

## COMUNICAZIONE 9

### RISULTATI PRELIMINARI SU ALCUNI ASPETTI PATOGENETICI DELL'INFEZIONE DA CIRCOVIRUS NEI PICCIONI DA CARNE

M.P. FRANCIOSINI<sup>1</sup>, A. LAVAZZA<sup>2</sup>, F. PARILLO<sup>1</sup>, G. TACCONI<sup>1</sup>, G.ASDRUBALI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facoltà di Medicina Veterinaria-Università degli Studi di Perugia

<sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

Parole chiave: piccioni da carne, circovirus, deplezione linfocitaria, immunodepressione

#### Updated supplement to pathogenesis of Circovirus infection in broiler pigeons

Key words; broiler pigeon, circovirus, lymphocytic depletion, immunodepression

Summary: In order to shed light on some aspects of the pathogenesis of circovirus infection in broiler pigeons, bursal and thymic samples were collected for histological, ultrastructural examinations. Virological investigations by negative staining electron microscopy (NS-EM) and hybridisation test were also performed. Histological examinations revealed lymphocytic depletion associated with the presence of nuclear and cytoplasmic inclusions. The CN-EM detected circoviruses-like particles as from one week of age. The early presence of the viral particles in squabs could be justified by diffusion with crop secretions, but the possibility of a vertical transmission is also suggested.

Correspondence: Maria Pia Franciosini- Dipartimento di Scienze Biopatologiche Veterinarie-Sezione di Igiene e Patologia, Facoltà di Medicina Veterinaria, Via S. Costanzo 4, 06100 Perugia. Email: [mpfra@unipg.it](mailto:mpfra@unipg.it)

#### Introduzione

L'atrofia degli organi linfoidei primari correlata a infezione da circovirus è stata segnalata in Italia a partire dal 1997 (1). Tale forma morbosa è spesso subclinica e difficile da diagnosticare; i sintomi, se presenti, sono spesso espressione di infezioni intercorrenti. La lesione istologica principale è costituita da vari gradi di deplezione linfocitaria e presenza di corpi inclusi nel nucleo e nel citoplasma di linfociti e macrofagi. In precedenza i nostri studi hanno riguardato prevalentemente la presenza dell'infezione in piccioni considerati "scarti" sebbene questa sia stata messa in evidenza anche in soggetti apparentemente sani (2,3). Lo scopo del presente lavoro è stato quello di individuare il momento di comparsa dell'infezione, al fine di definirne alcuni aspetti patogenetici, in particolare quelli riguardanti le modalità di trasmissione del virus.

#### Materiali e metodi

Le indagini sono state condotte in un allevamento di piccioni da carne del Centro Italia.

Sono stati prelevati 5 piccioni, apparentemente sani, a partire da una settimana di età fino alla quarta settimana per un totale di 20 soggetti. Sono stati, inoltre, esaminati 10 piccioni considerati scarti, di età compresa tra la prima e la quarta settimana. Previa eutanasia da ogni soggetto sono stati prelevati campioni di timo e borsa di Fabrizio per esecuzione di esami istologici e ultrastrutturali su sezioni fini. Sono state inoltre eseguite indagini virologiche mediante esame al M.E in colorazione negativa (CN-ME) e test di ibridazione in situ (6).

#### Risultati

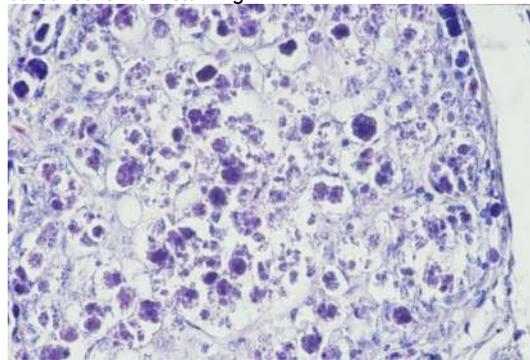
I risultati degli esami anatomopatologici, istologici e di CN-ME sono riassunti in Tabella 1. L'alterazione più significativa è costituita dal riscontro istologico della deplezione linfocitaria associata alla presenza dei tipici inclusi nucleari e citoplasmatici. (Figure 1 e 2).

