



Henipavirus

Marco Martini, Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute, Università di Padova

Aspetti generali

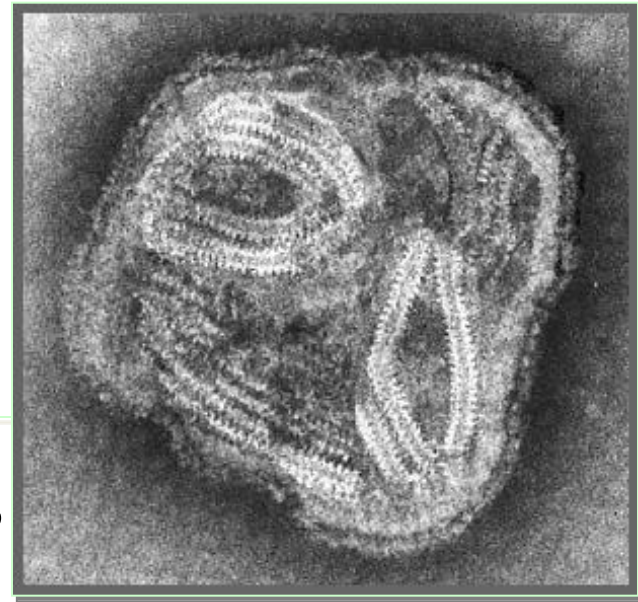
Virus emergenti

- alcuni nuovi virus scoperti negli anni '90
 - *Paramyxoviridae*
 - *Hendra* virus nel 1994
 - *Menangle* virus nel 1997
 - *Nipah* virus nel 1999
 - *Tioman* virus nel 2000
 - *Salem* virus nel 2000
 - Human metapneumovirus nel 2001
 - *Lyssavirus*
 - Australian bat lyssavirus nel 1996

Aspetti generali

Paramyxovirus

- Group V ➤ (-) sense RNA viruses
- Order *Mononegavirales*
- Family *Paramyxoviridae*
 - Subfamily *Paramyxovirinae*
 - genere *Respirovirus*
 - genere *Morbillivirus*
 - genere *Rubulavirus*
 - Subfamily *Pneumovirinae*
 - genere *Pneumovirus*
 - genere *Metapneumovirus*



Hendra virus



Caso Hendra

▣ CASO 1 ➤ HENDRA

▣ settembre 1994 ➤ due cavalli vengono portati nelle scuderie di Hendra, distretto Brisbane, da scuderia Cannon Hill (a 6 km)

- una fattrice gravida ammalata che muore in 2 giorni
- un altro cavallo che viene subito spostato e che non si ammalerà

▣ metà mese ➤ due uomini scuderia si ammalano

- artiere della scuderia sviluppa sintomi simil-influenzali
 - il giorno successivo si ammala anche l'allenatore
- entrambi hanno avuto contatti ravvicinati con la fattrice, soprattutto l'allenatore che è stato esposto a secrezione nasale

Hendra virus



Caso Hendra

▣ entro fine mese

■ cavalli

- ▣ 13 cavalli nella scuderia di Hendra e in scuderie a contatto muoiono
- ▣ 7 cavalli vengono successivamente identificati come esposti all'infezione e guariti ➤ alcuni asintomatici
- ▣ 9 cavalli scuderia Hendra non colpiti

■ uomini

- ▣ l'artiere rimane ammalato per 6 settimane ➤ successivamente guarisce
- ▣ l'allenatore muore nel giro di 6 giorni dalle manifestazioni cliniche

