

**Indagine sierologica per *Encephalitozoon cuniculi* in conigli da compagnia.
Osservazioni preliminari**

Grilli G., D'Acerno M., Beretta P., Pisoni A.M., Ferrazzi V., Giudice C., Gallazzi D.

Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Università di Milano. Clinica Veterinaria Isola Verde, Milano

Corresponding Author: Guido Grilli, Sezione di Anatomia Patologica Veterinaria e Patologia Aviaria, Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Via Celoria, 10 – 20133 Milano Italy - Tel +39 02-50318121 - Fax +39 02-50318106 - Email guido.grilli@unimi.it

ABSTRACT: Serological research into *Encephalitozoon cuniculi* on pet rabbits. Preliminary observations. During 18 months, 334 samples of pet rabbits serum have been collected and subjected, through CIA test, to an antibody research as regard *Encephalitozoon cuniculi*. 61,7% of samples shown a positive result, without any difference of age or sex of the examined animals. On the subjects with renal or nervous symptomatology, seroprevalence was of 74%. The research shows how this *microsporidium* is also largely wide-spread in pet rabbits living in Italy.

Key words: Pet rabbit, *Encephalitozoon cuniculi*, CIA test.

INTRODUZIONE – *Encephalitozoon cuniculi* appartiene al *Phylum* dei Microsporidi, parassiti endocellulari obbligati unicellulari, caratterizzati dalla produzione di spore e da una vasta gamma di ospiti definitivi (coniglio, cavia, criceto, cane, volpe, gatto, scimmia e uomo). Per quanto riguarda l'infezione nel coniglio, la trasmissione avviene con l'ingestione di alimenti contaminati da urine, feci o muco infetti, attraverso l'inalazione di spore, spesso nel periodo successivo alla nascita, direttamente dalla madre ai coniglietti, ma anche tra individui adulti. È riportata anche la trasmissione transplacentare. Nell'infezione recente (entro trenta giorni) sono colpiti polmone, reni e fegato, mentre in quella tardiva cuore, cervello e ancora reni. Le lesioni più significative si ritrovano a livello renale dove è presente nefrite interstiziale linfoplasmacellulare, da focale a segmentale, con diversi gradi di fibrosi; la forma encefalica, meno diffusa, provoca meningoencefalite non purulenta, focale, con infiltrazioni linfocitarie perivascolari. Dopo circa due mesi dall'infezione il coniglio inizia ad eliminare le spore con le urine; l'escrezione è intermittente e dura per almeno sei settimane. L'encephalitozoonosi è una patologia ampiamente studiata nel coniglio da laboratorio e solo ultimamente diagnosticata anche negli ambulatori e nelle cliniche veterinarie per i piccoli animali mentre è ancora scarsamente considerata nel coniglio da reddito. Obiettivo di questo lavoro è stato quello di effettuare un'indagine sierologica per accertare la circolazione di *Encephalitozoon cuniculi* in conigli d'affezione in Italia settentrionale al fine di ottenere dati utili sulla diffusione di questo parassita.

MATERIALI E METODI – In 18 mesi sono stati raccolti 334 campioni di siero di coniglio. Per la ricerca degli anticorpi nei confronti di *E. cuniculi* è stato utilizzato il Carbon Immuno Assay test (CIA), il quale individua le IgG circolanti (Waller, 1977;

Kellet e Bywater, 1978) ed è ampiamente utilizzata per testare i conigli da laboratorio. Tutti gli antigeni sono forniti da Medicago AB, Uppsala, Svezia; il campione è stato considerato positivo a partire da una diluizione 1:40. Per ottenere una valutazione semiquantitativa degli anticorpi, i sieri sono stati diluiti fino a quando il test non è risultato negativo.

RISULTATI E CONCLUSIONI – I campioni di siero sono stati raccolti da 334 conigli sottoposti a visita presso ambulatori e cliniche veterinarie. Una parte degli animali (54) presentavano una sintomatologia riferibile alla malattia, altri, invece erano asintomatici ed erano stati condotti a visita per controllo o per essere sottoposti a profilassi vaccinale

In caso di positività sierologica, il veterinario ha provveduto a mettere sotto terapia il coniglio per evitare successivamente la comparsa della forma clinica di *E. cuniculi*. (Valencakova *et al.*, 2003). Dei campioni raccolti, i cui risultati sono riportati in Tabella I, ben 206 (61,7%) erano positivi, 120 negativi (35,9%) e 8 (2,4%) non idonei per l'analisi. L'elevata positività riscontrata preoccupa in quanto ricerche di Boot *et al.*, (2000) hanno dimostrato una elevata correlazione tra positività al test CIA e presenza di lesioni istologiche renali. Inoltre, *E. cunicoli* avrebbe un'azione immunodepressiva che predisporrebbe l'animale ad altre patologie (Valencakova *et al.*, 2003).

Questi valori di prevalenza sono in accordo con quanto riportato in altri studi condotti in conigli da compagnia quali quelli di Harcourt Brown (2004), che segnala una sieropositività del 56%, mentre Ewringmann e Göbel (1999) del 41%. Nei soggetti da carne esistono casistiche nazionali (Lavazza *et al.*, 1996; Saviotti *et al.*, 2000) che riportano sieroprevalenze variabili dal 10,3 al 96,7%.

