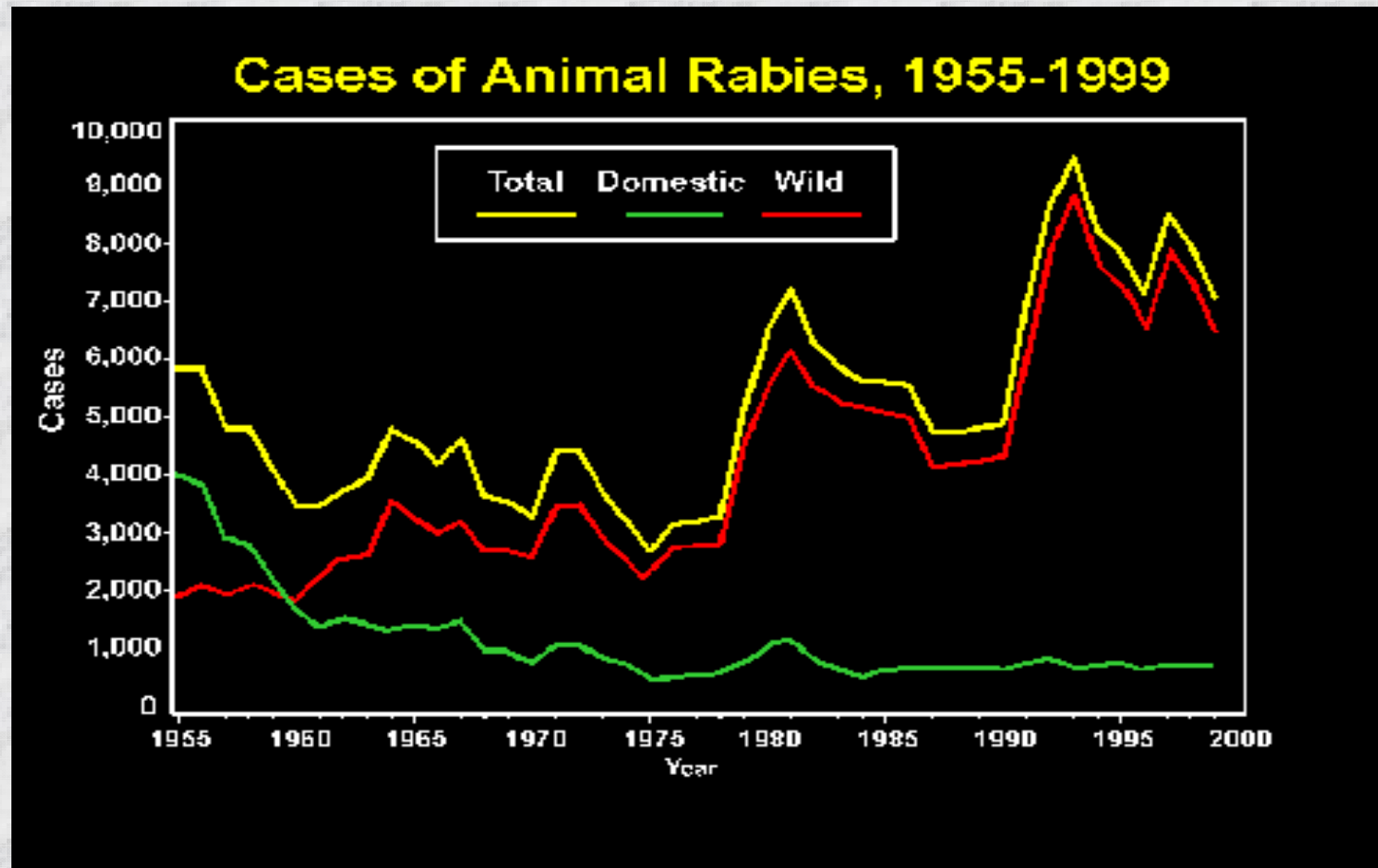


7067 casi in animali. Mai in indigeni o animali isole Hawaii

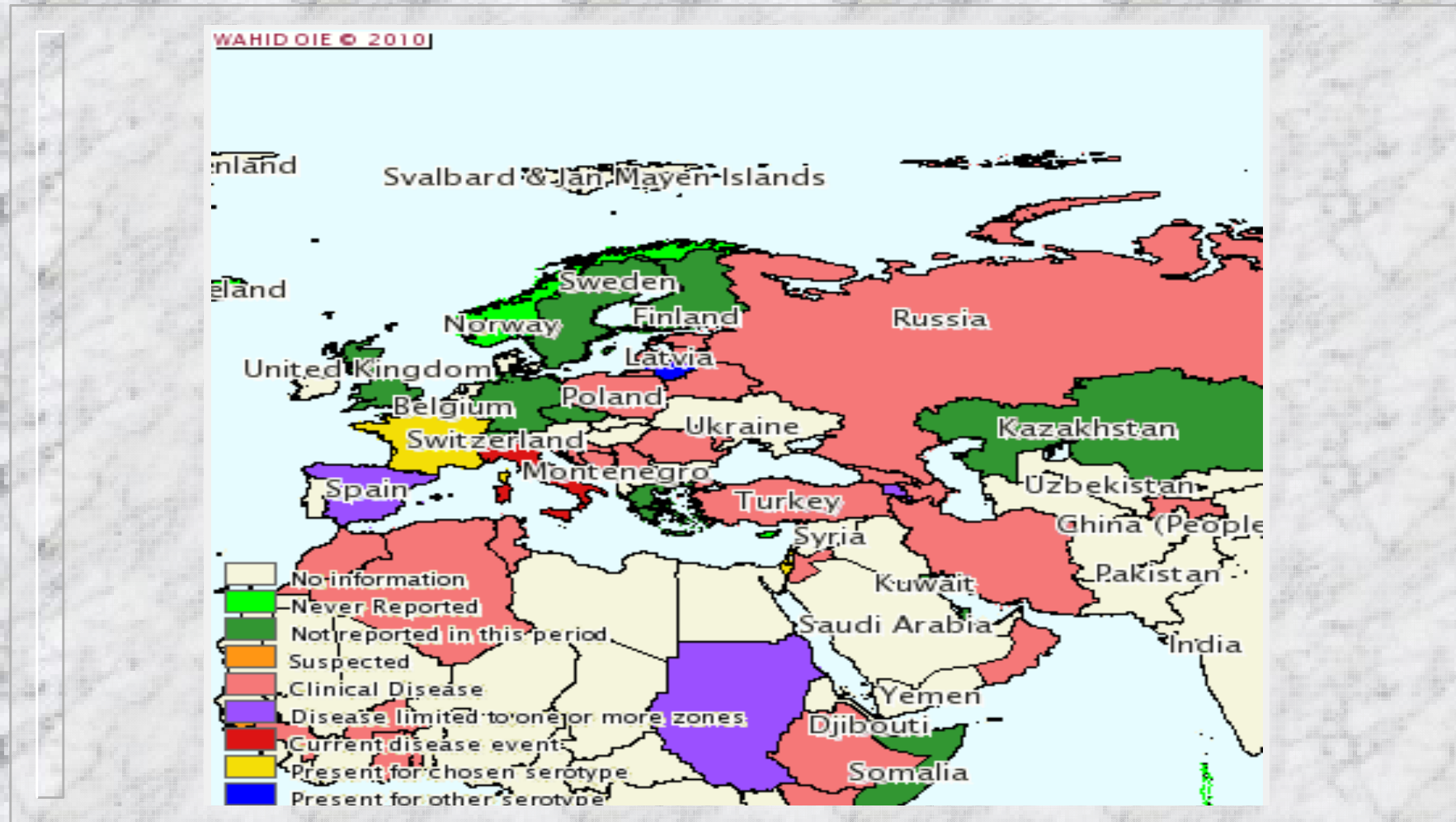
# Rabbia



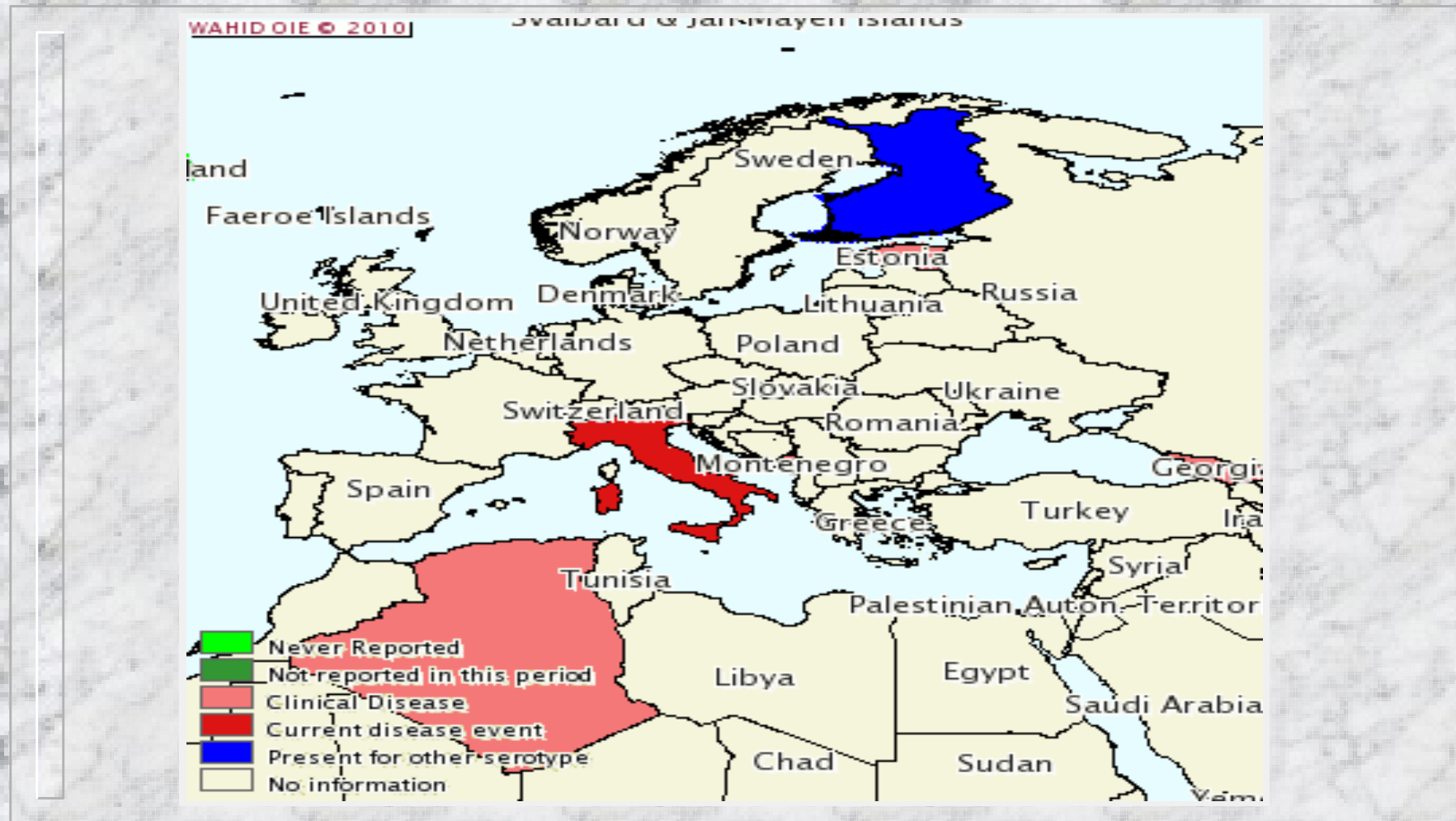
# Andamento della rabbia nel mondo



# Mappa di distribuzione della Rabbia in Europa (Gennaio – Giugno 2009)



# Mappa di distribuzione della Rabbia in Europa (Giugno – Dicembre 2009)



# Mappa di distribuzione della Rabbia in Europa (2010)



# Ultimo focolaio in Italia – 26/02/10

<b>Totale focolai</b>	<b>Animali Selvatici</b>	<b>Gatti</b>	<b>Animali vaccinati</b>	<b>Tipologia vaccinazione</b>	<b>Tipologia vaccino</b>
<b>18</b>	<b>15</b>	<b>3</b>	<b>522.000</b>	<b>Esca x volpe</b>	<b>Vivo modificato</b>