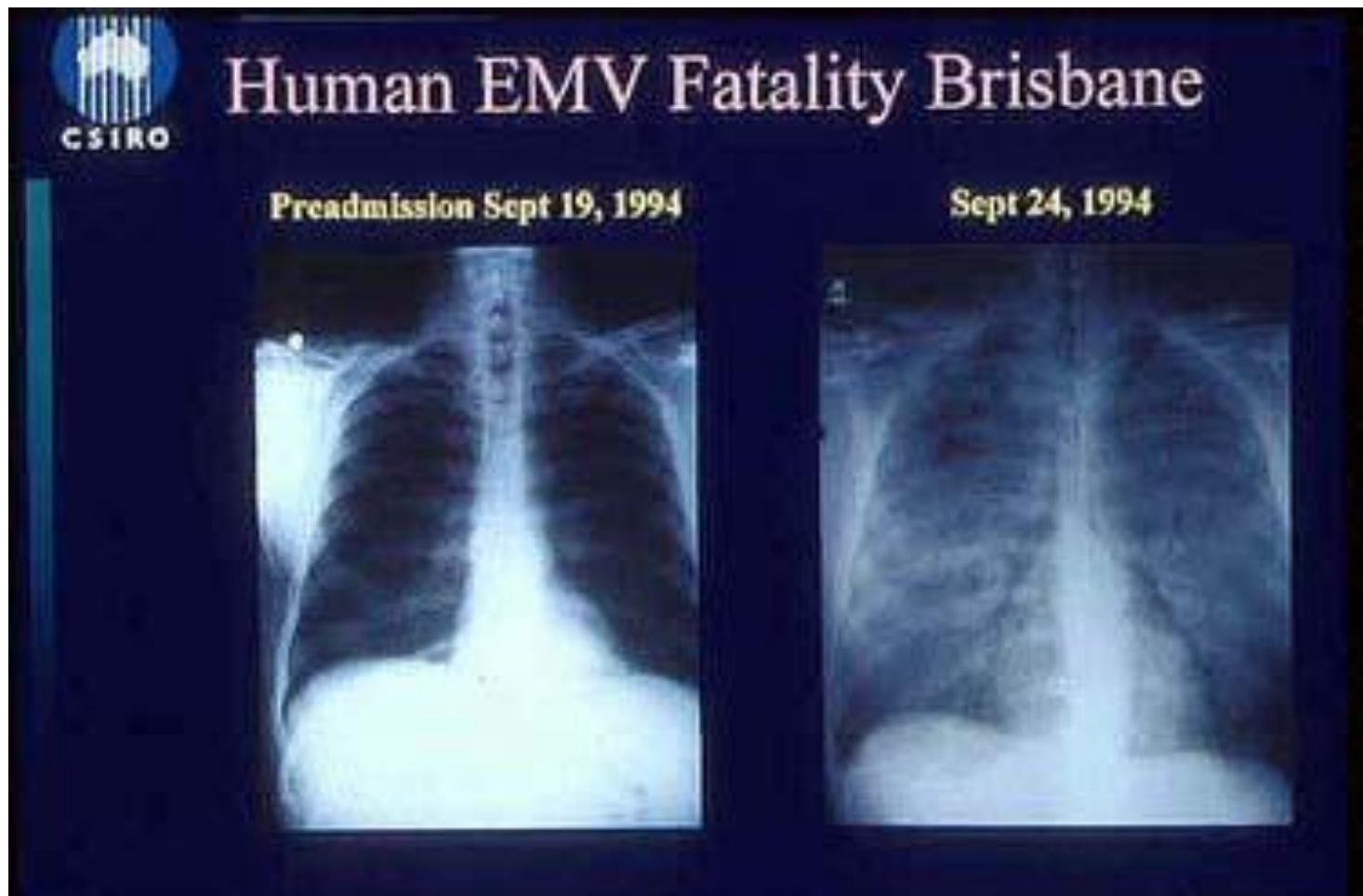
FIGURE 5.1
Chronology of equine and human cases of disease attributed to HeV infection

September 1994								
	7	9	13	14	15	16	17	19-26
Horses								
Cannon Hill (Paddock)	2 horses moved							
Hendra (Stables)		Mare died				2 horses moved		10 horses dead 4 recovered
Hendra (Neighbouring property)		1 horse moved						1 horse dead 1 recovered
Kenilworth (150 km distant)								1 horse dead 1 recovered
Samford (Paddock)								1 recovered
			New South Wales					
Humans								
Stable hand				Becomes ill				Slow recovery
Trainer					Becomes ill		Hospitalized	Died

Source: Murray et al., 1995b.

Hendra virus

Caso Hendra



Hendra virus

Sintomatologia nei cavalli

- anoressia, depressione, febbre (fino a 41°C)
- sintomatologia respiratoria (tachipnea) e atassia; di comune riscontro scolo nasale abbondante prima della morte
- occasionalmente edema alla testa



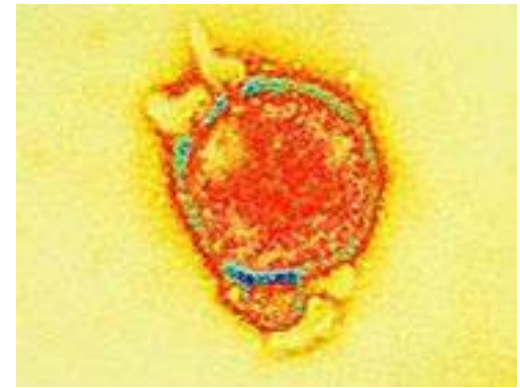
Hendra virus



Diagnosi nei cavalli

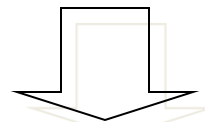
- escluse come cause ➤ Peste equina, influenza equina e herpesvirus equino in seguito a esito ELISA, PCR e EM
- eseguiti test batteriologici e tossicologici ➤ negativi
- eseguiti test virologici ➤ riscontro di un virus formante sincizi in tessuto coltura inoculata con tessuti equini infetti
- ritrovato virus formante sincizi anche in rene allenatore

