



La malattia del
deperimento cronico dei cervidi:
la situazione epidemiologica
e la strategia europea

Giuseppe Ru

S.S. Biostatistica, Epidemiologia e Analisi del Rischio

CEA- IZSPLVA



Mi presento

- lavoro come veterinario epidemiologo presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta (Torino, Italia).
- sono responsabile del Laboratorio di Biostatistica, Epidemiologia e Analisi del rischio
- mi occupo di salute degli animali, sicurezza alimentare e ambiente.
- faccio parte del panel dei rischi biologici dell'EFSA.



Published Date:2016-04-10 11:31:05

Subject: PRO/AH/EDR>

Chronic wasting disease, cervid - Europe: (Norway)

Archive Number:20160410.4149651

CHRONIC WASTING DISEASE, CERVID - EUROPE: (NORWAY)

Date: 4 Apr 2016

Source: Norwegian Veterinary Institute [edited]

<http://www.vetinst.no/eng/Highlights/The-1st-detection-of-Chronic-Wasting-Disease-CWD-in-Europe>

The Norwegian Veterinary Institute has diagnosed chronic wasting disease (CWD) in a **free-ranging reindeer** (_Rangifer tarandus_) from the Nordfjella population in **South-Norway**. CWD is a lethal disease in cervids. The disease is well known in North America; however this is **the 1st detection of CWD in Europe**. Also, this is **the 1st detection of natural infection in reindeer worldwide**.

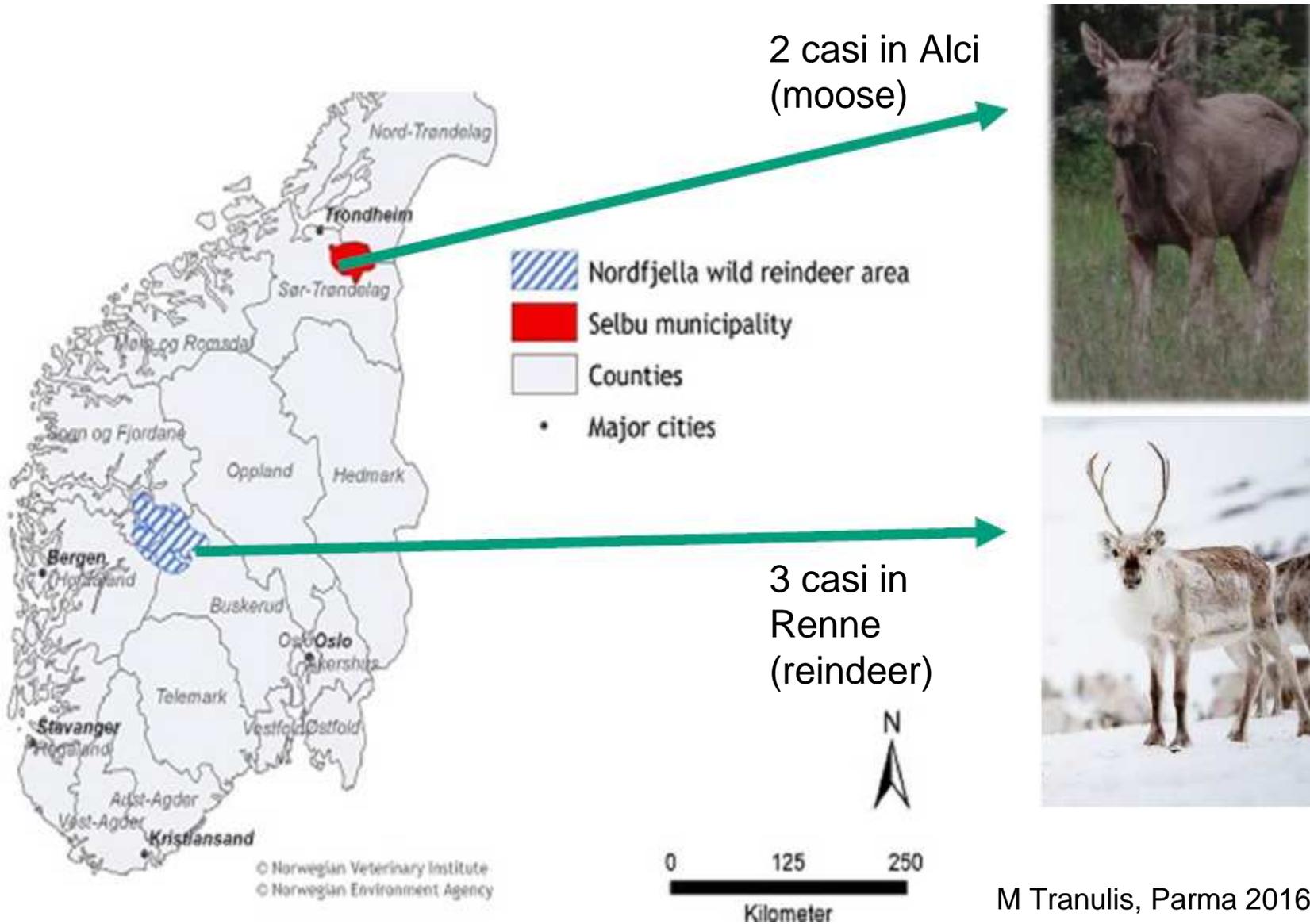
Il commento del moderatore di ProMED

“It was only a matter time before this disease slipped the bounds of cervids in the USA. One does have to wonder how it got into reindeer, but global trade of animals and products can move disease”

La situazione norvegese

- Specie colpite: Renna e Alce
- 5 casi complessivi (3R su 338 test locali + 2A su 492 locali test a fine novembre 2016)
- Casi identificati tra marzo e settembre 2016
- Le caratteristiche patologiche apparentemente diverse (due ceppi?)
- Due cluster distinti per specie e distanti 300km uno dall'altro
- Obiettivi nazionali di sorv: 15.000 cervidi; a oggi eseguiti > 9000 test.

La situazione norvegese



Il primo caso

Marzo 2016: 3-4 anni, Femmina
Morta dopo stress



Photo: Rov Andersen. NINA



Photo: Lars Nesse. Nordfiella vill

I due casi nelle alci

maggio: 13 anni, Femmina, gravida,
abbattuta per segni neurologici



Photo; J. Fuglem

maggio: 14 anni, Femmina, gravida,
trovata morta i un fiume



Photo; Frode Alsethaug

La distribuzione della deposizione della PrP e le sue
caratteristiche molecolari sembrano suggerire un **ceppo**
differente da quelli osservati in Nord america

i due casi più recenti nelle renne



Agosto:

7 anni, Maschio
cacciato

Settembre:

4 anni, Femmina
cacciata



Activities since detection of first case in NO in April 2016

- Situation discussed at several meetings in Brussels
- Cooperation with NO, FI and SE
- Mandate to EFSA on 1/ surveillance, 2/ risk mitigation measures, 3/ public health, 4/ diagnostic tests, 5/update of 2010 EFSA opinion.
- Draft safeguard measure on live cervids scheduled for vote at PAFF Committee of 4-5 Oct 2016 (SANTE/11020/2016).
- COM request that MS report their CWD surveillance data to the EU TSE database already from 2016.

