

ANALISI BIOMOLECOLARE DI CEPPI DI CANINE DISTEMPER VIRUS (CDV) IN FURETTI DOMESTICI (*MUSTELA PUTORIUS FURO*)

Annalisa Guercio, Giuseppa Purpari, Francesco Mira, Patrizia Di Marco, Vincenza Cannella, Michele Chetta, Vincenzo Aronica, Vincenzo Di Marco Lo Presti
Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A. Mirri", Palermo

INTRODUZIONE

L'agente eziologico del cimurro (CDV) appartiene alla famiglia *Paramyxoviridae*, genere *Morbillivirus* ed è causa di una patologia infettiva e contagiosa in canidi, procionidi e mustelidi, tra cui i furetti (*Mustela putorius furo*) (3, 4). In questa specie l'infezione da cimurro ha un esito fatale quasi nel 100% dei casi e viene controllata attraverso l'uso di vaccini (5). Gli Autori, descrivono un caso clinico di cimurro in due furetti domestici e la caratterizzazione biomolecolare del ceppo di CDV isolato.



Figura 1. Regione peri-vulvare



Figura 2. Muso e mento



Figura 3. Muso e orecchio



Figura 4. Orecchio

MATERIALI E METODI

All'esame clinico due furetti adulti, di sesso femminile, presentavano un quadro caratterizzato da dermatite pruriginosa e squamo-purulenta alla regione peri-labiale, peri-vulvare, al mento ed al condotto uditivo esterno (Fig. 1 – 2 – 3 - 4). Per l'esecuzione degli accertamenti diagnostici, sono stati prelevati campioni di croste e sottoposti ad esami batteriologici, micologici, parassitologici e virologici. Due settimane dopo l'esordio dei sintomi, gli animali sono stati vaccinati contro il cimurro con un ceppo Onderstepoort avianizzato. A distanza di una settimana dalla vaccinazione venivano a morte.

I campioni prelevati sono stati analizzati per la ricerca del virus del cimurro secondo i protocolli riportati in *Tabella*. Gli acidi nucleici sono stati estratti con un kit commerciale (High Pure RNA Isolation Kit – ROCHE) ed amplificati secondo la metodica descritta da Barret et al. (1), utilizzando il kit AccessQuick RT-PCR System (Promega). I campioni RT-PCR Cimurro positivi sono stati sottoposti ad una RFLP-PCR con l'enzima di restrizione *PsiI* ed ad una amplificazione ai fini del sequenziamento (2), eseguito presso la BMR Genomics – Padova. Le sequenze di 1823 nucleotidi del gene H del CDV sono state comparate mediante *Clustal X* con analoghe sequenze di ceppi di campo e vaccinali disponibili su *GeneBank*. E' stato quindi elaborato un albero filogenetico (Fig. 5) mediante software Mega 5.0, utilizzando un algoritmo neighbor-joining ed un modello Kimura-2 parametri, con bootstrap di 1000 pseudorepliche.

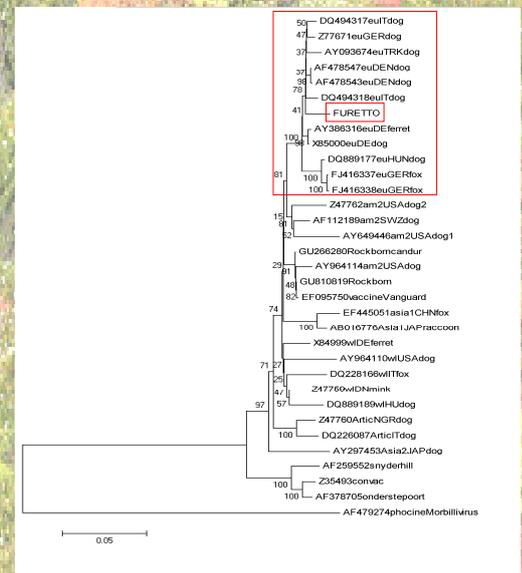


Figura 5. Albero filogenetico di ceppi di CDV basato sulla sequenza del gene H

| Metodica | Bibliografia | Sequenza Primers | Target | Amplificato |
|----------------------|-----------------------|--|--------|-------------|
| RT-PCR Diagnosi | Barret et al. (1993) | DMV 1: 5'-ATG TTT ATG ATC ACA GCG GT-3' DMV 2: 5'-ATT GGG TTG CAC CAC TTG TC-3' | Gene P | 429 bp |
| RFLP-PCR | Demeter et al. (2007) | 1110 for: 5'-AGG CCG TAC ATC ACC AAG TC-3' 1110 rev: 5'-TGG TAA GCC ATC CGG AGT TC-3' | Gene H | 1110 bp |
| Analisi Filogenetica | Demeter et al. (2007) | 2023 for: 5'-AAC TTA GGG CTC AGG TAG TC-3' 2023 rev: 5'-AGA TGG ACC TCA GGG TAT AG-3' | Gene H | 2023 bp |

RISULTATI

L'RT-PCR effettuata sui campioni di croste ha dato esito positivo per cimurro. L'analisi con l'enzima di restrizione ed il sequenziamento hanno confermato l'appartenenza ad un ceppo di campo, segregato nel lineage Europa. Questo ceppo è ben distinto dai lineages America-1 ed America-2 (ceppi Rockborn), che raccolgono i ceppi vaccinali. L'infezione nei furetti non ha quindi relazione la vaccinazione effettuata. Inoltre, le sequenze presentano un'omologia nucleotidica elevata con i ceppi isolati da cani e volpi in Italia, risultando differenti da quelle del lineage Wildlife.

CONCLUSIONI

Il presente lavoro ha evidenziato un caso di cimurro in due furetti domestici. Quanto descritto contribuisce ad arricchire l'esigua disponibilità bibliografica sui casi clinici da CDV nei mustelidi, implementando i dati disponibili sui ceppi virali circolanti. Il metodo diagnostico descritto rappresenta un sistema rapido e sensibile per la diagnosi dell'infezione da cimurro nelle specie animali sensibili. La vaccinazione ha ridotto sensibilmente i casi di malattia nei carnivori domestici e rimane ancora oggi il mezzo maggiormente efficace per controllare la malattia.

BIBLIOGRAFIA

- Barret T, Visser IKJ, Mamaev L, Goatley L, van Bresse MF, Osterhaus ADME. (1993). Dolphin and Porpoise Morbilliviruses are genetically distinct from Phocine Distemper Virus. *Virology*, 193: 1010-1012.
- Demeter Z, Lakatos B, Palade EA, Kozma T, Forgách P, Rusvai M (2007). Genetic diversity of Hungarian canine distemper virus strains. *Vet. Microbiol.*, 122 (3-4): 258-269.
- Evermann JF, Leathers CW, Gorham JR, McKeirnan AJ, Appel MJ (2001) Pathogenesis of two strains of lion (*Panthera leo*) morbillivirus in ferrets (*Mustela putorius furo*). *Vet. Pathol.*, 38 (3): 311-316.
- Monne I, Fusaro A, Valastro V, Citterio C, Pozza MD, Obber F, Trevisiol K, Cova M, De Benedictis P, Bregoli M, Capua I, Cattoli G. (2011). A distinct CDV genotype causing a major epidemic in Alpine wildlife. *Vet. Microbiol.*, 150(1-2): 63-69.
- von Messling V, Springfield C, Devaux P, Cattaneo R (2003). A ferret model of canine distemper virus virulence and immunosuppression. *J. Virol.* 77: 12579-12591.