

Encefalitozoonosi del coniglio in allevamenti della Lombardia: prevalenza sierologica e parametri di chimica clinica

Lavazza A.¹, Cerioli M.¹, Archetti I.L.¹, Tittarelli C.¹, Brivio R.², Nassuato C.¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia Romagna, "B.Ubertini", Brescia, Italy. ²Servizio SATA, Regione Lombardia, Italy

Corresponding Author: Antonio Lavazza, Reparto di Virologia, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia Romagna, via Bianchi 7/9, Brescia, Italy - Tel. +39 0302290298 - Fax: +39 030 2290623 - Email: antonio.lavazza@izsler.it

ABSTRACT: Rabbit encephalitozoonosis in industrial farms in Lombardy: seroprevalence and biochemical parameters. Encephalitozoonosis is an infection caused by *Encephalitozoon (E.) cuniculi*, largely diffused in industrial rabbit farms in Italy. This study is aimed to evaluate the seroprevalence for *E. cuniculi* in 10 industrial rabbit farms in Lombardy, and to verify the existence of any correlation between serological titres and the values of urea and creatinine, well-known parameters of renal function. Nulliparous (158), primiparous (10) and multiparous (74) does were tested separately: the overall prevalence was 30.63% and it was increasing with age. The values of creatinine and urea were higher in seropositive rabbits. The probability that animals showing values higher than normal are seropositive is almost double (OR 2.87 for creatinine and 1.71 for urea). In conclusion, *E. cuniculi* negatively influences the metabolism and productive performances of does and the urea and creatinine values are promising indicators of the severity of the infection in seropositive animals.

Key words: *E.cuniculi*, Serology, Urea, Creatinine.

INTRODUZIONE – *Encephalitozoon (E.) cuniculi* è un microsporidio gram+ intracellulare obbligato sporigeno, che infetta roditori, carnivori ed occasionalmente i primati e l'uomo. Le spore infettanti sono eliminate con l'urina; la trasmissione avviene per ingestione di acqua o cibo contaminati; dopo 4-5 settimane dall'infezione compaiono gli anticorpi circolanti. L'encefalitozoonosi del coniglio è una parassitosi cronica, spesso asintomatica ma riattivabile in seguito ad eventi stressanti. La forma acuta è caratterizzata da sintomi nervosi (in particolare torcicollo). Nella forma cronica i parassiti si localizzano nel rene e nel cervello in forma latente e le lesioni sono riscontrabili nei riproduttori a fine carriera nel rene (nefrite interstiziale, rene grinzoso o cistico) alla necropsia o alla macellazione. L'encefalitozoonosi ha un effetto negativo negli allevamenti industriali dal punto di vista sanitario, del benessere animale e produttivo. Il danno economico, per incremento degli indici di mortalità, aumento delle femmine riformate e/o scarti, peggiori indici di conversione e calo della resa al macello, può essere rilevante ma è difficilmente correlabile in modo diretto a tale patologia. Tenuto conto delle sieroprevalenze (>60%) riscontrate in precedenti studi (Lavazza *et al.*, 1996; Saviotti *et al.*, 2000) e delle lesioni renali macro e microscopiche in soggetti sieropositivi (Tittarelli *et al.*, 2008), si è deciso di valutare la sieroprevalenza nelle diverse categorie di riproduttori e di verificare se esisteva una correlazione tra sieropositività e valori di urea e creatinina quali indicatori della funzionalità renale. L'urea è un prodotto del catabolismo proteico ed è escreta dal rene nelle urine. La

creatinina è un catabolita proteico prodotto dalla creatina muscolare ed è eliminata tramite filtrazione glomerulare a ritmo costante. Alte concentrazioni di urea e creatinina sono associate, nel coniglio, a danno renale (Harcourt-Brown, 2007).