Carrouee, Oct 2016



Activities since detection of first case in NO in April 2016

- Situation discussed at several meetings in Brussels
- Cooperation with NO, FI and SE
- Mandate to EFSA on 1/ surveillance, 2/ risk mitigation measures, 3/ public health, 4/ diagnostic tests, 5/update of 2010 EFSA opinion.

Commission Implementing Decision, the movement of live cervids from Norway into the Union is prohibited from 28 October 2016

- COM request that MS report their CWD surveillance data to the EU TSE database already from 2016.

Carrouee, Oct 2016

Il mandato ad hoc dalla Commissione Europea all'EFSA (Luglio 2016)



Request for a scientific opinion on
Chronic Wasting Disease (CWD)
in cervids

EFSA-Q-2016-00387
EFSA-Q-2016-00411

BIOCONTAM Unit
106th BIOHAZ Plenary
7-8 July 2016

Terms of References (I-III)

Tre quesiti con scadenza al 31 dicembre 2016

- Raccomandazioni sulla sorveglianza (nei Paesi limitrofi)
- Valutazione dei rischi per la salute pubblica
- Misure aggiuntive per evitare introduzione e diffusione in UE



Request for a scientific opinion on
Chronic Wasting Disease (CWD)
in cervids

EFSA-Q-2016-00387
EFSA-Q-2016-00411

BIOCONTAM Unit
106th BIOHAZ Plenary
7-8 July 2016

 **efsa**
European Food Safety Authority

www.efsa.europa.eu

Qualche premessa sui
fondamentali

Che tipo di malattia

- La malattia del deperimento cronico o Chronic Wasting Disease (CWD) è una delle **encefalopatie spongiformi trasmissibili (TSE)**
- Malattie che colpiscono il cervello e il sistema nervoso dell'uomo e degli animali

Le TSE più note

negli animali

- l'encefalopatia spongiforme bovina (BSE) dei bovini (mucca pazza);
- la scrapie di ovini e caprini;
- **la malattia del deperimento cronico dei cervidi (CWD);**
- [...]

nell'uomo

- la malattia di Creutzfeldt-Jakob (CJD);
- la variante della malattia di Creutzfeldt-Jakob (vCJD): salto di specie della BSE (ZONOSI!!)
- Kuru
- [...]

Che tipo di malattia

- La CWD è una delle *encefalopatie spongiformi trasmissibili*
- **Encefalopatia** = genericamente una qualunque malattia dell'encefalo

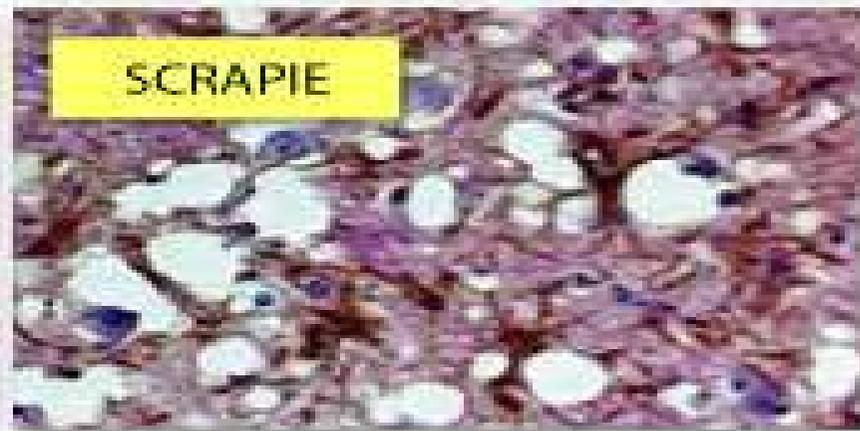
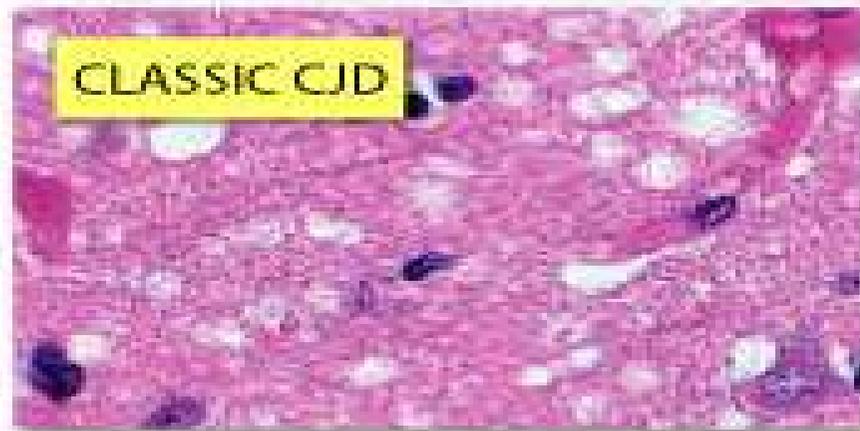
Che tipo di malattia

- La CWD è una delle *encefalopatie spongiformi trasmissibili*
- **Encefalopatia** = genericamente una qualunque malattia dell'encefalo
 - No segni di infiammazione
 - No risposta immunitaria

Che tipo di malattia

- La CWD è una delle encefalopatie spongiformi trasmissibili
- Encefalopatia = genericamente una qualunque malattia dell'encefalo
- **Spongiforme** = quando un organo o un tessuto, in seguito ad alterazione patologica, ha assunto aspetto e consistenza spugnosi

Spongiforme...



