

## Vaccini e test sierologici nel cavallo

Dott.ssa Susanna Mereghetti

Nella clinica ippiatrica abbiamo a disposizione alcuni vaccini per la prevenzione di patologie virali e batteriche; questi protocolli vaccinali possono interferire nella diagnostica sierologica anticorpale - vediamo come e per quali malattie.

### Principi generali

Un vaccino non fa altro che veicolare l'antigene di un patogeno mettendolo in contatto con le cellule linfoidi nei linfonodi tramite il sistema linfatico o nella milza, tramite il circolo sanguigno. I linfociti B inglobano l'antigene che gli viene presentato, interagiscono coi linfociti T e cominciano a produrre anticorpi (prima IgM, poi IgG, IgA, IgE) diventando plasmacellule; in seguito alcuni linfociti B diventano "memory cell" pronte ad attivarsi se nuovamente esposti al medesimo antigene. Anche alcuni linfociti T, incontrando gli stessi antigeni, si attivano in aiuto dei linfociti B nella modulazione della risposta immunitaria (linfociti T helper): alcuni di questi diventano linfociti T "memory", preparati per affrontare un'eventuale infezione naturale.

### Adjuvanti

La stimolazione antigenica data dal vaccino viene amplificata dagli adjuvanti nel caso di un vaccino spento, che cioè non replica nell'organismo e che quindi potrebbe non venire in contatto con molte cellule linfoidi. Gli adjuvanti sono sostanze che promuovono l'infiammazione nel sito di inoculo, per richiamare più cellule possibili, che poi presenteranno l'antigene ad un maggior numero di linfociti, ottimizzando ed amplificando quindi la risposta immunitaria.

Le sostanze utilizzate principalmente come adjuvanti sono: sali di alluminio, emulsioni, particelle lipidiche, nanoparticelle, polielettroliti, immunopotenziatori (proteine, glicosidi).

### Vaccini

I principali vaccini studiati per il cavallo sono di varia tipologia:

- *vivi attenuati*: sono prodotti inattivando l'agente eziologico che perde quindi la sua patogenicità, conservando nel contempo la piena immunogenicità, anche attraverso un'attiva replicazione all'interno dell'ospite, senza peraltro causare la malattia.
- *inattivati*: sono composti dagli agenti eziologici uccisi tramite calore, formaldeide, irradiazione; per questo motivo sono meno immunogeni ed usualmente abbinati ad adjuvanti per permettere una maggior reattività immunologica.
- *a subunità proteiche*: contengono le porzioni proteiche degli agenti eziologici o delle tossine che producono una forte risposta immunitaria senza altre azioni patologiche nei confronti dell'ospite; sono di solito addizionati adjuvanti.
- *ricombinanti*: sono composti da un antigene "innestato" su un virus vettore sicuramente non patogeno per il cavallo (poxvirus del canarino ad esempio), che replica contribuendo alla produzione di una forte risposta immunitaria, sia umorale che cellulo-mediata.
- *a DNA*: sono prodotti inserendo la sequenza genica che codifica per alcune proteine virali di superficie in plasmidi batterici che colonizzano la cellula linfocitaria facendole produrre essa stessa la proteina immunogena. Questa di seguito viene esposta dalle stesse cellule

del sistema immunitario determinando una rapida attivazione sia umorale che cellulo-mediata.

- *chimerici*: sono composti da più sequenze geniche che codificano per differenti proteine dell'envelope o del capsido virale.

Vediamo in dettaglio per ogni vaccino disponibile sul mercato italiano le tempistiche di somministrazione, di insorgenza e durata dell'immunità vaccinale, per una corretta interpretazione dei corrispettivi test sierologici disponibili.

## Tetano

Si tratta di una patologia grave causata da *Clostridium tetani*. Il microrganismo penetra attraverso ferite cutanee, anche di lieve entità, in contatto con il terreno dove le spore del batterio sono abbondanti. Dopo l'infezione il microrganismo inizia a produrre la tossina che, raggiungendo il sistema nervoso periferico e poi centrale, è la responsabile della sintomatologia neurologica paralitica che porta quasi inevitabilmente alla morte il soggetto colpito.

Il vaccino viene allestito con il tossoide tetanico (od anatossina), che sarebbe la parte immunogena della *tetanospasmina*, priva del suo potere tossico.

Se invece si ha necessità di protezione immediata, è possibile somministrare entro 24 ore dall'evento a rischio (ferita, chiodo nello zoccolo, parto...) il siero *iperimmune antitetanico*, contenente le immunoglobuline già pronte, prodotte da un soggetto vaccinato, con un effetto protettivo da 24-48 ore dopo somministrazione intramuscolare ed immediatamente dopo somministrazione endovenosa, fino a circa 20 giorni post inoculo.