MATERIALI E METODI – Tra il 2004 e il 2007, in 10 allevamenti intensivi della Lombardia, sono state campionate 242 fattrici distinte in: 158 nullipare, 10 primipare, 74 pluripare. I prelievi intracardiaci di 1,5-2 ml di sangue sono stati eseguiti sull'animale adeguatamente immobilizzato utilizzando una siringa da 2,5 ml e provette senza anticoagulante. Il siero, ottenuto previa centrifugazione a 3000rpm per 15 min, è stato suddiviso in due aliquote per l'analisi di biochimica clinica e per gli esami sierologici. Per la determinazione dei parametri biochimici, i sieri sono stati posti a 37°C in un random-access clinical analyzer (SYNCRON CX5-DELTA, Beckman Coulter, Fullerton, USA) utilizzando i kit forniti dallo stesso costruttore. La creatinina è stata determinata con metodo colorimetrico (Jaffè method), l'urea con metodo enzimatico colorimetrico (Ureasi) (Archetti *et al.*, 2008). L'indagine per la presenza di anticorpi anti-*E. cunicoli* è stata eseguita mediante Carbon Immuno Assay (CIA test) utilizzando reagenti commerciali (Medicago SA). L'analisi statistica è stata effettuata con modelli di regressione logistica a effetti misti per tenere conto dell'eventuale correlazione tra dati provenienti da animali appartenenti allo stesso allevamento. Per l'analisi dell'eventuale relazione tra sieropositività e parametri biochimico-clinici si è fatto riferimento ai valori di normalità nelle singole classi di età/produzione: creatinina (in micromol/L) 82±19 nelle nullipare; 90±7 nelle primipare; 92±13 nelle pluripare, e urea (in mmol/L), rispettivamente 7,0±1,4; 9,8±1,08; 1±1,7. Sono state create delle variabili dicotomiche per creatinina e per urea che definissero se il soggetto era superiore o meno al valore massimo indicato, quali indici di alterata funzionalità renale. Le stime dell'associazione tra sieropositività e parametri chimico-clinici sono state calcolate in termini di odds ratio con i rispettivi intervalli di confidenza al 95%.

RISULTATI E CONCLUSIONI – Sono risultati sierologicamente positivi 77 soggetti (31,8%). La stima di prevalenza, calcolata mediante il modello generalizzato a effetti misti, è pari a 30,63 (IC 95%: 16,23-50,47). Tra le 158 nullipare esaminate, 44 (27,8%) sono risultate positive, tra le pluripare 28 (37,8%) mentre era trascurabile il dato relativo alle primipare (50%), dato il numero esiguo (5). La situazione nei 10 allevamenti era molto variabile con prevalenze complessive tra i riproduttori comprese tra 0% e 70%: 0 (0-21,9); 2,1 (0,1-12,7); 31 (16-50,9); 34,6 (17,9-55,6); 35 (16,3-59,1); 38,1 (24-54,3); 40 (13,7- 72,6); 40 (13,7-72,6); 65,0 (IC 95% 40,9-83,7); 70 (45,7-87,1); I valori di creatinina e urea riscontrati all'esame biochimico sono riportati in Tabella 1.

Tabella 1 – Valori di urea e creatinina in conigli sieropositivi e negativi per *E. cunicoli*.

	<i>E.cunicoli</i>	minimo	1° quartile	valore mediano	3° quartile	massimo	valore medio
Creatinina (micromol/L)	Pos	74,0	88,0	97,0	105,0	153,0	98,8
	Neg	47,0	72,0	85,0	96,0	168,0	85,6
Urea (mmol/L)	Pos	4,9	7,5	8,6	9,8	15,7	8,9
	Neg	4,3	6,5	7,4	8,8	13,6	7,8

Il valore mediano per la creatinina era pari a 89. Esaminando le distribuzioni percentili rispetto alla condizione di positività per *E. cunicoli* si evidenzia che in generale il livello di creatinina si mantiene più basso nei sieronegativi, eccezion fatta per il valore massimo. Il valore mediano per l'urea era pari a 8,1 ed anche in questo caso il livello si

mantiene più basso nei sieronegativi. L'odds d'infezione da *E. cunicoli* è risultato 2,87 (IC 95%: 1,3- 6,2) volte più grande in soggetti con valore di creatinina al di sopra del valore soglia rispetto ai soggetti con valori inferiori o uguali. L'odds d'infezione per l'urea è risultato 1,71 (IC 95%: 0,87 - 3,36) volte più grande in soggetti con valore di urea al di sopra del valore soglia rispetto ai soggetti con valori al di sotto anche se il dato non risulta statisticamente significativo.