Che tipo di malattia

- La CWD è una delle encefalopatie spongiformi trasmissibili
- Encefalopatia = genericamente una qualunque malattia dell'encefalo
- Spongiforme = quando un organo o un tessuto, in seguito ad alterazione patologica, ha assunto aspetto e consistenza spugnosi
- **Trasmissibile** = perché è possibile trasmetterla sperimentalmente da un animale ad un altro (es. inoculaz di SNC)

Malattie da prioni

Prima trasmissione sperimentale nel 1936

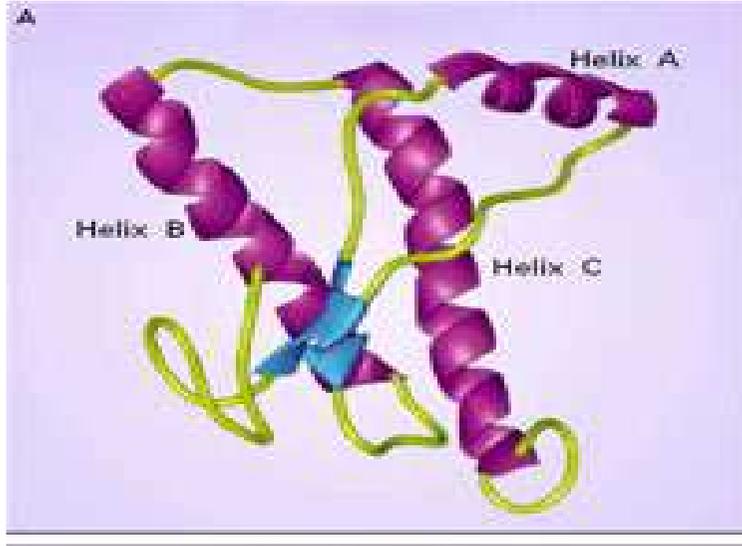
Si scoprì poi che gli agenti, ancora sconosciuti, in grado di provocare le TSE resistevano a tutti i processi che degradano gli acidi nucleici, mentre erano sensibili a quelli che distruggono le proteine

Nel 1982 Stanley Prusiner formulò l'**ipotesi del PRIONE**: cioè che la malattia fosse dovuta all'accumulo di una particella "prionica" infettiva: PRION = "**PRO**teinaceous **IN**fectious particle"

Proteina buona e cattiva

- Nel 1984, da tessuto infetto fu **estratta una proteina prionica (PrP)** in grado di infettare...
- Nell'anno successivo si scoprì che **esisteva un'analogia proteina fisiologica**, normalmente presente negli animali sani
- questa **proteina cellulare normale (PrPc)** è localizzata sulla superficie delle cellule nervose sane e subisce normali processi di turn over

Proteina **buona** e cattiva



Proteina prionica normale (PrP^C):

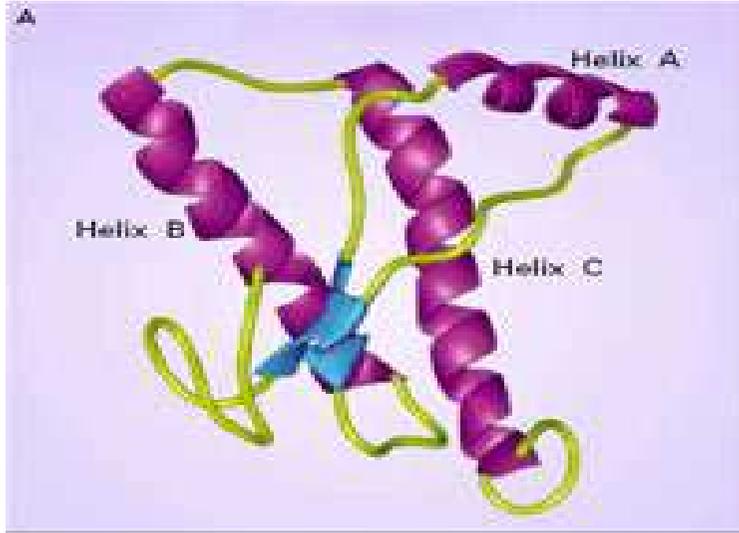
- 256 aminoacidi, 2 siti di glicosilazione
- sensibilità alle proteasi
- struttura ad α elica

Proteina buona e cattiva

Negli animali malati, esiste:

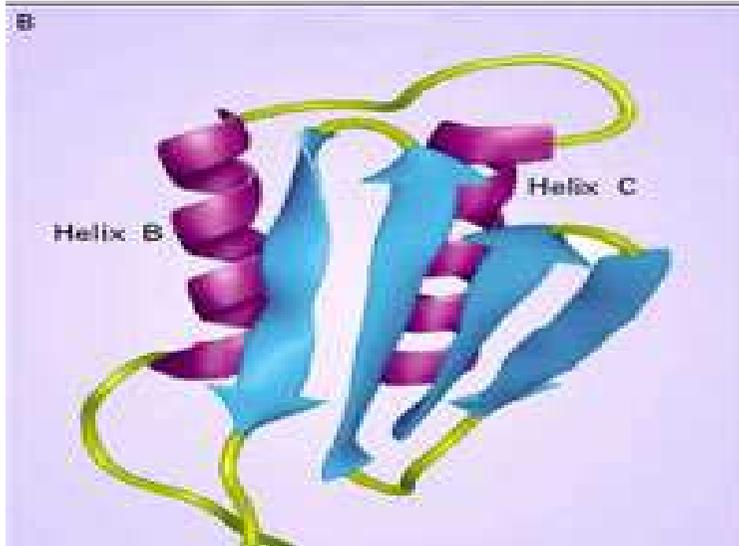
- sia nella sua forma normale (PrPc),
- sia in una forma anormale, patologica detta **PrPsc** (da “scrapie”) o PrPres da “resistente” alla degradazione fisiologica da parte delle proteasi
- In presenza di PrPsc, la PrPc **si trasforma a sua volta in PrPsc e si accumula nel cervello**

Proteina buona e cattiva



Proteina prionica normale (PrP^C):

- 256 aminoacidi, 2 siti di glicosilazione
- sensibilità alle proteasi
- **struttura ad α elica**



Proteina prionica patologica (PrP^{Sc}):

- 256 aminoacidi, 2 siti di glicosilazione
- resistenza alle proteasi
- **struttura a β foglietti**

Proteina buona e cattiva

Negli animali malati, esiste:

- sia nella sua forma normale (PrPc),
- sia in una forma anormale, patologica detta **PrPsc** (da “scrapie”) o PrPres da “resistente” alla degradazione fisiologica da parte delle proteasi
- In presenza di PrPsc, la PrPc **si trasforma a sua volta in PrPsc e si accumula** nel cervello

Un meccanismo a catena

<https://www.youtube.com/watch?v=pqhpVpafjmk>

- I prioni si comportano come “biotossine” in grado di autopropagarsi
- Possono essere immaginate come cristalli infettanti
- La trasmissione può avvenire tra specie differenti (superando la cosiddetta barriera di specie)

Ceppi, trasmissibilità e barriere di specie

- Esiste una certa variabilità nella PrPc tra le specie animali
- Si distinguono “ceppi” di agenti di TSE che dipendono dalla struttura primaria della PrPres
- La probabilità di conversione della PrPc dipende dalla minor o maggior differenza con la PrPres
- “barriera di specie” = naturale incompatibilità tra PrPres e PrPc

Malattie ed Epidemiologia

- M. **sporadiche**, non noti i fattori di rischio: sCJD, L/H-BSE, scrapie atipica
- M. **familiari**, genetiche: FFI
- M. **trasmissibili ma non contagiose** (esposizione alimentare): Kuru, BSE
- M. **contagiose**: scrapie, **CWD**

