

COMUNICAZIONE 22

INFEZIONE DA PNEUMOVIRUS AVIARE NEL TACCHINO DA CARNE E NEL BROILER: INDAGINI DI CAMPO

E. CATELLI¹, M. CECCHINATO¹, M. DELOGU¹, P. DE MATTEO¹,
M.A. DE MARCO², G. ORTALI³, P. PESENTE³, L. SARTI¹, C. FRANCIOSI¹

¹Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale - Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Bologna - Ozzano Emilia (BO) - Italia; ²Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica - Ozzano Emilia (BO) - Italia; ³Azienda Agricola Tre Valli - Verona - Italia

Parole chiave: Rinotracheite del tacchino, TRT, Pneumovirus aviare, Tacchino da carne, Broiler

Avian pneumovirus infection in turkey and broiler farms in Italy: field survey

Key words: Turkey rhinotracheitis, TRT, Avian Pneumovirus, Meat turkey, Broiler

Summary: A Survey on Avian Pneumovirus (APV) infection in Italy is reported. Nine turkey meat farms and 6 broiler farms, sited in Verona Province, were sampled for virus isolation on tracheal organ cultures and ELISA serological assay. APV infection was found to be widely spread in the area sampled. APV was isolated in 19 day old turkeys, and in 34, 42 and 48 day old broilers. All turkeys of more than 4 weeks old were APV positive to ELISA. The protocol for APV isolation was shown to be effective. Further developments are discussed.

Correspondence: Elena Catelli - Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale - Facoltà di Medicina Veterinaria - Via Tolara di Sopra 50 - 40064 Ozzano Emilia (BO). Email catelli@vet.unibo.it

Introduzione

L'isolamento in Italia di Pneumovirus aviari (APV), agenti responsabili della Rinotracheite del Tacchino (TRT) e coinvolti nella eziologia della Sindrome della Testa Gonfia del Pollo (SHS), risale alla fine degli anni '80 (4; Franciosi C., comunicazione personale). Da allora sia la TRT sia la SHS sono state evidenziate sierologicamente (5,8) e positività anticorpali sono state riscontrate anche in fagiani allevati e a vita libera (2). Dal 1990 non sono stati descritti in Italia ulteriori isolamenti virali in nessuna delle specie sensibili. Non poche, infatti, sono le difficoltà che si incontrano nell'isolamento quali il breve periodo di eliminazione virale e, nel pollo, la non coincidenza dello stesso con la comparsa della sintomatologia clinica. La presenza di altri virus respiratori è inoltre in grado di interferire con la replicazione virale su colture di anelli tracheali. Carenti sono quindi le informazioni sui ceppi di APV circolanti nel nostro Paese, se si escludono le tipizzazioni molecolari eseguite sui primi isolati italiani, che sono risultati appartenere al sottotipo B (7; Sperati Ruffoni L., comunicazione personale). Il presente lavoro riporta indagini di campo svolte nel tacchino e nel pollo da carne allo scopo di evidenziare la presenza dell'infezione da APV mediante isolamento virale ed indagini sierologiche.

Materiali e Metodi

Campionamento. Sono stati campionati 9 allevamenti di tacchini da carne, e 6 di polli da carne, scelti in base all'età, appartenenti tutti ad una azienda avicola del nord Italia, e localizzati quasi esclusivamente in provincia di Verona; la azienda denunciava frequenti focolai di TRT. Ogni allevamento è stato di norma campionato una sola volta. Le età dei gruppi di tacchini sono state scelte in modo da coprire l'arco di tempo in cui più frequentemente la TRT compare nel ciclo di produzione. Nella scelta delle età dei gruppi di broiler è stato coperto tutto il ciclo di produzione. Sia i gruppi di tacchini sia quelli di polli provenivano da allevamenti di riproduttori vaccinati per TRT.