Hendra virus



Approfondimento diagnostico

- ▣ EM ➤ *Paramyxoviridae*
 - stessa morfologia virale
- ▣ siero convalescente cavalli e allenatore reagiscono contro virus isolato da campioni equini e virus isolato da rene allenatore
- ▣ entrambi i virus non reagiscono con sieri contro virus noti



è lo stesso virus

Family PARAMYXOVIRIDAE

PARAMYXOVIRINAE

PNEUMOVIRINAE

<i>Respirovirus</i>	<i>Morbillivirus</i>	<i>Rubulavirus</i>	<i>Pneumovirus</i>	<i>Metapneumovirus</i>
Sendai virus murine parainfluenza virus 1	MeV measles virus	Mumps virus	HRSV human respiratory syncytial virus	TRTV turkey rhinotracheitis virus
HPIV-1, -3 human parainfluenza virus	CDV canine distemper virus	APMV-2/9 avian paramyxovirus	BRSV bovine respiratory syncytial virus	
BPIV-3 bovine parainfluenza virus	DMV dolphin distemper virus	HPIV-2, 4a, 4b human parainfluenza virus	PVM pneumonia virus of mice	
SPIV-10 simian parainfluenza virus 10	PPRV pest-des-petits ruminants virus	NDV Newcastle Disease virus (APMV-1)		
	PDV phocine (seal) distemper virus	Porcine rubulavirus La-Piedad-Michoacan-Mexico virus		
	porpoise distemper virus	SV-5, 41 simian parainfluenza virus		
	RPV rinderpest virus			

Hendra virus

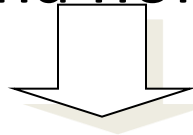


Approfondimento diagnostico

▣ PCR

- con primer paramyxovirus e pneumovirus ➤ negativa
- con primer per regione conservata morbillivirus ➤ amplificazione di un frammento di 400 bp

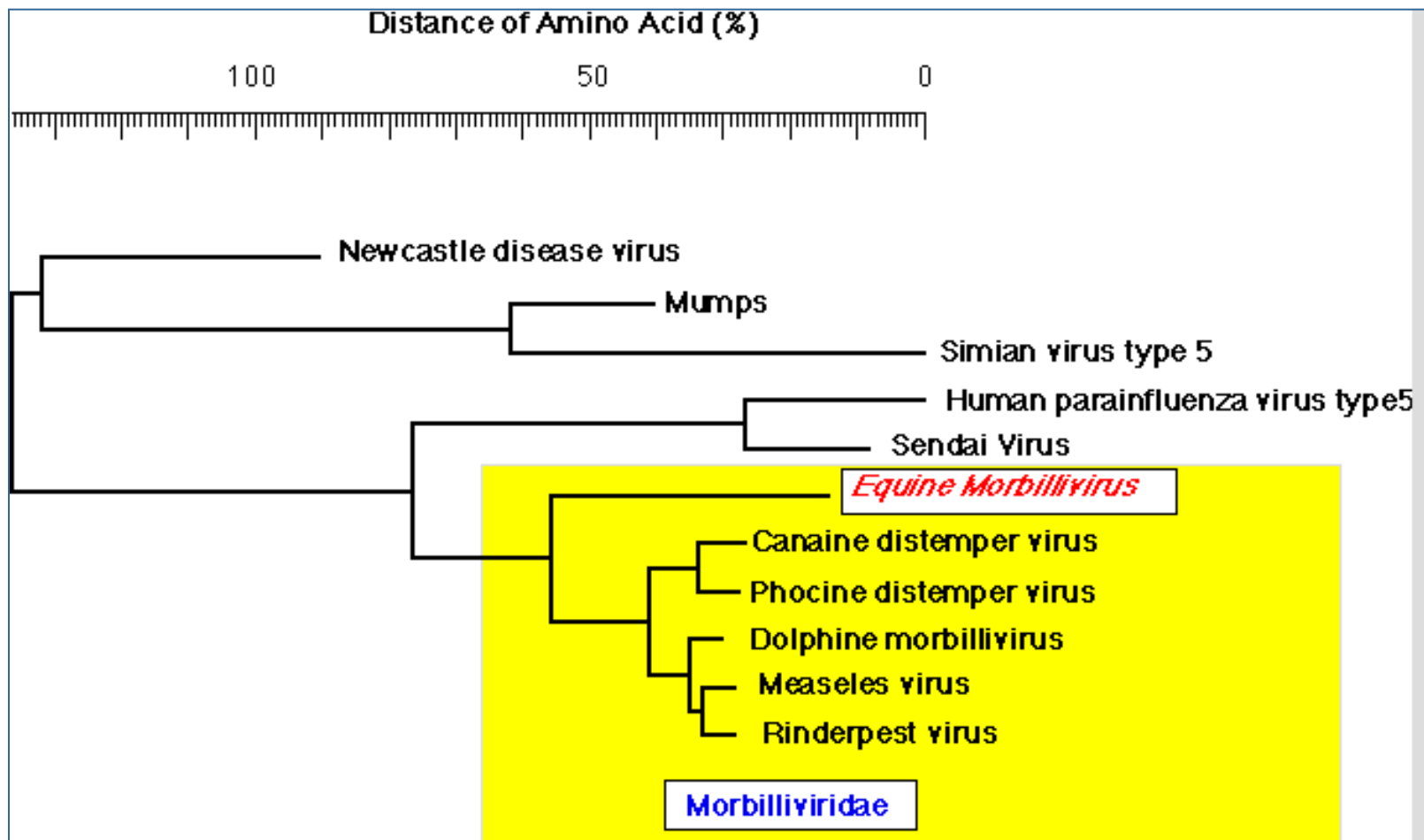
▣ sequenza nucleotidica ➤ indica una relazione con i morbillivirus ma non identità