Quella contagiosa della CWD... una malattia nordamericana

- In US casi notati in cervi in cattività probabilmente fin dalla fine degli anni '60, ma non riconosciuti come TSE
- 1978: prima descrizione come TSE, in siti di ricerca sulla fauna selvatica in Colorado e Wyoming, poi anche in Canada (zoo)
- 1981 primi casi identificati nella fauna selvatica non in cattività
- Origine???
- Solo a partire dagli anni '90 sorveglianza su vasta scala

Lo spettro di specie in NA

- **Mule deer** (*Odocoileus hemionus*) e la sottospecie black-tailed deer (*Odocoileus hemionus columbianus*);
- **White-tailed deer** (*Odocoileus virginianus*);
- Wapiti (*Cervus canadensis*) o il Rocky Mountain elk (*Cervus elaphus nelsoni*);
- Shira's moose (*Alces alces shirasi*).
- Mai identificati casi naturali in renne

Lo spettro di specie in NA

Mule deer

(*Odocoileus hemionus*)



White-tailed deer

(*Odocoileus virginianus*);



Lo spettro di specie in NA

- Mule deer (*Odocoileus hemionus*) la sottospecie black-tailed deer (*Odocoileus hemionus columbianus*);
- White-tailed deer (*Odocoileus virginianus*);
- **Wapiti** (*Cervus canadensis*) o il **Rocky Mountain elk** (*Cervus elaphus nelsoni*);
- **Shira's moose** (*Alces alces shirasi*).
- Mai identificati casi naturali in renne

Lo spettro di specie in NA

Rocky Mountain elk
(*C. elaphus nelsoni*)



Shira's moose
(*Alces alces shirasi*)



Lo spettro di specie in NA

- Mule deer (*Odocoileus hemionus*) la sottospecie black-tailed deer (*Odocoileus hemionus columbianus*);
- White-tailed deer (*Odocoileus virginianus*);
- **Wapiti** (*Cervus canadensis*) o il **Rocky Mountain elk** (*Cervus elaphus nelsoni*);
- **Shira's moose** (*Alces alces shirasi*).
- Mai identificati casi naturali in renne

Experimental Oral Transmission of Chronic Wasting Disease to Reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*)

Gordon B. Mitchell¹, Christina J. Sigurdson^{2,3}, Katherine I. O'Rourke⁴, James Algire¹, Noel P. Harrington¹, Ines Walther¹, Terry R. Spraker⁵, Aru Balachandran^{1*}

1 National and OIE Reference Laboratory for Scrapie and CWD, Canadian Food Inspection Agency, Ottawa Laboratory – Fallowfield, Ottawa, Ontario, Canada, **2** Departments of Pathology and Medicine, University of California, San Diego, La Jolla, California, United States of America, **3** Department of Pathology, Microbiology and Immunology, University of California, Davis, California, United States of America, **4** Animal Disease Research Unit, Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture, Pullman, Washington, United States of America, **5** Veterinary Diagnostic Laboratory, Colorado State University, Fort Collins, Colorado, United States of America

Abstract

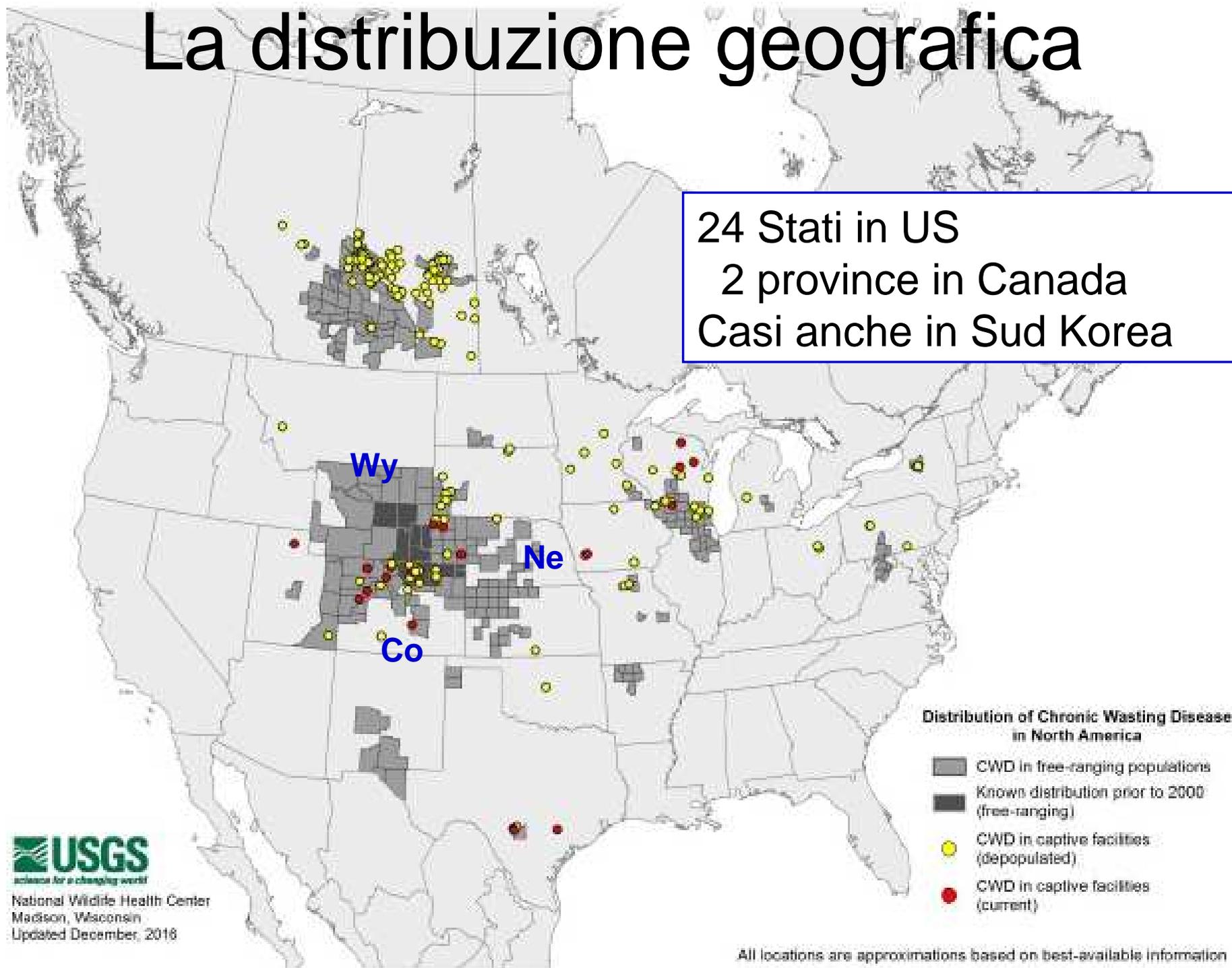
Chronic wasting disease (CWD), a transmissible spongiform encephalopathy of cervids, remains prevalent in North American elk, white-tailed deer and mule deer. A natural case of CWD in reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) has not been reported despite potential habitat overlap with CWD-infected deer or elk herds. This study investigates the experimental transmission of CWD from elk or white-tailed deer to reindeer by the oral route of inoculation. Ante-mortem testing of the three reindeer exposed to CWD from white-tailed deer identified the accumulation of pathological PrP (PrP^{CWD}) in the recto-anal mucosa associated lymphoid tissue (RAMALT) of two reindeer at 13.4 months post-inoculation. Terminal CWD occurred in the two RAMALT-positive reindeer at 18.5 and 20 months post-inoculation while one other reindeer in the white-tailed deer CWD inoculum group and none of the 3 reindeer exposed to elk CWD developed disease. Tissue distribution analysis of PrP^{CWD} in CWD-affected reindeer revealed widespread deposition in central and peripheral nervous systems, lymphoreticular tissues, the gastrointestinal tract, neuroendocrine tissues and cardiac muscle. Analysis of prion protein gene (*PRNP*) sequences in the 6 reindeer identified polymorphisms at residues 2 (V/M), 129 (G/S), 138 (S/N) and 169 (V/M). These findings demonstrate that (i) a sub-population of reindeer are susceptible to CWD by oral inoculation implicating the potential for transmission to other *Rangifer* species, and (ii) certain reindeer *PRNP* polymorphisms may be protective against CWD infection.

