

Selezione per la resistenza genetica alla Maedi Visna negli ovini: opportunità e problematiche

ruminantia.it/selezione-per-la-resistenza-genetica-alla-maedi-visna-negli-ovini-opportunita-e-problematiche/

Antonello Carta



Stato dell'arte

La **Maedi Visna (MV)** è una **patologia ovina cronica** con manifestazioni cliniche molto variabili, causata da un virus appartenente al genere **Lentivirus** che comprende anche il virus dell'Artrite Encefalite Caprina (CAEV). I virus responsabili di MV e CAEV appartengono al gruppo **Small Ruminants Lentivirus (SRLV)**. In passato, si ritenevano somiglianti e specifici dell'ospite mentre in realtà si tratta di virus adattati all'ospite. In effetti, vengono identificati ceppi MV-like nelle capre e ceppi CAEV-like nelle pecore. Gli **organi bersaglio** nell'ovino sono il **polmone**, la cui infezione provoca la forma clinica indicata come **Maedi**, e molto **più raramente il sistema nervoso centrale**, determinando la forma clinica indicata come **Visna**. Inoltre, il virus della MV si localizza molto frequentemente anche nella **mammella**, dove viene escreto con il colostro ed il latte e determina forme di **mastite cronica** quasi sempre non apprezzabili clinicamente. L'andamento della malattia è generalmente lento, progressivo, persistente e spesso paucisintomatico mentre i casi clinici conclamati sono rari. Una volta che il virus penetra nell'allevamento, si diffonde soprattutto attraverso l'**assunzione di colostro e di latte**, che costituisce la **via principale di contagio**, mentre è relativamente meno importante la trasmissione attraverso il contatto diretto tra animali. Alcune patologie concomitanti come l'**Adenomatosi Polmonare**, che spesso è accompagnata dall'emissione di muco dal naso con conseguente contaminazione dell'ambiente, possono accelerarne la

trasmissione orizzontale. Una valutazione precisa dei danni economici diretti negli allevamenti ovini è dunque difficile. Relativamente agli effetti sulle produzioni latte e sugli accrescimenti degli agnelli, in letteratura si riportano risultati contraddittori probabilmente legati alla variabilità dei disegni sperimentali. L'altissima prevalenza del virus di MV negli allevamenti ovini della Sardegna e la sua elevata variabilità genetica, lo rendono in ogni caso un **agente infettivo potenzialmente pericoloso** che merita l'attenzione di operatori sanitari, zootecnici e allevatori. Attualmente **non esistono in Sardegna piani di controllo**. Eventuali piani di eradicazione si fonderebbero sulla separazione degli agnelli dalle madri alla nascita con successivo allattamento artificiale. Un piano così concepito, anche se limitato alla sola quota di rimonta, è laborioso e costoso in quanto prevedrebbe la presenza praticamente continua di operatori nel periodo dei parti. In Sardegna, i tentativi di eradicazione della CAEV nelle capre con protocolli di questo tipo non hanno avuto molte adesioni, anche quando è stato previsto un incentivo pubblico per la loro realizzazione. L'ultimo studio epidemiologicamente rilevante in Sardegna è stato realizzato nel 2007 su 306 allevamenti con 18.513 capi testati (Puggioni et al., 2007). Circa il 90% degli allevamenti ovini presentavano almeno un capo sieropositivo con una prevalenza media (percentuale di capi positivi per gregge) del 33%. Non esistono dati più recenti rilevati sistematicamente, ma è presumibile che in assenza di piani di controllo e di divieti nella circolazione di capi positivi la situazione si sia ulteriormente deteriorata negli ultimi anni.

Alla luce di queste considerazioni, il Ministero della Salute e il Centro Regionale di Programmazione hanno finanziato a **IZS, AGRIS e Dipartimento Medicina Veterinaria di UNISS** ricerche mirate a verificare la possibilità di attuare **strategie di riduzione della prevalenza della patologia** fondate sulla **selezione di ovini geneticamente resistenti**. Di seguito verranno illustrati i principali risultati di queste ricerche.

Resistenza genetica e resilienza sono due concetti differenti

Spesso quando si parla di **resistenza genetica a una patologia** si attribuiscono al termine resistenza due significati in realtà differenti. Il primo, che possiamo definire resistenza propriamente detta, definisce l'**attitudine dell'animale a non contrarre la patologia**. Il secondo, che più propriamente si definisce **resilienza**, è l'**attitudine dell'animale a continuare a produrre senza particolari problemi e in assenza di manifestazioni cliniche una volta contratta la patologia**. Gli studi di cui riferiamo hanno a che fare con la resistenza genetica propriamente detta cioè la capacità degli ovini di non infettarsi con il virus della Maedi Visna.