Equine Morbillivirus ➤ HENDRA VIRUS (HeV)

Hendra virus

Approfondimento diagnostico



Hendra virus



Approfondimento malattia

- ▣ infezione sperimentale ➤ riproduzione della malattia in altri cavalli mediante inoculazione di
 - omogenati di polmone e milza di animali infetti
 - virus isolato in tessuto coltura
- ▣ incubazione 4-10 giorni (infezione naturale 8-16 giorni)
- ▣ stessa forma clinica ➤ sindrome respiratoria acuta, seguita da morte nel giro di 1-3 giorni
- ▣ il virus è stato reisolato da animali sperimentalmente infetti

Hendra virus

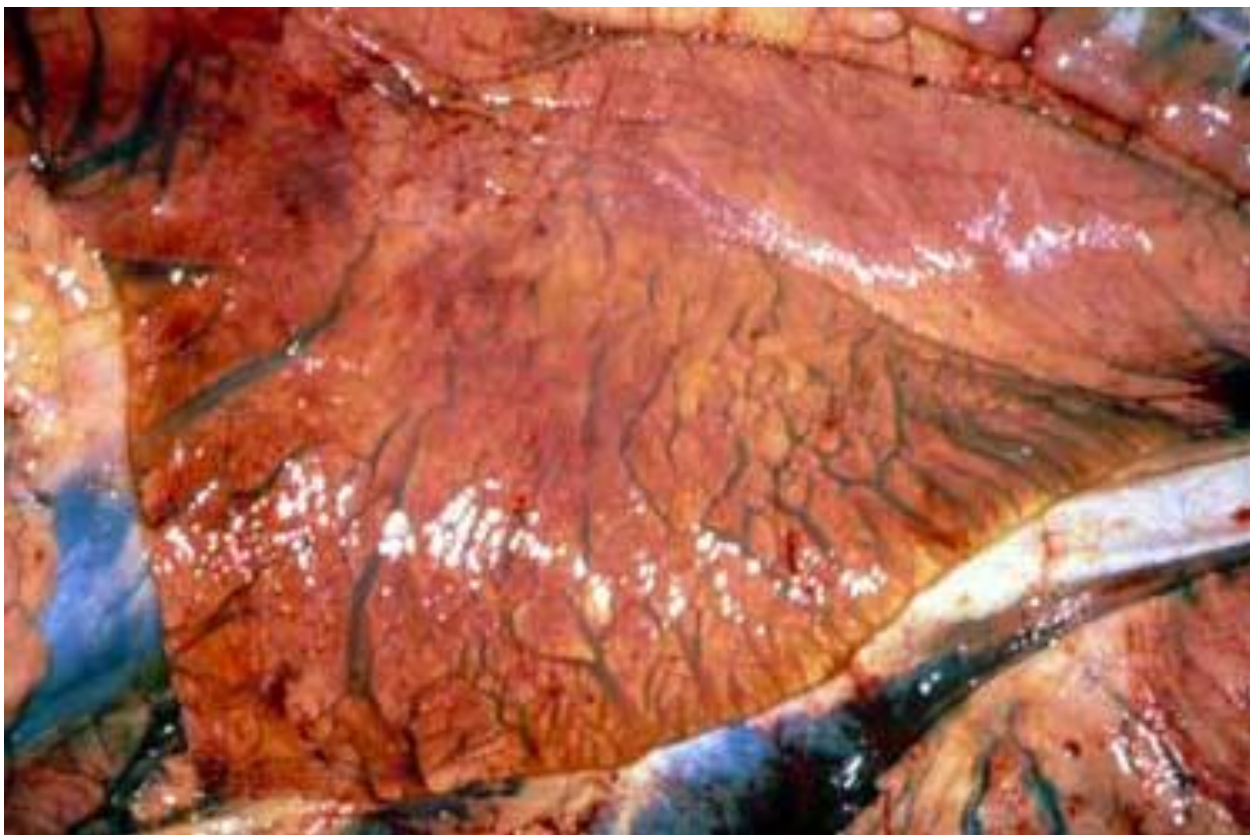
Anatomia patologica



- Polmoni congesti e edematosi, con dilatazione prominente dei vasi linfatici a livello di margini ventrali polmonari
- vie aeree ripiene di schiuma fine, a volte sanguinolenta, con abbondante fuoriuscita dalle narici
- istologicamente si riscontra polmonite interstiziale, edema e degenerazione capillare
- antigeni virali evidenziati in cellule endoteliali con IF
- cellule sinciziali osservate a livello vasi sanguigni