Occorrenza e trend

- Wyoming, Colorado, Nebraska area endemica nei cervidi selvatici
- Da Utah a Virginia, da Montana a Texas
- A partire dalla seconda metà dei '90, diffusione accelerata
- Mule deer la specie più colpita
- Tempo di incubazione:
 - 15 mesi in mule deer
 - 12-34 mesi in elk
- Giovani maschi adulti (2 anni) >> femmine

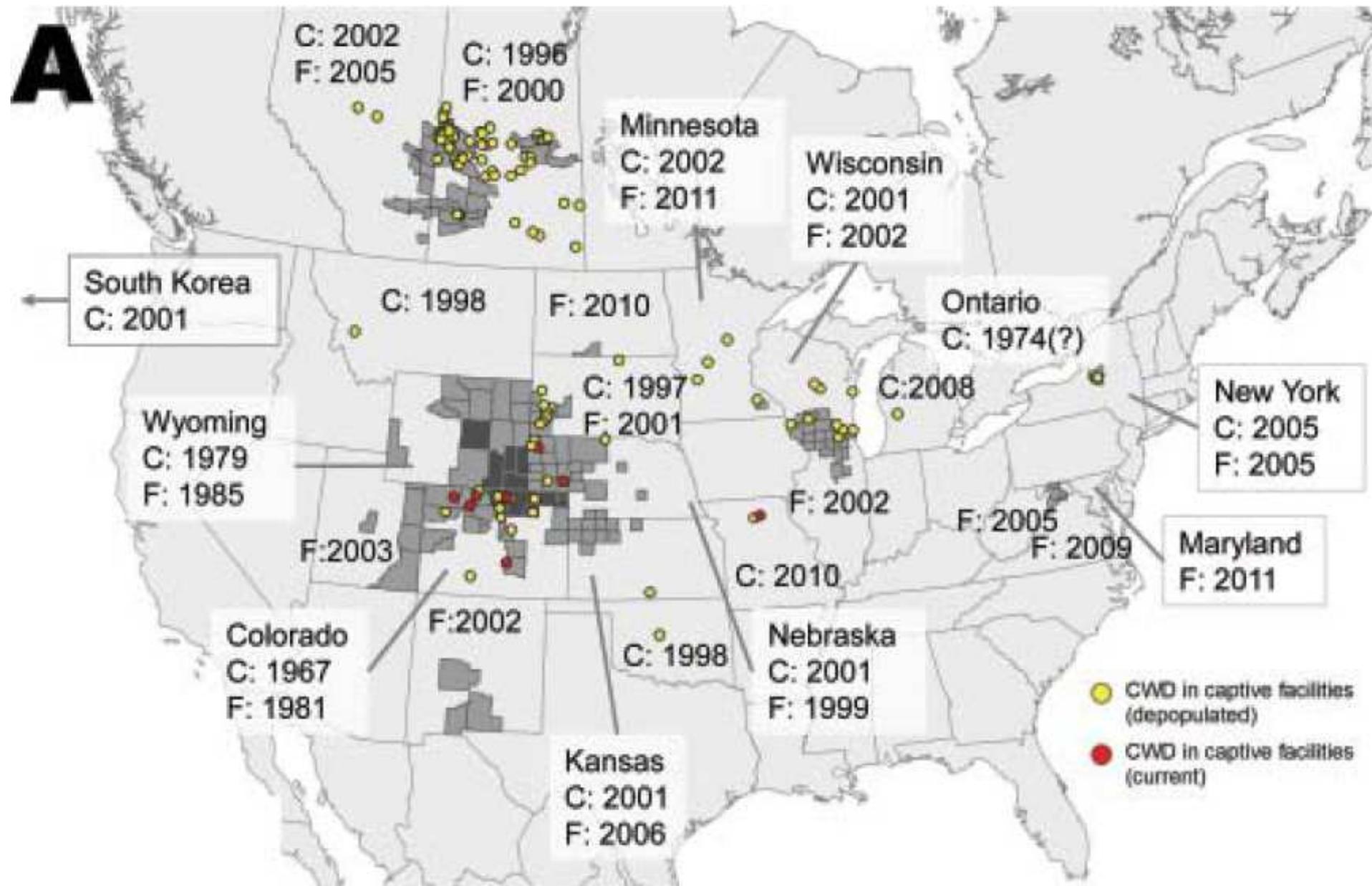
La distribuzione geografica

24 Stati in US
2 province in Canada
Casi anche in Sud Korea

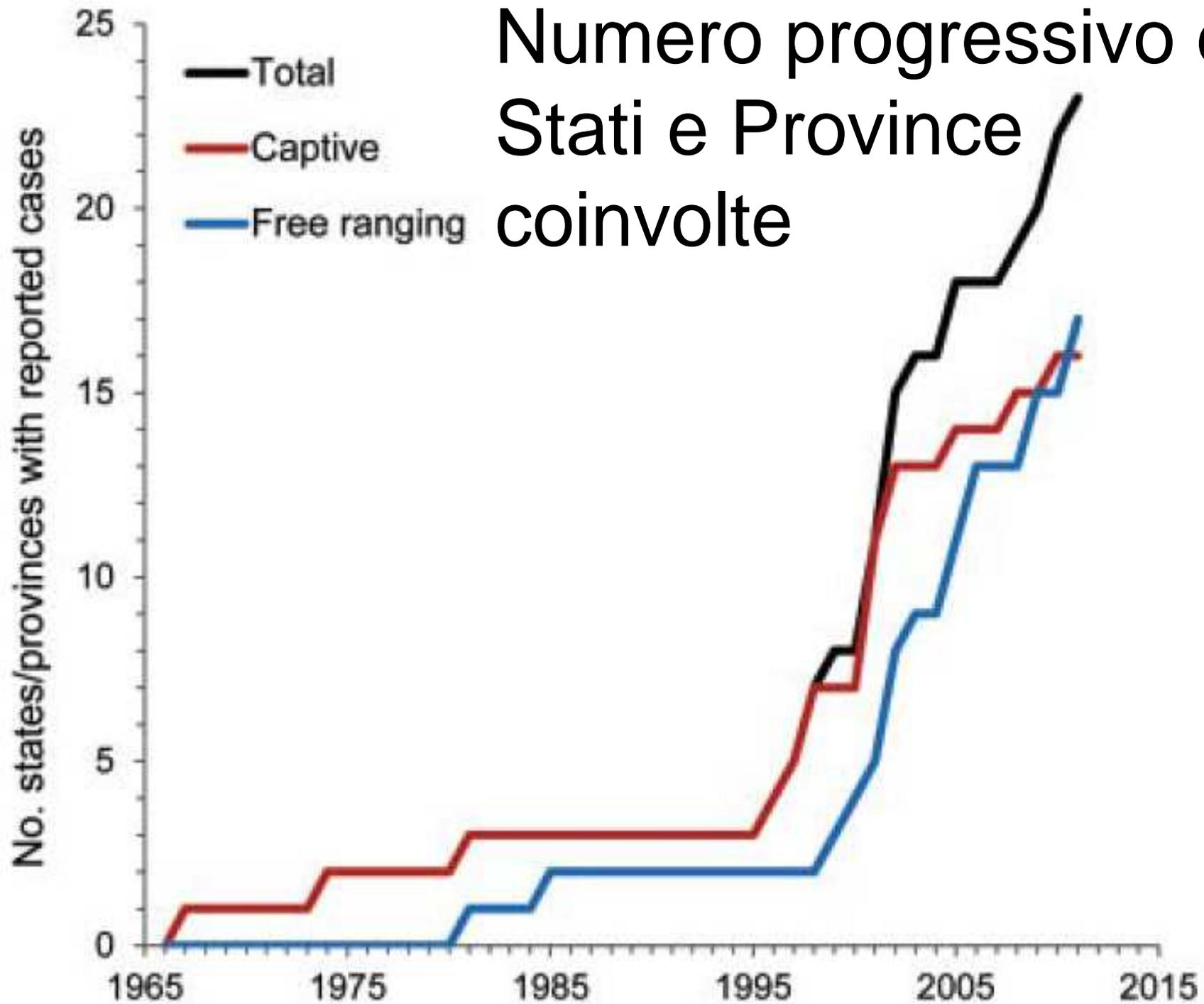


National Wildlife Health Center
Madison, Wisconsin
Updated December, 2018

All locations are approximations based on best-available information



Numero progressivo di Stati e Province coinvolte



Occorrenza e trend

- Wyoming, Colorado, Nebraska area endemica nei cervidi selvatici
- Da Utah a Virginia, da Montana a Texas
- A partire dalla seconda metà dei '90, diffusione accelerata