L'osservazione con CN-ME ha permesso il reperto di particelle, prive di envelope, di dimensioni comprese tra i 13-18nm. a partire dalla prima settimana di età. La valutazione semiquantitativa di positività indicava, in due soggetti rispettivamente di 20 e 29 gg di età, una discreta presenza di virioni (3+ in una scala da +/- a 5+ pari a circa 10<sup>5</sup> particelle/ml). Il test di ibridazione

in situ ha rivelato la presenza del virus solo su 2 campioni provenienti da borse di soggetti di 4 settimane di età, in analogia alle indagini ultrastrutturali condotte su sezioni fini (Figura 3). Queste ultime hanno messo in evidenza, in alcuni casi, sia su elementi bursali che timici, vacuolizzazione citoplasmatica e rigonfiamento mitocondriale con scomparsa delle creste (Fig.4).

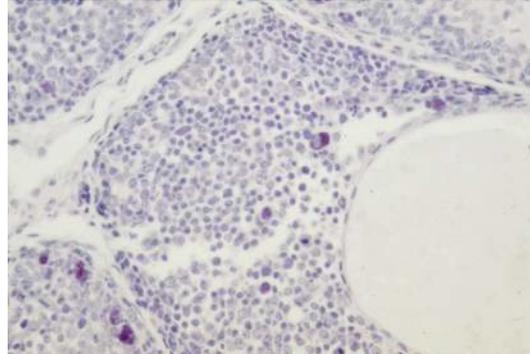
**Figura 1:** Borsa di Fabrizio. Microscopia ottica. Deplezione linfocitaria del follicolo e presenza di corpi inclusi nucleari nelle cellule bursali. Colorazione ematossilina-eosina

**Figure 1:** Bursa of Fabricius. Light microscopy. Lymphocytic depletion and eosinophil inclusion bodies in the nucleus of bursal cells H&E staining



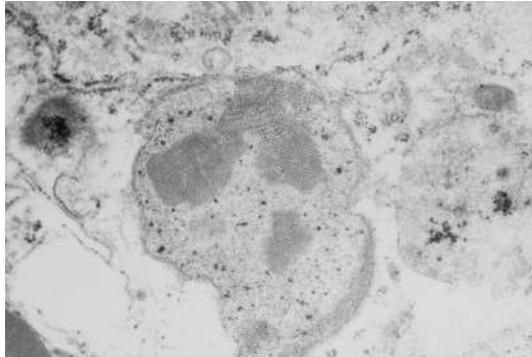
**Figura 2:** Borsa di Fabrizio. Microscopia ottica. Presenza di corpi inclusi citoplasmatici nelle cellule bursali. Colorazione ematossilina -eosina

**Figure 2:** Bursa of Fabricius. Light microscopy. Basophilic cytoplasmic inclusion bodies in bursal cells. H&E staining.



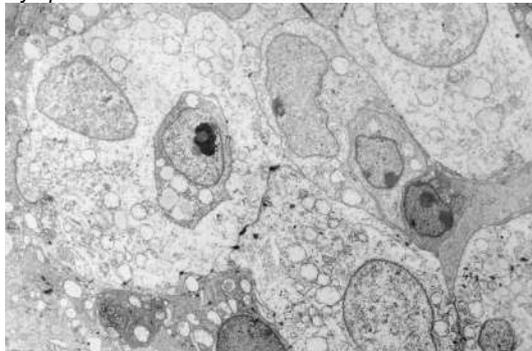
**Figura 3:** Borsa di Fabrizio. Microscopia elettronica. Aggregati paracrystallini di particelle virali nel nucleo di una cellula bursale.