Nel frattempo, nei soggetti adulti è anche possibile somministrare il vaccino contempora-

neamente al siero iperimmune, in parti muscolari differenti, a completamento della protezione immunitaria.

Protocollo: il tossoide tetanico è disponibile in Italia unicamente abbinato al vaccino contro l'influenza equina.

1<sup>a</sup> *somministrazione*: intorno al 5° mese di vita

2<sup>a</sup> *somministrazione*: dopo 4 – 6 settimane

3<sup>a</sup> *somministrazione*: dopo 12/18 mesi.

*Titolo anticorpale*: permane per almeno 2/3 anni dopo il completamento delle vaccinazioni di base ed in alcuni casi anche di più.

Test anticorpale: Laboklin dispone di un test sierologico (ELISA semiquantitativa) che permette la quantizzazione del titolo anticorpale per l'anatossina tetanica, che può essere utilizzato per il monitoraggio della copertura vaccinale.

## Influenza equina

E' una malattia virale causata da un virus della famiglia degli *Orthomyxoviridae* molto contagiosa per il cavallo, caratterizzata da una sintomatologia prevalentemente respiratoria, anche se sono possibili le complicanze gastroenteriche. Il virus si trasmette per via aerea attraverso tosse, scoli e starnuti. I soggetti colpiti si ammalano nell'arco di 1/3 giorni, con febbre e sintomi respiratori e superano generalmente l'infezione nell'arco di una settimana, salvo complicazioni polmonari. La malattia è molto diffusiva e per questo motivo il completamento di un corretto piano vaccinale è richiesto per tutti gli equini che vengono movimentati per l'uso sportivo.

Protocollo: i vaccini disponibili in Italia comprendono anche il tossoide tetanico ed i ceppi: A/2South africa, A/2Newmarket, A/2Kentucky, A/2Brentwood, A/2Borlange.

Si tratta di vaccini ricombinanti od attenuati, da utilizzarsi secondo questo protocollo:

*1<sup>a</sup> somministrazione:* intorno al 5°/6° mese di vita

*2<sup>a</sup> somministrazione:* dopo 4–6 settimane

*3<sup>a</sup> somministrazione:* dopo 12 mesi

*Titolo anticorpale:* permane stabile per circa 6 mesi dopo il completamento delle vaccinazioni di base, fino a non più di un anno. Questo perché i ceppi utilizzati sono generalmente vecchi ed i virus antinfluenzali sono soggetti ad un rapido “shift antigenico”, quindi la copertura appare minore rispetto al titolo anticorpale prodotto dall’infezione naturale.

Test anticorpale: Laboklin offre un test anticorpale (Inibizione dell’emoagglutinazione - per i ceppi A/1Prague e A/2 Newmarket) anche se in letteratura non vi sono dati concordanti nello stabilire quale sia il titolo effettivamente protettivo. Per una corretta diagnosi è quindi necessario valutare una sieroconversione dopo 10–14 gg.

## Rabbia

È una grave malattia causata da un virus del genere *Lyssavirus*, caratterizzata da una sintomatologia nervosa a decorso mortale, trasmissibile anche all’uomo. Il virus si localizza nel sistema nervoso centrale e viene escreto dalle ghiandole salivari, permettendo il contagio tramite il morso o tramite contatto con la saliva di soggetti infetti. Dopo una fase variabile, anche molto lunga, di incubazione, possiamo avere una fase detta *prodromica* (caratterizzata da neurite nella sede della ferita) seguita dalla fase *neurologica*, che nel cavallo può assumere varie caratteristiche atipiche, non specifiche: turbe del comportamento e della personalità, iperattività ed aggressività, pica, ma anche semplice astenia, zoppie od atassia, spasmo del faringe (idrofobia) con conseguente scialorrea ed alterazioni della fonasi, che evolvono rapidamente in paralisi e morte. Nessuna terapia appare possibile. L’Italia è attualmente

paese indenne dal 2013, la profilassi antirabbica è consigliata a scopo precauzionale negli animali al pascolo nelle zone di confine interessate dagli ultimi casi (Friuli Venezia Giulia, province di Belluno, Trento e Bolzano). È stata inoltre mantenuta, sempre in queste zone, la vaccinazione orale nelle volpi.

I vaccini disponibili per il cavallo sono costituiti da virus inattivato, lo schema di somministrazione è il seguente:

*1<sup>a</sup> somministrazione:* dopo il 6° mese di vita

*2<sup>a</sup> somministrazione:* dopo 1/2 anni, a seconda del prodotto utilizzato

*Titolo anticorpale:* permane per circa 1/2 anni, anche 3 per alcuni vaccini, dopo il terzo richiamo.