Il meccanismo della resistenza genetica: gene e mutazioni coinvolte

Le ricerche sarde sono iniziate dopo la pubblicazione nel 2012 di un articolo (Heaton et al, 2012; PLOS GENETICS) in cui gli autori riportavano di aver identificato un

polimorfismo nel gene TMEM154 che modulava la **resistenza/suscettibilità degli ovini alle infezioni da Lentivirus**. Questo gene codifica per una **proteina di membrana costituita da 4 porzioni**: un peptide segnale, una porzione extracellulare, una di transmembrana e una citoplasmatica. Il polimorfismo implicato è localizzato nella porzione del gene che codifica la parte extracellulare della proteina e provoca la sostituzione dell'aminoacido glutammato (E) con l'aminoacido lisina (K). L'ipotesi più accreditata è che la porzione extracellulare della proteina che presenta la lisina possa interagire con il virus impedendogli l'ingresso nelle cellule del sistema immunitario. Lo studio ha inoltre evidenziato che la resistenza si manifesta solo in capi omozigoti KK mentre gli eterozigoti EK e gli omozigoti EE sono suscettibili alla patologia.

Studio della variabilità del gene TMEM154 nella razza Sarda e messa a punto di una tecnica analitica low-cost

In una prima fase AGRIS ha sequenziato la porzione del gene interessata dal polimorfismo di 103 arieti con un notevole impatto sulla popolazione del Libro Genealogico con l'obiettivo di verificare la **variabilità genetica nella regione**, e in particolare, del polimorfismo in posizione 35. La variante K è stata evidenziata solo in 5 arieti e sempre allo stato eterozigote, lasciando intravedere che la variante resistente nella razza Sarda è probabilmente rara. In effetti, la frequenza allelica nella razza sulla base di questo campione è risultata $5/206 \times 100 = 2,4\%$. Sulla base degli esiti delle sequenze è stata sviluppata una **sonda Taqman** per l'identificazione del polimorfismo E/K in posizione 35 che ha consentito di utilizzare una tecnica analitica high-throughput relativamente poco costosa.

Studio di associazione del polimorfismo E/K con la Maedi Visna nella razza Sarda

Con l'obiettivo di verificare che il meccanismo di resistenza alla Maedi Visna individuato da altri autori in altre razze sussistesse anche nella razza Sarda, nella primavera del 2016, 860 pecore del "gregge genomico" dell'azienda AGRIS di Monastir sono state sottoposte a analisi sierologiche per verificare l'infezione da Visna Maedi. Fortunatamente, per la riuscita dell'esperimento, la prevalenza all'interno del gregge genomico è risultata piuttosto elevata (83%) con una marcata **tendenza a crescere con l'età degli animali**: 50% nelle primipare e più del 95% nelle pecore adulte. Non essendo ancora disponibile l'analisi Taqman, il genotipo al locus K/E è stato ricostruito attraverso la tecnica dell'*imputation*, partendo da sequenze disponibili di animali collegati, per 639 delle 860 pecore con analisi sierologica. Anche in questo campione si è confermata la bassa frequenza dell'allele resistente K (6,3%) ma con la presenza di due femmine adulte di genotipo omozigote KK. Per quanto riguarda lo studio di associazione con le analisi sierologiche, le pecore omozigoti sensibili EE e eterozigoti EK hanno mostrato prevalenze superiori al 90% mentre le 2 pecore KK, sebbene di età superiore ai 7 anni, sono risultate sierologicamente negative e dunque non infette dal virus Maedi Visna. Questo risultato, sebbene non statisticamente significativo, andava nella direzione della **presenza del**

meccanismo di resistenza anche nella razza Sarda. Su queste basi, a partire dalla campagna di riproduzione del 2016, le pecore eterozigoti EK e KK sono state incrociate con arieti dapprima EK e poi KK, con l'obiettivo di incrementare la frequenza dell'allele K e dei genotipi KK nel gregge genomico. Contestualmente, tutte le pecore e i maschi del gregge venivano sottoposti periodicamente a analisi sierologica per l'infezione da Maedi Visna e genotipate con la tecnica Taqman. A giugno 2019 erano state analizzate 1557 pecore, di cui 1334 EE, 193 EK e 30 KK. Le prevalenze della Visna Maedi sono superiori al 90% nei genotipi EE e EK mentre le 30 pecore KK sono tutte sierologicamente negative. Le 2 pecore KK identificate nel 2016, pur avendo attualmente un'età superiore ai 9 anni, sono ancora sierologicamente negative. L'insieme di questi risultati consente di concludere che **il genotipo KK conferisce resistenza alla patologia** anche se non si può escludere, data la numerosità del campione utilizzato, che una porzione seppur piccola degli animali KK possa, magari in età avanzata, contrarre la patologia. Dagli accoppiamenti programmati sono evidentemente nati anche dei maschi KK. Un campione di questi (circa 25) sono stati trasferiti al Centro Arieti di Bonassai nella disponibilità di ASSONAPA per un loro utilizzo nel Libro Genealogico sia in fecondazione artificiale che in monta naturale.