I risultati confermano la diffusione dell'infezione da *E. cuniculi* in allevamenti del Nord Italia, anche se il campione analizzato (65,3% nullipare, 4,1% primipare 30,6% pluripare) non rispecchia correttamente la popolazione di riproduttori degli allevamenti e porta ad un'inevitabile sottostima della prevalenza riscontrata (30,63%). Ad essere maggiormente infette sono solitamente le fattrici pluripare, per una più lunga permanenza in allevamento con conseguente stress produttivo e possibile riattivazione dell'infezione latente, ed un'esposizione continua a possibili fonti d'infezione. Infatti, in una precedente indagine la prevalenza era massima nelle pluripare (64,9%) e nei maschi (66,4%) mentre era del 41,8% nelle nullipare e primipare di 90-180gg (Saviotti *et al.*, 2000). Nonostante la scarsa rappresentatività del campione, soprattutto per le primipare, si evidenzia una tendenza all'aumento della prevalenza con il progredire del numero di parti e quindi con l'età. Nel contempo si può ragionevolmente affermare che valori più elevati di urea e creatinina siano indicativi di sieropositività. Infatti, la probabilità che un soggetto che presenta valori superiori ai valori di riferimento, sia per creatinina sia per urea, sia sieropositivo è circa 2 volte maggiore di un soggetto con valori nella norma. Una migliore pianificazione dei prelievi consentirà in futuro di indagare le ragioni di così sensibili differenze (da 0 a 70%) nelle prevalenze da un allevamento all'altro e quindi di verificare se vi siano eventuali e più significative differenze nei valori biochimici di urea e creatinina. L'encefalitozoonosi è una patologia cronica latente, pertanto gli animali sieropositivi non presentavano alcun sintomo clinico. L'assenza di manifestazioni cliniche è imputabile al controllo dell'infezione da parte dell'immunità. Un abbassamento delle difese immunitarie dell'ospite, ad esempio in concomitanza con fattori stressanti, può determinare la forma clinica della malattia. A prescindere dalla comparsa di malattia conclamata, è però chiaro che la presenza di lesioni renali si traduce in un alterato metabolismo, prova ne sono gli alterati valori di urea e creatinina, che certamente condiziona in senso negativo le performances produttive. E' quindi giustificata una maggiore attenzione alla presenza e diffusione dell'infezione da *E. cunicoli* negli allevamenti di conigli.

BIBLIOGRAFIA – Archetti, I., Tittarelli, C., Cerioli, M., Brivio, R., Grilli, G., Lavazza, A., 2008. Serum chemistry and hematology values in commercial rabbits: preliminary data from industrial farms in North Italy. In: Proc. 9th World Rabbit Congress, Verona, Italy, pp. 1147-1152. **Harcourt-Brown**, F., 2007. Radiographic signs of renal disease in rabbits. Vet. Rec. 160:787-794. **Lavazza**, A., Tinelli, F., Zanon, F., Massirio, I., 1996. A seroepidemiological survey of *Encephalitozoon cuniculi* in different Italian rabbitries. In: Proc. 6th World Rabbit Congress, Toulouse, France, 3:81-87. **Saviotti**, M., Tamba, M., Gallazzi, D., Lavazza, A., 2000. Further data on the diffusion of *Encephalitozoon cuniculi* in Italian rabbitries. In: Proc. 7th World Rabbit Congress, Valencia, Spain, B:355-362. **Tittarelli**, C., Gelmetti, D., Rota Nodali, S., Gibelli, L., Lavazza, A., 2009. Encephalitozoonosi del coniglio. Correlazione tra lesioni renali macro-microscopiche e titolo anticorpale in conigli al macello. In: Atti delle Giornate di Coniglicoltura ASIC 2009, Forlì, Italia, pp. 81-84.