Test anticorpale: Laboklin dispone di un test anticorpale (virusneutralizzazione) che viene regolarmente effettuato nei piccoli animali per l’espatrio. È possibile utilizzarlo per una titolazione post vaccinale anche per il cavallo.

## West Nile Disease

È una patologia di tipo influenzale cui può seguire una grave encefalite, causata da un virus del genere *Flavivirus*, trasmissibile al cavallo, uomo, altri mammiferi da insetti ematofagi, con un ciclo che coinvolge anche alcuni uccelli migratori. Il cavallo è un fondo cieco per il virus in quanto la viremia non raggiunge i distretti periferici e la reinfezione ematogena delle zanzare che dovessero pungere un cavallo malato non appare possibile.

L’incubazione dura dai 2 ai 6 giorni. Segue la viremia, che corrisponde al picco febbrile, seguita a sua volta dai sintomi neurologici (atassia, depressione del sensorio, cecità, paralisi del posteriore, decubito, ...) e da coma e morte nel 25% dei casi. Alcuni animali, dopo la viremia, presentano una remissione dei sintomi e guariscono, con successivo sviluppo di anticorpi (IgM entro i primi 20 giorni, IgG

dopo almeno un mese). Da alcuni anni sono disponibili dei vaccini ricombinanti, chimerici od inattivati, protettivi per entrambi i ceppi virali (lineage 1 e lineage 2) circolanti in Europa.

*1<sup>a</sup> somministrazione:* dopo il 6° mese di vita, in aprile/maggio, per avere massima copertura nei mesi estivi

*2<sup>a</sup> somministrazione:* dopo 4 – 6 settimane.

*Titolo anticorpale:* permane per circa 6 mesi dopo il completamento delle vaccinazioni di base, dopo il sesto mese comincia a calare anche se la protezione dura per almeno un anno.

Test anticorpale: possiamo effettuare un test sierologico (Reverse ELISA) che permette di quantizzare sia le IgM, che indicano un'infezione recente in atto (e che quindi permettono al clinico di segnalare la presenza di un focolaio di malattia all'autorità sanitaria competente per territorio) che le IgG, che possono indicare sia un'infezione pregressa che una copertura immunologica di origine vaccinale.

## Herpesvirus equini

Si tratta di un gruppo di virus che possono dare forme respiratorie altamente contagiose, aborto e forme neurologiche con turbe della deambulazione, paralisi del treno posteriore, disturbi della minzione. Sebbene non vi sia una netta separazione clinico-sintomatologica tra i vari ceppi erpetici, possiamo definire a grandi linee il quadro sintomatologico prevalente per ogni sierovariante:

- EHV1: aborto e forma neurologica
- EHV2: forme respiratorie lievi, congiuntivite
- EHV4: forma respiratoria e sporadicamente neurologica
- EHV5: forma polmonare (polmonite interstiziale).

Sia la copertura anticorpale vaccinale che quella prodotta dopo superamento della

malattia durano 6–12 mesi al massimo; la profilassi vaccinale appare parzialmente protettiva per l'aborto e la forma respiratoria ma non protettiva per la forma neurologica.

Protocollo: i vaccini disponibili in Italia comprendono i ceppi EHV1 ed EHV4 (ceppo Kentucky). Si tratta di vaccini attenuati.

*1<sup>a</sup> somministrazione:* intorno al 5° mese di vita del puledro

*2<sup>a</sup> somministrazione:* dopo 4–6 settimane.

*3<sup>a</sup> somministrazione:* dopo altri 6 mesi.

*Cavalle gravide:* si consigliano tre richiami, al 5°-7°-9° mese di gestazione, al fine di raggiungere la massima copertura anticorpale tra il 10° mese ed il parto, periodo maggiormente a rischio per l'aborto o la natimortalità. Questo protocollo permette inoltre la produzione di anticorpi colostrali di pronta disponibilità per il puledro neonato, particolarmente esposto alla forma respiratoria, soprattutto negli allevamenti dove durante i parti si accumulano un gran numero di soggetti in poco tempo.

*Titolo anticorpale:* permane per circa 6 mesi dopo il completamento del ciclo di vaccinazioni di base, per questo motivo si consiglia di ripetere il vaccino semestralmente o comunque ad ogni gravidanza nelle fattrici.

Test anticorpale: Laboklin dispone di test anticorpali per tutte cinque le varianti erpetiche (IFAT), la diagnosi sierologica è attendibile solo dopo valutazione di una idonea sierconversione, al fine di dimostrare il deciso incremento degli anticorpi nella fase acuta della malattia, che di solito coincide con la forma respiratoria (viremia). Nelle forme abortive, che possono seguire la fase respiratoria a distanza variabile, potremmo non avere un deciso picco anticorpale poiché il siero prelevato al momento dell'aborto non indica la fase acuta ma piuttosto una fase di convalescenza.