**Figure 3:** Bursa of Fabricius. Electron Microscopy. Viral particles in paracrystalline arrays in the nucleus of bursal cell



**Figura 4:** Borsa di Fabrizio. Microscopia elettronica. Vacuolizzazione citoplasmatica delle cellule bursali.

**Figure 4:** Bursa of Fabricius. Electron Microscopy. Cytoplasmic vacuolisation of bursal cells



### Discussione

I risultati ottenuti ci consentono di trarre alcune considerazioni preliminari. In primo luogo, a nostro giudizio, va sottolineato il riscontro del virus, tramite M.E. a colorazione negativa a partire dalla prima settimana di vita e la positività dei campioni che aumenta con l'età, a testimoniare una possibile trasmissione del virus per via orizzontale, diretta o tramite il latte del gozzo. Non va comunque trascurata l'evenienza di una diffusione per via verticale, ipotizzata da alcuni studiosi (4); nella nostra ricerca

**Tabella 1:** Alterazioni macroscopiche e microscopiche riscontrate in soggetti apparentemente normali e scarti e n° di campioni riconosciuti positivi al M.E in colorazione negativa (tra parentesi la valutazione semiquantitativa di positività)

**Table 1:** Macroscopic and microscopic changes in healthy and culled pigeons and number of positive samples (in brackets a semiquantitative evaluation of positivity)

Età in settimane	Lesioni macroscopiche	Lesioni microscopiche	C.N. - M.E.**
1 settimana	Nessuna lesione	Nessuna lesione	1/5 (1+)
2 settimana	Nessuna lesione	Nessuna lesione	1/5 (2+)
3 settimana	1/5 atrofia borsa 2/5 atrofia timo	3/5 deplezione linfocitaria (timo e borsa)	4/5 (+/-, 1+, 2+, 3+)
4 settimane	5/5 atrofia borsa 3/5 atrofia timo	5/5 deplezione linfocitaria borsa 3/5 deplezione linfocitaria timo	5/5 (+/-, 2+, 2+,2+, 3+)
Soggetti scarti	10/10 atrofia della borsa e del timo	10/10 deplezione linfocitaria borsa e timo	1/10 (2+)

\*\*campioni costituiti da pool di timo e borsa di Fabrizio

sono state messe in evidenza particelle virali fin dalla prima settimana di vita. Non sempre sono state osservate nelle cellule della borsa di Fabrizio e del timo inclusioni citoplasmatiche e nucleari, sebbene si sia riscontrata deplezione linfocitaria; ciò in accordo con quanto descritto da Paré et al. (4) che hanno riportato la mancanza di qualsiasi tipo di inclusi in soggetti al di sotto delle 4 settimane di età. Va sottolineato, comunque, che la presenza del circovirus non può essere esclusa in assenza di corpi inclusi (6) i quali, peraltro, potrebbero rappresentare un momento transitorio del ciclo replicativo di un virus.

Ulteriori ricerche dovrebbero essere indirizzate alla standardizzazione di tecniche volte a identificare i circovirus, dal momento che i mezzi a disposizione per la loro individuazione sono assai limitati. Metodiche basate sull'applicazione della PCR eseguita con primers degenerati possono rappresentare sicuramente una buona soluzione (5,6), ma al momento necessitano di ulteriori conferme.

### Ringraziamenti

Si ringraziano la dott.ssa Joan Smyth e Daniel Todd del Veterinary Science Division - Department of Agriculture and Rural Development for Northern Ireland di Stormont, Belfast per l'esecuzione degli esami di ibridazione in situ.

### Bibliografia

- Asdrubali G., Franciosini M.P., Coletti M. & Mughetti L. (1997). Osservazioni su casi di atrofia del timo in piccioni da carne. La Selezione veterinaria. 8-9, pp.665-670
- Coletti M., Franciosini M.P., Asdrubali G. & Passamonti F. (2000) Atrophy of the primary lymphoid organs of meat pigeons in Italy associated with circovirus-like particles in the bursa of Fabricius. Avian Diseases 44, pp. 454-459
- Franciosini M.P., Coletti M., Asdrubali G., Passamonti F. & Rossodivita M.E. e Capua I. (1998). Su una particolare forma di atrofia degli organi linfoidi ed ematologiche. La Selezione veterinaria 8-9, pp. 697-706
- Paré J.A., Brash M.L., Hunter B. & Hampson R.J. (1999) Observations on pigeon circovirus infection in Ontario. Canadian Veterinary Journal, 40, pp.659-662
- Todd D. (2000). Circoviruses: immunosuppressive threats to avian species: a review. Avian Pathology, 29, pp. 373-394
- Todd D., Weston J.H., Soike D. & Smyth J.A. (2001a). Genome sequence determination and analyses of novel circoviruses from goose and pigeon. Virology, 286, pp.354-36