Hendra virus

Lesioni



Hendra virus



Caso Mackay

▣ CASO 2 ➤ Mackay

- è il primo caso temporalmente ma è stato identificato un anno dopo

▣ fine luglio 1994 ➤ in scuderia vicino a MacKay (1.000 km a nord di Brisbane) una fattrice gravida al pascolo mostra sintomatologia respiratoria e viene trasferita in paddock

- il giorno dopo presenta grave sintomatologia respiratoria, atassia e edema fosse infraorbitali
- muore il giorno dopo (1 agosto 1994)

Hendra virus



Caso Mackay

- dopo una decina di giorni lo stallone nel paddock adiacente mostra andatura barcollante, tremori muscolari e scolo nasale emorragico
 - muore il giorno successivo (agosto 12, 1994)
- diagnosi ➤ nessuna causa accertata, sospetto di morso di serpente e avvelenamento da avocado
 - autopsia eseguita dalla veterinaria/proprietaria e da suo marito

Hendra virus



Caso Mackay

- metà agosto 1994 ➤ marito si ammala e viene ricoverato in ospedale
 - mal di gola, mal di testa, stordimento, vomito e dolorabilità al collo
 - CSF con pleiocitosi neutrofilica ma negatività a coltura virale e batterica
- diagnosi provvisoria di meningite, parzialmente trattata con antibiotici
- l'uomo guarisce

Hendra virus

Caso Mackay



- settembre 1995 ➤ l'uomo torna in ospedale
 - nelle due settimane precedenti ➤ irritabilità e dolorabilità alla schiena, con contrazioni tonico-cloniche generalizzate
 - durante la settimana successiva ➤ contrazioni ricorrenti a livello faccia destra, contrazioni secondarie generalizzate e lieve febbre nonostante terapia antibiotica e anticonvulsivi
 - EEG evidenzia crisi epilettiformi periodiche e persistenti
 - coma e morte dopo 25 giorni dal ricovero (21 ottobre 1995)

Hendra virus



Caso Mackay

- diagnosi retrospettiva su campioni del 1994
 - siero del 1994 ➤ presentava titoli neutralizzanti 1:4 anti HeV
 - nested PCR ➤ amplifica frammento del gene della proteina di matrice di 500 bp dell'Hendra virus
 - analisi nucleotidica ➤ evidenzia identità con virus isolato a Hendra nel 1994
 - (test sui tessuti dell'equino rivelano Hendra virus)

Hendra virus



Caso Mackay

- diagnosi campioni prelevati nel 1995
 - incremento rapido del titolo neutralizzante anti HeV
➤ 1:16 (2 ottobre) → 1:5.792 (19 ottobre)
 - decremento IgM e aumento IgG con ELISA
 - evidenza HeV con PCR in assenza di isolamento
 - conferma presenza Ag HeV con immunoistochimica
 - esame necroscopico ➤ leptomeningite, infiltrazione linfocitaria e plasmacellulare, foci di necrosi limitati alla neocorteccia, gangli basali, cervelletto; occasionali cellule endoteliali multinucleate in cervello, fegato, milza e polmoni

Hendra virus



Indagine epidemiologica

- 2.411 cavalli ➤ negativi
 - con assenza sintomi
- uomini a contatto ➤ negativi
- 5.000 campioni sierici (46 specie) ➤ tutti negativi
 - di cui
 - 2.500 cavalli
 - 150 umani

Hendra virus

Indagine epidemiologica

- ricerca reservoir ➤ assunti
 - la/le specie dovrebbero
 - essere presente in tutti e due i distretti
 - poter migrare tra i due distretti
 - il contatto con i cavalli deve essere possibile
- uccelli e volpi volanti (fruit bat)
 - i morbillivirus non crossano tra uccelli-mammiferi
 - indagati i fruit bat
 - riscontro di Ab in 4 specie di fruit bats (*Pteropus*) ➤ 25% degli animali testati presentava Ab
 - isolamenti successivi





Hendra virus

Caratteristiche epidemiologiche



- specie colpite
 - uomo con forma clinica mortale
 - cavallo con forma clinica mortale ➤ eliminazione attraverso le urine ma non vie aeree
 - sperimentalmente si possono ammalare gatti e cavie ➤ eliminazione del virus con le urine
 - infezione asintomatica nei fruit bat, nei conigli, nel cane
 - nessuna infezione in polli, ratti e topi