- Mule deer la specie più colpita
- Tempo di incubazione:
 - 15 mesi in mule deer
 - 12-34 mesi in elk
- Giovani maschi adulti (2 anni) >> femmine

Manifestazioni cliniche

- Perdita di peso fino a emaciazione,



Manifestazioni cliniche

- Perdita di peso fino a emaciazione,
- alterazioni comportamentali (depressione e perdita di paura nei confronti degli esseri umani)
- Atonia ruminale,
- Polidipsia, poliuria, scialorrea
- Incoordinazione
- Animali soccombono facilmente a predatori e incorrono in incidenti stradali
- Morte (spesso in stato cachettico) dopo qualche settimana fino a 4 mesi



Manifestazioni cliniche

- Perdita di peso fino a emaciazione,



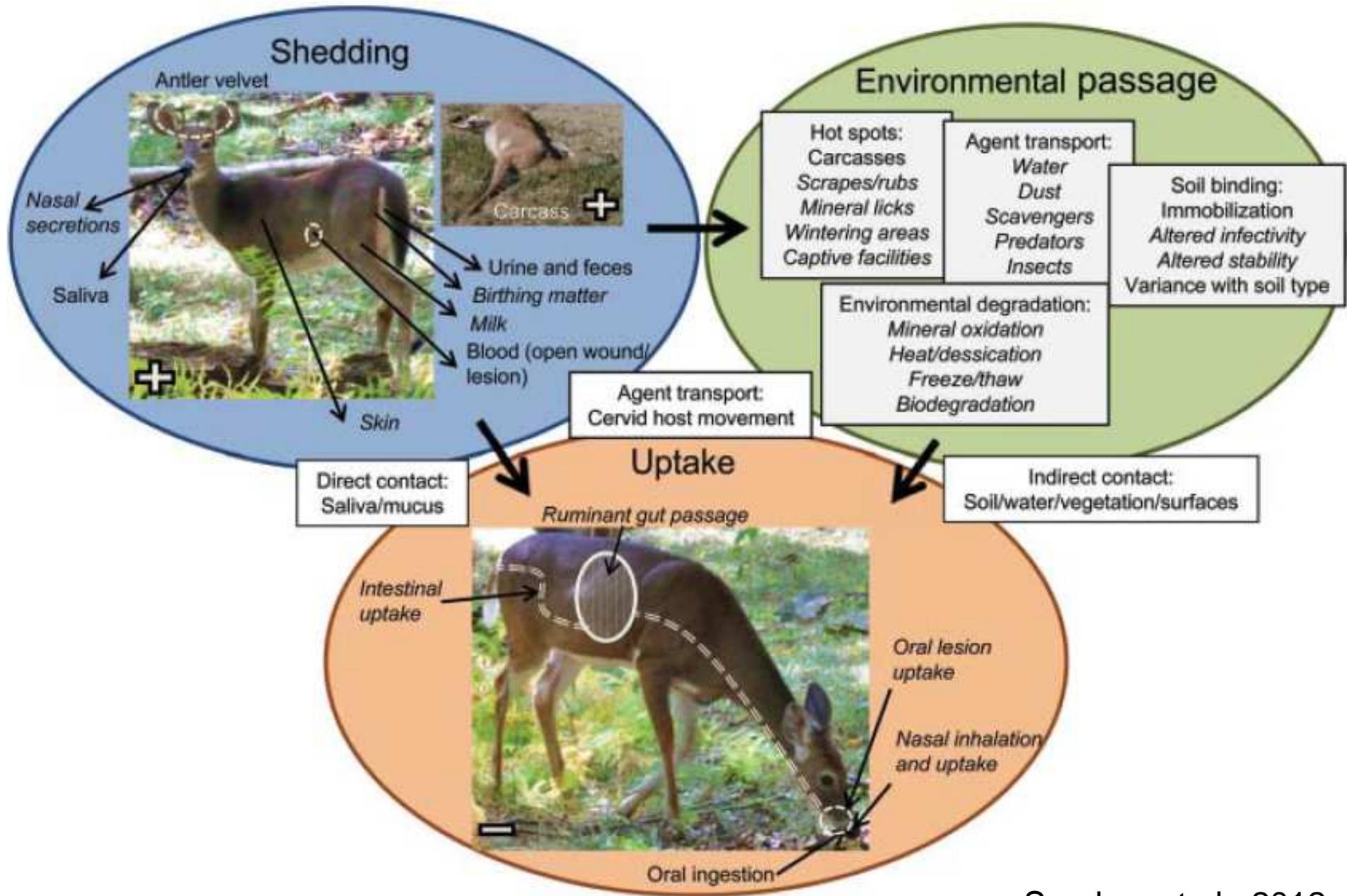
- Animali soccombono facilmente a predatori e incorrono in incidenti stradali
- Morte (spesso in stato cachettico) dopo qualche settimana fino a 4 mesi