Considerando che l'infezione ha morbilità che facilmente raggiunge il 100% e quindi prevalenze attese superiori al 25 %, e che la popolazione di ciascun gruppo era > di 3500 soggetti, 16

campioni/gruppo erano più che sufficienti per evidenziare l'infezione con un livello di confidenza del 99% (1). Da ciascun animale è stato raccolto un tampone rinofaringeo, destinato all'isolamento virale, ed un campione di sangue per esami sierologici. In presenza di sintomatologia respiratoria sono stati scelti i soggetti con forma clinica iniziale. I tamponi sono stati processati in 2 pool da 8 per avere una maggior concentrazione virale nell'inoculo ed aumentare la possibilità di isolamento, immediatamente immersi in terreno di trasporto e tenuti a temperatura di ghiaccio fondente sino al momento della inoculazione che era eseguita di norma immediatamente all'arrivo in laboratorio. Quattro allevamenti di polli da carne (M, O, P e Q) sono stati sottoposti ad un secondo prelievo di sangue a distanza di circa 15 gg dal primo.

Isolamento virale. L'isolamento virale è stato eseguito su colture di anelli tracheali di embrione di pollo (TOC), preparate a partire da embrioni di pollo SPF al 18-20° giorno di incubazione (3). Le colture erano ritenute positive se si osservava ciliostasi entro 10 giorni dalla inoculazione e la conferma dell'isolamento era ottenuta mediante immunofluorescenza indiretta (IFI) (6) su sezioni criostatiche delle colture positive (Figura 1). A 4 giorni dall'inoculazione il terreno di 5 delle 10 TOC inoculate per campione veniva raccolto per i passaggi successivi. Il campione era ritenuto negativo dopo 3 passaggi ciechi su TOC. I campioni prelevati dagli allevamenti di broiler, prima della inoculazione, erano sottoposti a sieroneutralizzazione per i sierotipi di Bronchite Infettiva (BI) 624/I, 793/B ed M41, maggiormente diffusi nell'area campionata, allo scopo di neutralizzare i coronavirus della BI eventualmente presenti, e poi processati come descritto precedentemente. Tali coronavirus hanno attività ciliostatica su TOC e sono in grado di inibire la replicazione di APV.

Sierologia. Per gli esami sierologici è stato utilizzato un kit ELISA del commercio di tipo "blocking" (Svanovir® Avian Pneumovirus-Ab EIA Test Kit).

Risultati

I risultati dell'indagine nel tacchino da carne sono riportati in Tabella 1. È stato isolato APV solo in un

allevamento, in soggetti di 19 giorni, con forma respiratoria riferibile a TRT in atto. In nessuna altra occasione è stato isolato APV, tuttavia nei soggetti di età maggiore di 4 settimane è stata osservata positività all'ELISA con percentuali del 100%; tali allevamenti avevano mostrato in passato sintomatologia respiratoria. Nel pollo da carne (Tabella 2) APV è stato isolato in 3 gruppi con età di 34, 42 e 48 giorni. Al momento del prelievo i soggetti risultavano tutti sieronegativi. Gli allevamenti positivi all'isolamento hanno mostrato sierconversione dopo 15 giorni. In questo arco di tempo, sono state osservate forme respiratorie lievi o medie con comparsa, in alcuni soggetti, di sindrome della testa gonfia.

Discussione

La nostra indagine ha portato all'isolamento di APV sia nel tacchino sia nel pollo da carne ed alla evidenza sierologica di una elevata diffusione dell'infezione virale nella seppur limitata zona campionata. La tecnica di isolamento su colture di anelli tracheali di embrione di pollo è risultata efficace. A causa delle difficoltà precedentemente descritte, scarse sono in letteratura le segnalazioni di isolamenti virali nel pollo. A conferma di ciò i nostri risultati evidenziano come sia possibile isolare il virus solo quando la sintomatologia è appena iniziata o ancora assente. Inoltre il successo dell'isolamento è, a nostro parere, da attribuirsi anche alle modalità di gestione dei campioni. Riteniamo critici la concentrazione di più tamponi in volumi ridotti, la rapida refrigerazione, il mantenimento a temperatura di ghiaccio fondente, l'immediata inoculazione in colture d'organo o la conservazione a -80 °C. Le piene positività sierologiche osservate in tutti gli allevamenti di tacchini con età superiore alle 4 settimane confermano l'ampia diffusione dell'infezione nell'azienda considerata. Interessante sarà poter ampliare l'indagine ad altre regioni italiane ed agli allevamenti di riproduttori allo scopo di avere un quadro più completo della situazione epidemiologica italiana. La tipizzazione molecolare degli isolati ottenuti potrà inoltre fornire preziose informazioni sui sottotipi presenti in Italia.