Hendra virus

Caratteristiche epidemiologiche

- non è altamente contagioso ma presenta alta letalità
- Fattori rischio
 - razza ➤ purosangue
 - sesso ➤ femmine
 - età ➤ < 8 anni
 - pascolo
 - gravidanza avanzata
 - presenza flying foxes



Hendra virus

Caratteristiche epidemiologiche

- modalità di trasmissione
 - assunzione di alimenti contaminati
 - trasmissione attraverso urine di animali infetti
 - ??? trasmissione attraverso feto abortiti di fruit bat o fluidi apparato riproduttore



Hendra virus



Caso Cairns

- CASO 3 ➤ CAIRNS
- gennaio 1999 ➤ un cavallo privato da polo (fattrice), in località Cairns, muore per HeV
 - diagnosi istologica, IP, PCR, su tessuto polmonare e EM
 - sintomatologia della durata di 24 ore
 - anoressia, depressione, atassia e edema facciale; alla morte fuoriuscita di abbondante fluido dalle narici
 - mantenuta in un paddock con un altro cavallo, senza movimentazione di altri cavalli ➤ l'altro cavallo testato in ELISA è risultato negativo

Hendra virus

Caso Cairns

- nel paddock ci sono alberi occasionalmente visitati da flying foxes ➤ si sospetta la trasmissione da questi animali alla cavalla
- nessun caso umano o casi in altri cavalli legato a questo



Hendra virus: casistica

▣ Cavalli

- 14 focolai fino al 2011
- 18 focolai nel 2011 (22 morti)
- 8 focolai nel 2012 (1 morto)
- 9 focolai nel 2013 (6 morti)
- Letalità $\pm 70\%$



▣ Uomo:

- 7 casi di infezione / 4 decessi (1994, 1995, 2008, 2009)

▣ Cane:

- 1 sieropositivo nel 2011 eutanasizzato
- 1 sieropositivo nel 2013 eutanasizzato