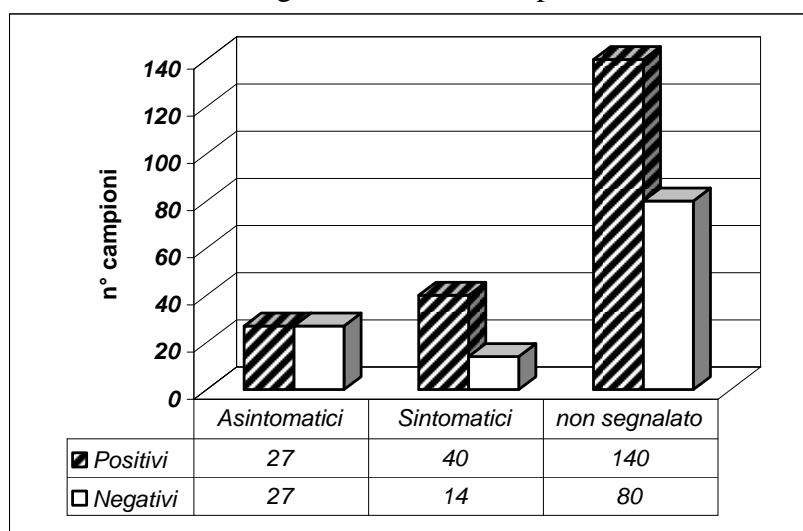
La Figura 1 riporta la sintomatologia in relazione alla presenza/assenza di anticorpi. Tra i 54 campioni provenienti da conigli con sintomatologia riferibile a *E. cunicoli* (a carico del SNC, rene, occhio ecc.), 40 presentavano titolo anticorpale (prevalenza 74%); sui 54 campioni con anamnesi ma senza sintomatologia, i campioni positivi erano la metà; purtroppo non si conosce l'anamnesi degli altri 220 campioni analizzati di cui 140 con titolo anticorpale. Questi risultati sono simili a quelli riportati da Harcourt Brown (2004) che segnala una prevalenza media del 50% sui soggetti asintomatici e del 72% su quelli con sintomatologia.

Questo lavoro non ha la pretesa di dare delle indicazioni epidemiologiche assolute sull'infezione da *E. cuniculi* nel coniglio da compagnia ma, trattandosi probabilmente del primo lavoro del genere condotto in Italia, dà una indicazione della diffusione di questa patologia in questo "nuovo" animale da compagnia. Altre ricerche potrebbero essere impostate per valutare l'effettiva correlazione tra sintomatologia e sieroprevalenza anche supportate da esami ematologici/ematochimici per valutare l'entità del danno renale nell'animale in vita. Un'ultima considerazione merita la tecnica sierologica utilizzata; la metodica CIA è risultata estremamente versatile, di rapida esecuzione e di basso costo; queste caratteristiche potrebbero permettere di applicare la metodica anche ai conigli da reddito, soprattutto riproduttori GP, al fine di individuare ed eliminare dalla linea produttiva i soggetti infetti ed evitare la diffusione dell'infezione nell'allevamento commerciale.

Tabella I: Sieropositività dei campioni nelle diverse fasce d'età.

	Totale n°	Positivi n°	Negativi n°	Positivi %	Negativi %
Fino a 3 mesi	8	4	4	50%	50%
Da 3 a 6 mesi	25	10	15	40%	60%
Da 6 a 11 mesi	26	16	10	62%	38%
1 anno	46	34	12	74%	26%
2 anni	26	15	11	58%	42%
3 anni	27	18	9	67%	33%
4 anni	9	6	3	67%	33%
5 anni	14	8	6	57%	43%
Oltre 5 anni	19	9	10	47%	53%
n.s.	126	86	40	68%	32%
Totale complessivo	326	206	120	62%	36%

Figura 1: Presenza di sintomatologia in relazione alla presenza/assenza di anticorpi.



BIBLIOGRAFIA – **Boot R.**, Hansen A.K., Hansen C.K., Nozari N., Thuis H.C.W., (2000) "Comparison of assays for antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in rabbits" *Lab Anim.* 34, 281 – 289. **Ewringmann A.**, Gobel T. (1999) "Clinical examination and therapy of *Encephalitozoonosis* in pet rabbits" *Kleinterpraxis*, 44(5), 357 – 352.

Harcourt Brown F.M. "Encephalitozoon cuniculi infection in rabbit" (2004), *Sem. Av. Ex. Pet. Med.*, 13(2), 86 – 93. **Kellett B.S.**, Bywater J.E.C., (1978) "A modified India Ink Immunoreaction for the detection of *Encephalitozoonosis*" *Lab. Animals* 12, 59-69.

Lavazza A., Tinelli F., Zanion F., Massirio I., (1996) "A seroepidemiological survey of *Encephalitozoon cuniculi* in different Italian rabbitries" *Proceedings of the 6th World Rabbit Congress*. Toulouse, France 9-12 July 1996, vol 3 p 81-87. **Saviotti M.**, Tamba M., Gallazzi D., Lavazza A., (2000) "Further data on the diffusion of *Encephalitozoon cuniculi* in Italian rabbitries" in *7th World Rabbit Congress*, Valencia Spain.

Valencakova A., Halanova M., Balent P., Dvoroznakova E., Jamborova E., Lesnik F., Neuschl J., Palenik L., Cislakova L., (2003) "Immune response in mice infected by *Encephalitozoon cuniculi* and suppressed by Dexamethasone" *Acta Veterinaria Hungarica* 52,(3), 61 – 69. **Waller T.**, (1977) "The India Ink Immunoreaction: a method for the rapid diagnosis of *encephalitozoonosis*" *Lab Animals*, 11, 93 – 97.