Manifestazioni cliniche

- Perdita di peso fino a emaciazione,
- alterazioni comportamentali (depressione e perdita di paura nei confronti degli esseri umani)
- Atonia ruminale,
- Polidipsia, poliuria, scialorrea
- Incoordinazione
- Animali soccombono facilmente a predatori e incorrono in incidenti stradali
- **Morte (spesso in stato cachettico) dopo qualche settimana fino a 4 mesi**

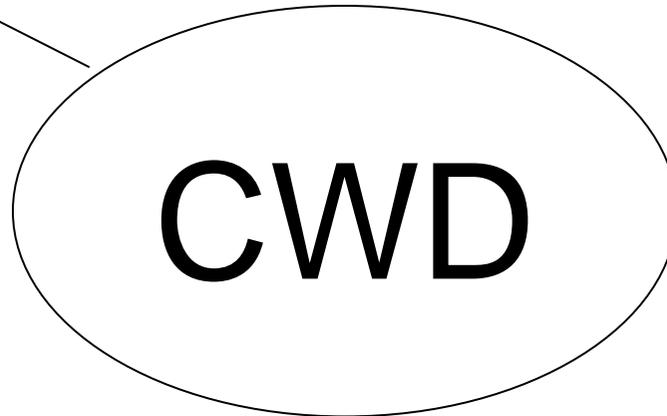
Patogenesi & modalità di trasmissione

- Simile alla scrapie: precoce coinvolgimento del sistema linfatico poi diffusione al SNC
- Infettività in molti organi edibili (es. lingua, cuore, fegato, pancreas, reni)
- Infettività e sua disseminazione attraverso sangue, saliva, urina, feci e anche secrezioni nasali, latte, seme
- Esposizione orale via principale
- Materiale infetto persiste a lungo in ambiente