Bibliografia

1. Cannon R.M., Roe R.T., (1982) "Livestock disease surveys: a field manual for veterinarians". Australian Bureau of Animal Health. Canberra, Australian Government Publishing Service: 17.
2. Catelli E., De Marco M.A., Delogu M., Terregino C., Guberti V. (2001). "Serological evidence of avian pneumovirus infection in reared and free-living pheasants." Veterinary Record, 149, 56-58.
3. Cook, J.K.A, Darbyshire J.H. e Peter R.W. (1976) "The use of chicken tracheal organ cultures for the isolation and assay of avian infectious bronchitis virus ". Archives of Virology, 50, 109-118.
4. Fabris G., D'Aprile P.N. (1990) "Rinotracheite infettiva del tacchino: osservazioni sul campo ed indagini di laboratorio". Zootecnica International (6), 36-40.
5. Fabris G., Della Valentina M., Gavazzi L., Gozzini P., (1998) "TRT nei tacchini. Indagine sierologica in animali vaccinati e non vaccinati". La Selezione Veterinaria, (8-9), 645-654.
6. Jones R.C., Williams R.A., Baxter-Jones C., Savage C.E., Wilding G.P. (1988) "Experimental infection of laying turkeys with rhinotracheitis virus: distribution of virus in the tissues and serological response". Avian Pathology, 17, 841-850.

7. Juhasz K., Easton A.J. (1994) "Extensive sequence variation in the attachment (G) protein gene of avian pneumovirus: evidence for two distinct subgroups". Journal of General Virology, 75, 2873-2880.
9. Massi P. (1997) "Riepilogo delle principali patologie aviarie osservate nel corso del 1996 nelle diverse regioni italiane". La Selezione Veterinaria, (8-9), 537-541.

Tabella 1: Risultati della indagine virologica e sierologica negli allevamenti di tacchini

Table 1: Results of the virological and serological survey in turkey farms

Allev.	Età gg	Sintomat. respiratoria	Isolam. APV TOC + IFI	ELISA (Pos/Camp) %*
A	13	no	Neg.	100
B	19	In atto	Pos.	92
C	26	no	Neg.	15
D	37	Pregressa	Neg.	100
E	43	Pregressa	Neg.	100
F	50	Pregressa	Neg.	100
G	56	Pregressa	Neg.	100
H	62	Pregressa	Neg.	100
I	73	Pregressa	Neg.	100

Note: Pos.=positivi; Neg.=negativi; Camp.=campionati; * I sieri risultati "borderline" non sono stati considerati nel calcolo percentuale.

Tabella 2: Risultati della Indagine virologica e sierologica negli allevamenti di polli

Table 2: Results of virological and serological survey in broiler farms

Allev.	Età gg	Sintomat. respiratoria	Isolam. APV TOC + IFI	ELISA (Pos/Camp) %*	
				1°	2° (15 gg)
L	15	no	Neg.	50	n.e.
M	21	In atto	Neg.	0	0
N	28	In atto	Neg.	0	n.e.
O	34	successiva	Pos.	0	100
P	42	successiva	Pos.	0	100
Q	48	successiva	Pos.	0	100

Note: Pos.=Positivi; Neg.=Negativi; Camp.=campionati; n.e.= non eseguiti; * I sieri risultati "borderline" non sono stati considerati nel calcolo percentuale.

Figura 1: Immunofluorescenza indiretta positiva per APV su organocoltura tracheale

Figure 1: Indirect immunofluorescence stain positive for APV - tracheal organ culture