NO trasmissione uomo-uomo né cavallo-cavallo

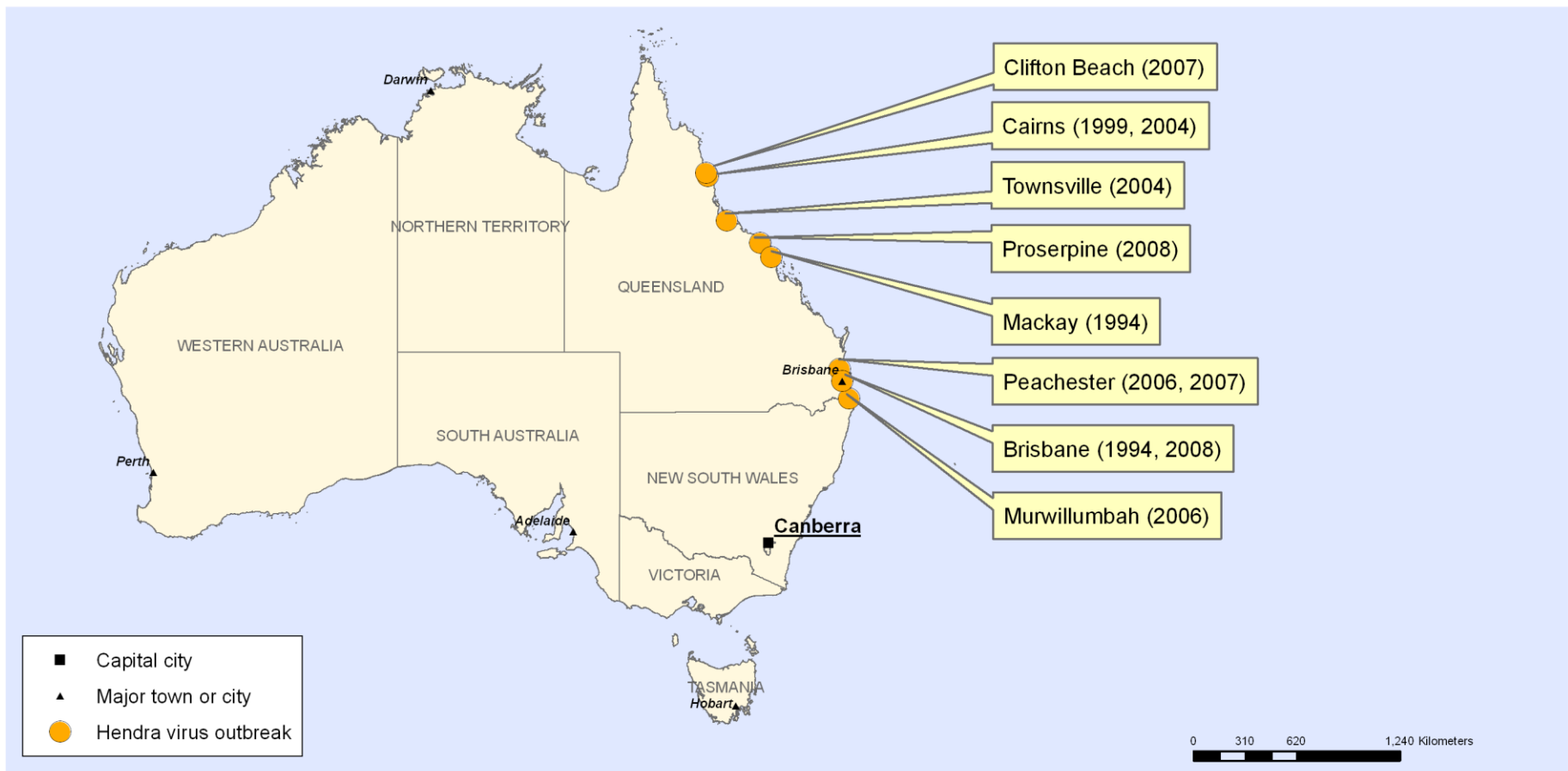
HENDRA VIRUS

1 Novembre 2012:
commercializzazione del primo vaccino
Equivac, vaccino a subunità (proteina G),
messo a punto in Australian Animal Health
Laboratory del Commonwealth Scientific and
Industrial Research Organization

In prospettiva:

- vaccino per l'uomo
- vaccino contro Nipah virus

Geographic distribution of Hendra virus outbreaks in Australia from 1994 to July 2008