# Casi di Rabbia negli animali in Europa 2000-2009

Country	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	Total
<a href="#">Albania</a>	0	1	1	0	3	2	9	0	0	0	<b>16</b>
<a href="#">Austria</a>	2	1	24	1	1	0	1	0	0	0	<b>30</b>
<a href="#">Belarus</a>	306	540	809	1077	211	591	1499	823	964	667	<b>7487</b>
<a href="#">Belgium</a>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	<b>1</b>
<a href="#">Bosnia - Hercegovina</a>	9	31	52	80	48	36	68	62	83	24	<b>493</b>
<a href="#">Bulgaria</a>	22	62	16	19	11	8	10	40	51	51	<b>290</b>
<a href="#">Croatia</a>	917	489	501	633	504	557	565	635	1061	579	<b>6441</b>
<a href="#">Czech Republic</a>	165	35	3	0	0	0	0	0	0	0	<b>203</b>
<a href="#">Denmark</a>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	<b>1</b>
<a href="#">Estonia</a>	129	167	422	814	314	266	114	4	3	3	<b>2236</b>
<a href="#">Finland</a>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	<b>1</b>
<a href="#">France</a>	0	1	1	0	3	0	0	1	3	1	<b>10</b>
<a href="#">Germany</a>	182	41	35	24	35	46	3	0	1	0	<b>367</b>
<a href="#">Hungary</a>	514	310	160	172	125	9	3	4	7	1	<b>1305</b>
<a href="#">Italy</a>	0	0	0	0	0	0	0	0	9	21	<b>30</b>
<a href="#">Latvia</a>	516	477	500	964	443	421	472	203	110	55	<b>4161</b>
<a href="#">Lithuania</a>	855	680	932	1108	553	1652	2232	432	69	48	<b>8561</b>
<a href="#">Moldova</a>	22	16	33	33	7	0	41	79	46	33	<b>310</b>
<a href="#">Montenegro</a>	0	0	0	0	0	0	8	17	43	36	<b>104</b>
<a href="#">Poland</a>	2204	2944	1183	382	126	134	78	67	26	6	<b>7150</b>
<a href="#">Romania</a>	98	386	115	95	187	530	293	378	1089	371	<b>3542</b>
<a href="#">Russian Federation</a>	1122	1741	2467	2865	1548	3087	1349	3470	3353	1653	<b>22655</b>
<a href="#">Serbia</a>	0	0	0	0	0	0	78	160	234	137	<b>609</b>
<a href="#">Serbia and Montenegro</a>	178	254	217	261	210	101	119	0	0	0	<b>1340</b>
<a href="#">Slovak Republic</a>	351	87	113	326	57	50	4	0	0	0	<b>988</b>
<a href="#">Slovenia</a>	114	135	15	8	2	3	2	3	55	22	<b>359</b>
<a href="#">Spain</a>	2	10	4	1	1	1	1	0	2	3	<b>25</b>
<a href="#">Switzerland + Lichtenstein</a>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	<b>1</b>
<a href="#">Turkey</a>	297	189	249	156	111	193	210	307	301	64	<b>2077</b>
<a href="#">Ukraine</a>	0	1552	1548	2030	906	2111	2020	2931	2163	621	<b>15882</b>
<a href="#">United Kingdom</a>	0	2	1	0	0	1	0	0	1	1	<b>6</b>
<b>Total</b>	<b>8005</b>	<b>10151</b>	<b>9402</b>	<b>11051</b>	<b>5406</b>	<b>9799</b>	<b>9179</b>	<b>9617</b>	<b>9674</b>	<b>4397</b>	<b>86681</b>
<b>%</b>	<b>9.2</b>	<b>11.7</b>	<b>10.8</b>	<b>12.7</b>	<b>6.2</b>	<b>11.3</b>	<b>10.6</b>	<b>11.1</b>	<b>11.2</b>	<b>5.1</b>	<b>100</b>

# Casi di Rabbia nell'uomo in Europa 2000-2009

Country	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	Total
<a href="#">Germany</a>	0	0	0	0	1	4	0	0	0	0	<b>5</b>
<a href="#">Latvia</a>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	<b>1</b>
<a href="#">Lithuania</a>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>1</b>
<a href="#">Romania</a>	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	<b>2</b>
<a href="#">Russian Federation</a>	7	10	4	3	12	8	2	6	12	4	<b>68</b>
<a href="#">Ukraine</a>	0	0	1	2	0	0	0	2	2	0	<b>7</b>
<a href="#">United Kingdom</a>	0	2	1	0	0	1	0	0	0	1	<b>5</b>
<b>Total</b>	<b>9</b>	<b>12</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>13</b>	<b>13</b>	<b>2</b>	<b>9</b>	<b>14</b>	<b>5</b>	<b>89</b>
<b>%</b>	<b>10.1</b>	<b>13.5</b>	<b>6.7</b>	<b>6.7</b>	<b>14.6</b>	<b>14.6</b>	<b>2.2</b>	<b>10.1</b>	<b>15.7</b>	<b>5.6</b>	<b>100</b>

# Rabbia: legislazione

- Attualmente in Italia è in vigore l'**Ordinanza del 26 novembre 2009** che ha subito diverse integrazioni a seguito della evoluzione epidemiologica.
- Tale ordinanza in sintesi prevede che:
- *“I cani, i gatti e i furetti al seguito di persone dirette anche temporaneamente nel territorio della Regione Friuli Venezia Giulia e della Provincia di Belluno e di altri territori della Regione Veneto e delle Province autonome di Trento e Bolzano a rischio di contagio devono essere sottoposti a vaccinazione antirabbica, secondo le istruzioni del produttore del vaccino utilizzato, almeno 21 giorni prima dell'arrivo e da non oltre 11 mesi”*

# Rabbia: legislazione

- “ *I **cani** di proprietà di persone residenti nel territorio della Regione Friuli Venezia Giulia e della Provincia di Belluno e di altri territori della Regione Veneto e delle Province autonome di Trento e Bolzano a rischio di contagio **devono essere sottoposti a vaccinazione antirabbica pre-contagio** secondo le istruzioni del produttore del vaccino utilizzato”*
- “*E’ resa obbligatoria la vaccinazione antirabbica pre-contagio degli animali domestici sensibili condotti al pascolo nel territorio della Regione Friuli Venezia Giulia e della Provincia di Belluno e di altri territori della Regione Veneto e delle Province autonome di Trento e Bolzano a rischio di contagio”*

# Grazie per l'attenzione



**ANIMAL RABIES**



**HUMAN RABIES**



**VACCINES AND  
IMMUNIZATION**