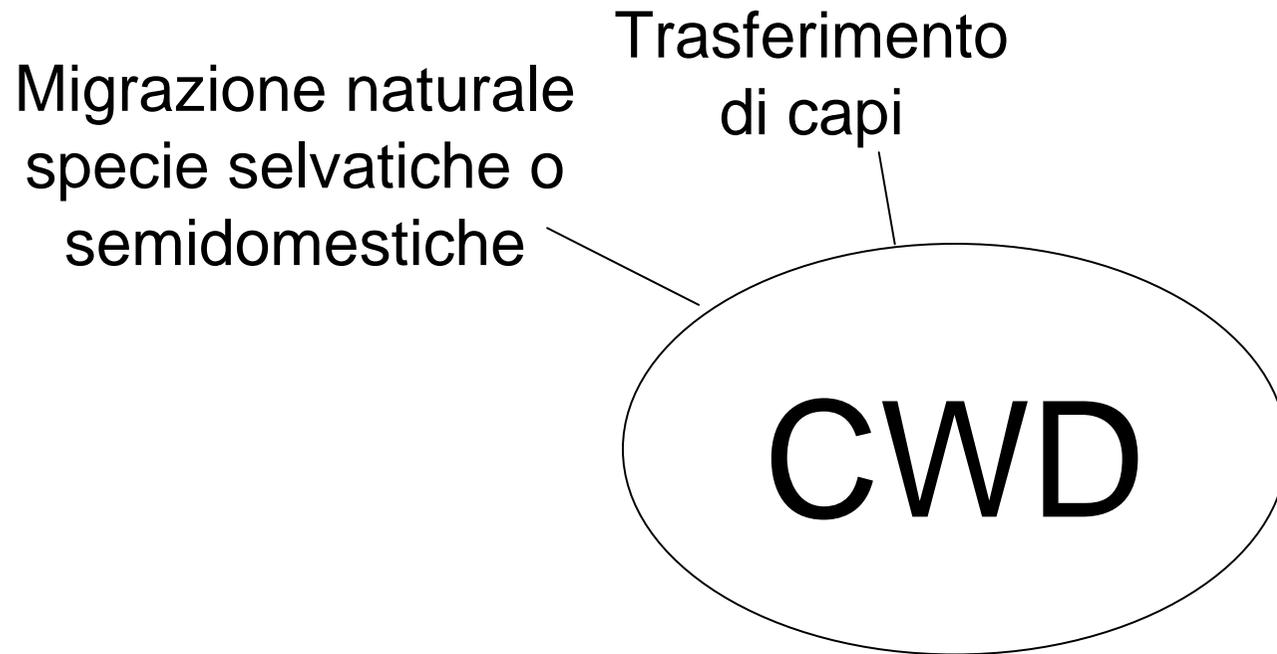


Fattori di rischio

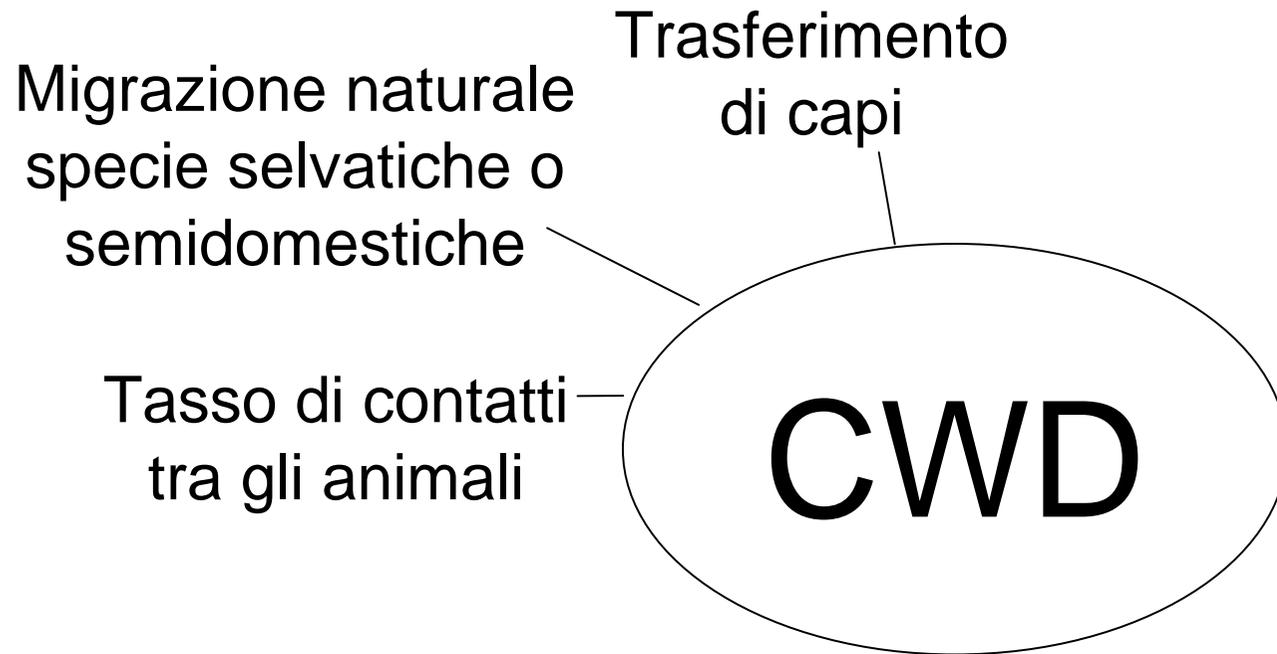
Migrazione naturale
specie selvatiche o
semidomestiche



Fattori di rischio



Fattori di rischio



Fattori di rischio



Fattori di rischio



Fattori di rischio



Fattori di rischio



Fattori di rischio



Fattori di rischio



Conseguenze in termini di occorrenza

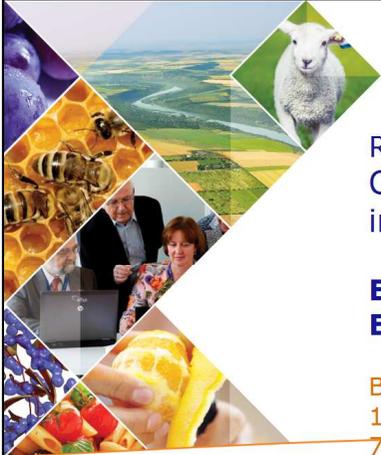
- Malattia sul territorio e all'interno della popolazione non si distribuisce "casualmente" (random)
- Distribuzione in cluster: fuochi e scintille (hot spot and spark model)
- Prevalenza:
 - fino a 100% in cattività
 - spesso <5% nei selvatici e nelle aree colpite tra 1 e 30%

Terms of References (I-III)

Tre quesiti con scadenza al 31 dicembre 2016

- **Raccomandazioni sulla sorveglianza (nei Paesi limitrofi)**
- Valutazione dei rischi per la salute pubblica
- Misure aggiuntive per evitare introduzione e diffusione in UE

L'Opinion è stata adottata dal Panel dei Rischi Biologici il 01/12/16 ed è in corso di pubblicazione



Request for a scientific opinion on
Chronic Wasting Disease (CWD)
in cervids

EFSA-Q-2016-00387
EFSA-Q-2016-00411

BIOCONTAM Unit
106th BIOHAZ Plenary
7-8 July 2016

 **efsa**
European Food Safety Authority

www.efsa.europa.eu

1. La sorveglianza suggerita

- Programma triennale parallelo:
 - (1) Free-ranging/semidomesticated
 - (2) Farmed
- Obiettivi: detection & prevalence estimation
- Campionamento a 2 stadi:
 - Fino a 100 aree geografiche/farms (random) +
 - 30 cervidi tutte le specie (di convenienza)
 - “ad alto rischio”: trovati morti, abbattuti ma non idonei al consumo, predati o incidentati

Terms of References (I-III)

Tre quesiti con scadenza al 31 dicembre 2016

- Raccomandazioni sulla sorveglianza (nei Paesi limitrofi)
- **Valutazione dei rischi per la salute pubblica**
- Misure aggiuntive per evitare introduzione e diffusione in UE



Request for a scientific opinion on
Chronic Wasting Disease (CWD)
in cervids

EFSA-Q-2016-00387
EFSA-Q-2016-00411

BIOCONTAM Unit
106th BIOHAZ Plenary
7-8 July 2016

 **efsa**
European Food Safety Authority

www.efsa.europa.eu

per salute pubblica?

Criteria	Cattle BSE	CWD
1. Strength	+	
2. Consistency	+	
3. Specificity	+	
4. Temporality	+	
5. Biol gradient	+	
6. Plausibility	+	+
7. Coherence	+	
8. Experiment	+	+/-
9. Analogy	+	+

Barriera di specie non assoluta:

- “*Experimentally transmitted to squirrel monkeys*”
- Mancano dati di t. in vivo a macachi e topi umanizzati

Esposizione possibile in aree endemiche: prioni CWD in muscoli e tessuti edibili

Nessuna evidenza epidemiologica: nessuna relazione tra i dati di sCJD e quelli di CWD

Terms of References (I-III)

Tre quesiti con scadenza al 31 dicembre 2016

- Raccomandazioni sulla sorveglianza (nei Paesi limitrofi)
- Valutazione dei rischi per la salute pubblica
- **Misure aggiuntive per evitare introduzione e diffusione in UE**



Request for a scientific opinion on
Chronic Wasting Disease (CWD)
in cervids

EFSA-Q-2016-00387
EFSA-Q-2016-00411

BIOCONTAM Unit
106th BIOHAZ Plenary
7-8 July 2016

 **efsa**
European Food Safety Authority

www.efsa.europa.eu

3. Misure aggiuntive

possibili

Per evitare introduzione e (se diventasse il caso) diffusione in EU

- Revocare “le deroghe” previste al divieto di movimentazione dalla Norvegia
- Gli attrattivi fatti di urine naturali da animali selvatici (ancora acquistabili sul web) rappresentano un rischio
- Raccomandazioni ai cacciatori che viaggiano e potrebbero far da vettori
- Interventi per ridurre la probabilità di contatti tra animali + raccomandazioni



Grazie ai colleghi della mia struttura e del CEA e ai colleghi dello staff EFSA e del gruppo di lavoro che ha lavorato all'Opinion (M. Simmons et al.)

Grazie della pazienza 😊

Giuseppe Ru

*S.S. Biostatistica, Epidemiologia e Analisi del Rischio
CEA- IZSPLVA*