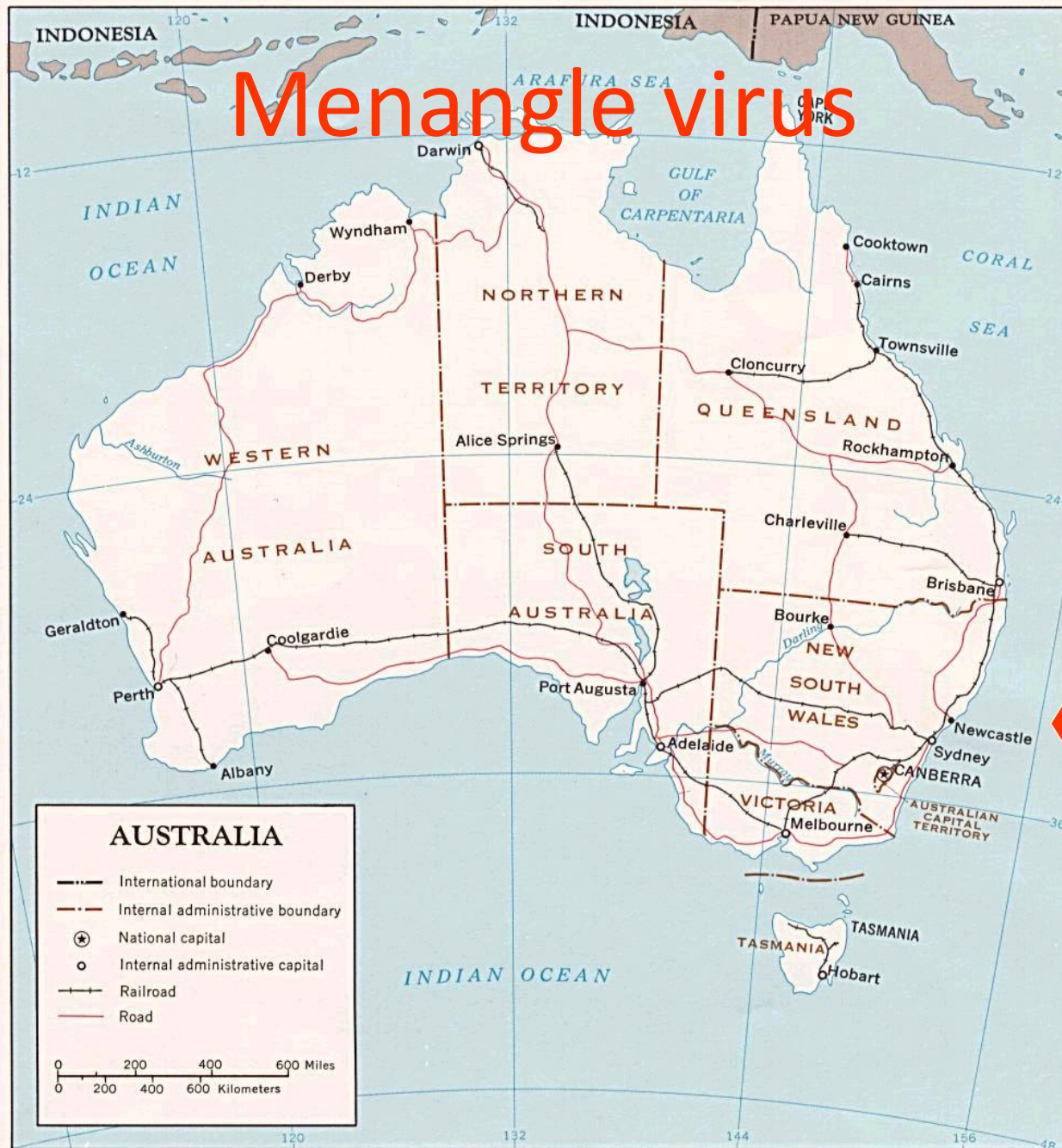


The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement.

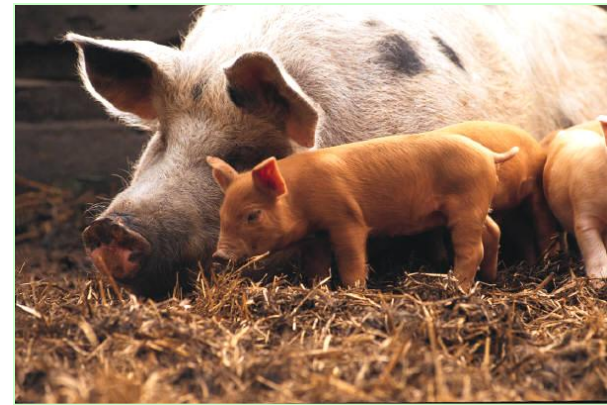
Data Source: World Health Organization
Map Production: Public Health Information
and Geographic Information Systems (GIS)
World Health Organization



© WHO 2008. All rights reserved



Menangle virus



Aspetti generali

- Australia 1997 ➤ scoperto in seguito ad attività ricerca Hendra virus
- allevamento di 2.600 scrofe, suddiviso in 4 unità, di New South Wales
- focolaio aprile-settembre caratterizzato da:
 - ridotta natalità: dall'82% al 60%
 - numero di suinetti vivi: 27%
 - aborto
 - aumento di aborti, feti mummificati, deformati ➤ con degenerazione del SNC e in qualche caso miocardite
 - necrosi sostanza bianca e grigia, infiltrazioni cellule infiammatorie, corpi inclusi intranucleari e intracitoplasmatici neuronali

Menangle virus

Aspetti generali



- diffusione nell'allevamento ➤ alta contagiosità con malattia tra tutti i neonati delle unità ma nessuna sintomatologia in animali già nati, di qualunque età
- sindrome simil-influenzale in due lavoratori
 - nessuna mortalità, ricovero di entrambi

Menangle virus



Aspetti diagnostici

- isolamento virale nel laboratorio di MENANGLE ➤ su BHK21
 - a partire da tessuti dei suinetti colpiti: polmoni, encefalo, cuore
 - virus sinciziale
- EM ➤ morfologicamente simile a *Paramyxovirus*
- antigenicamente e geneticamente ➤ distinto da HeV, più simile a *Rubulavirus*

Menangle virus



Indagini sierologiche

- 88 sieri in corso di focolaio ➤ 90% positività in suini di tutte le età e dell'allevamento con Ab neutralizzanti a titoli $\geq 1:256$
- 120 sieri raccolti prima di aprile 1997 ➤ 0% positività
- 1.114 sieri provenienti da altri allevamenti ➤ 0% positività
- 250 sieri uomini a contatto con suini ➤ solo 2 positivi

Menangle virus

Indagini epidemiologiche



- da ottobre 1996 a aprile 1997 ➤ colonia di fruit bats ha circolato nel raggio di 200 m dall'allevamento ➤ sieropositività in fruit bats vicino all'allevamento
 - anche in campioni di animali precedenti al focolaio
 - sono probabilmente i reservoir dell'infezione
- indagini sierologiche negative in
 - roditori, uccelli, bovini, ovini, gatti, cane
- programma di controllo
 - nessun altro caso riportato finora
 - eradicazione della malattia (???)

Australian bat lyssavirus (ABL)

Australia 1996



- scoperto in seguito ad attività ricerca Hendra virus
 - fino ad allora si riteneva che l'Australia fosse indenne da rabbia
 - identificato da campioni di diversi pipistrelli ammalati
 - analisi filogenetica indica relazione stretta con EBLV e ceppi classici “da strada” di rabbia
 - vaccino classico è protettivo
 - è un genotipo separato
- persone colpite in Australia
 - morte di un guardiano di pipistrelli nel 1996
 - morte di una donna di 37 anni del Queensland nel dicembre 1998 ➤ morsicata da un pipistrello 27 mesi prima