Prospettive per l'introduzione della resistenza alla Maedi Visna nello schema di selezione della pecora di razza Sarda

Gli studi realizzati consentono di trarre le seguenti **conclusioni**:

- La resistenza alla Visna Maedi nella pecora di Razza Sarda è modulata dal polimorfismo E35K nel gene TMEM154;
- Esistono dunque 2 alleli, uno resistente che d'ora in poi chiameremo R, l'altro sensibile che d'ora in poi chiameremo S. Dei 3 genotipi possibili, RS e SS sono suscettibili mentre solo il genotipo RR conferisce la resistenza. Questo elemento costituisce una prima differenza con l'analogo meccanismo diallelico che modula la resistenza alla Scrapie, dove però il genotipo eterozigote RS è resistente invece che suscettibile. Evidentemente questo rende l'applicazione della selezione per la resistenza alla Visna Maedi potenzialmente meno efficace nell'aumentare la frequenza degli animali resistenti nel passaggio da una generazione alla successiva.
- La variante R è molto rara nella razza. Questo elemento costituisce un'altra differenza rispetto alla selezione per la resistenza alla Scrapie dove la frequenza iniziale dell'allele R era circa 40%. Dal punto di vista operativo, la bassa frequenza della forma resistente rende la selezione potenzialmente meno efficace e più costosa di quella per la Scrapie anche in relazione alla perdita di pressione selettiva per i caratteri produttivi.
- E' disponibile un nucleo di arieti RR, in grado di favorire gli allevatori che volessero iniziare a introdurre e replicare nei loro allevamenti la variante genetica resistente.

Nel convegno che si è tenuto a Macomer nello scorso febbraio, questi elementi sono stati portati alla discussione di operatori e allevatori per una prima valutazione

dell'**opportunità di avviare un programma genetico di incremento della resistenza nella razza**. Durante la discussione, molto animata, è emersa con chiarezza la scarsa conoscenza della patologia da parte degli allevatori anche probabilmente per la sua natura cronica e paucisintomatica. La maggioranza degli allevatori hanno tuttavia espresso la volontà di avviare una attività di selezione e conoscenza delle frequenze alleliche della razza.

Sulla base degli esiti dell'incontro, gli autori del presente studio porteranno a breve all'attenzione delle autorità nazionali e regionali, nonché delle **Associazioni Allevatori** e dell'**Ente Selezionatore ASSONAPA**, un programma di attività per i prossimi 5 anni con i seguenti obiettivi:

- **Incremento della frequenza dell'allele resistente nel Libro Genealogico almeno sino 10%** per evitare il rischio di scomparsa per deriva genetica dell'allele favorevole, controllando nel contempo la consanguineità;
- **Incrementare la significatività del campione utilizzato fino ad ora**, identificando un gruppo di allevamenti con alte prevalenze di Visna Maedi nei quali introdurre e/o produrre animali resistenti e verificare l'associazione con le analisi sierologiche.
- **Produrre arieti resistenti** per gli allevamenti che fossero interessati da sintomatologie cliniche importanti o per gli allevamenti misti ovini e caprini.

Relativamente all'**aumento delle frequenze nella razza**, verrà proposto agli allevatori interessati di incrociare le loro linee di sangue migliori con gli arieti resistenti del Centro al fine di produrre pecore e arieti di alto valore genetico per i caratteri produttivi ma che presentino al contempo la caratteristica della resistenza.

Per quanto attiene le altre razze ovine italiane, si ritiene fondamentale lo studio delle frequenze alleliche e quando possibile la verifica delle associazioni riscontrate nella razza Sarda in allevamenti pilota con alte prevalenze di Visna Maedi. Per lo studio delle frequenze alleliche possono facilmente utilizzarsi i campioni biologici che attualmente pervengono ai laboratori autorizzati per la genotipizzazione nell'ambito del Piano Nazionale di Eradicazione della Scrapie.

Hanno collaborato allo studio:

Ciriaco Ligios, Giantonella Puggioni, Nicoletta Ponti, Davide Pintus, Elisabetta Coraduzza, Rosario Scivoli – **Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna**

Marco Pittau, Bernardo Chessa – **Dipartimento di Medicina Veterinaria – UNISS**

Antonello Carta, Tiziana Sechi, Patrizia Carta, Graziano Usai, Sara Casu, Sotero Salaris, Sabrina Miari – **AGRIS Sardegna**

Il lavoro è stato finanziato dal Centro Regionale di Programma con il progetto "*Sviluppo di un modello di applicazione di strategie di controllo delle lentivirusi ovine e caprine fondate sulla profilassi diretta, su un corretto management aziendale e sulla selezione genetica*"

nell'ambito della LEGGE REGIONALE 7 AGOSTO 2007, N. 7: "PROMOZIONE DELLA RICERCA SCIENTIFICA E DELL'INNOVAZIONE TECNOLOGICA IN SARDEGNA" e dal Ministero della Salute con la ricerca corrente IZS SA 01/14 RC