

COMUNICAZIONE 30

ISOLAMENTO E IDENTIFICAZIONE DI REOVIRUS IN CORSO DI SINDROME DA MALASSORBIMENTO NEL BROILER

G.TOSI, P.MASSI, F.PAGANELLI, A.LAVAZZA
Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna.

Parole chiave: reovirus, sindrome da malassorbimento, broiler.

Isolation and identification of avian reovirus associated with malabsorption syndrome in broiler

Key words: avian reovirus, malabsorption syndrome, broiler.

Riassunto: viene descritto un caso di grave sindrome da malassorbimento osservato in un gruppo di broiler fin dai primi giorni di vita. La patologia provocava gravi conseguenze sulle performances produttive e persisteva per tutto il ciclo di allevamento. Le indagini di laboratorio portavano all'isolamento di un ceppo di reovirus successivamente classificato nel gruppo degli ERS ("enteric reovirus strains"), analogamente a ceppi isolati recentemente in altri paesi europei ed extra-europei e responsabili di quadri patologici sovrapponibili a quello descritto nel presente lavoro.

Summary: A severe outbreaks of malabsorption syndrome in broiler is described. The disease caused enteritis and growth retardation during the entire productive cycle. A reovirus strain was isolated from affected broilers. The isolated virus was identified as an ERS (enteric reovirus strain) similar to other avian reovirus isolated in different countries recently.

Correspondence: Giovanni Tosi - Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna – Sezione di Forlì – Via Marchini 1 – 47100 Forlì. Email forli@bs.izs.it

Introduzione

I reovirus aviari vengono associati, nel broiler, ad una serie di patologie tra cui l'artrite-tenosinovite virale e la sindrome da malassorbimento (SMA) (2). Quest'ultima comprende una serie di quadri clinico-patologici ai quali vengono attribuiti, dagli autori anglosassoni, denominazioni diverse ("runting-stunting syndrome", "wet litter syndrome", "cloacal pasting"). Il ruolo dei reovirus aviari come agenti eziologici primari della SMA è controverso. Recentemente in vari paesi europei ed extra-europei sono stati isolati, nel corso di SMA, ceppi di reovirus successivamente identificati come ERS ("enteric reovirus strains"). Da alcuni di questi ceppi è stata ottenuta la riproduzione sperimentale della malattia (4). Durante la prima parte del 2002 sono stati osservati, nel nostro paese, diversi episodi di forme enteriche e di SMA responsabili di gravi peggioramenti delle performances produttive dei gruppi colpiti. In alcuni dei casi osservati sono stati isolati ceppi di reovirus aviari. Il presente lavoro descrive il più grave tra gli episodi osservati e i relativi rilievi diagnostici

Materiali e metodi

Dati di campo: del caso in esame venivano raccolti dati anamnestici, segni clinici, indici di morbilità e mortalità, interventi terapeutici adottati, dati produttivi. Venivano eseguiti esami necroscopici su soggetti conferiti al laboratorio.

Esami di laboratorio: gli esami virologici venivano allestiti impiegando uova embrionate di pollo SPF ("specific pathogen free") (SPAFAS® – USA). L'inoculo era costituito da un omogenato di organi prelevati in sede necroscopica (cuore, fegato, milza, cervello). Veniva utilizzata la via di inoculazione intra-allantoidea su embrioni di 9-11 giorni di incubazione. Le uova inoculate venivano sottoposte a speratura quotidiana. Venivano eseguiti diversi passaggi ciechi. A partire dal liquido allantoideo delle uova in cui si osservavano lesioni embrionali riferibili a reovirus veniva eseguito, come test di conferma, un esame mediante microscopia elettronica (ME). Quest'ultimo veniva inoltre eseguito direttamente a partire da

campioni di intestino prelevati in sede necroscopica. I campioni sono stati allestiti utilizzando la metodica Airfuge comunemente in uso presso il Laboratorio di ME dell'IZSLER di Brescia (1).

Durante e alla fine del ciclo di allevamento venivano condotte indagini sierologiche per valutare i titoli anticorpali nei confronti delle principali forme patogeniche (anemia infettiva del pollo, *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, bronchite infettiva aviaria, malattia di Newcastle, reovirus aviari).

Venivano infine condotti esami di laboratorio sul mangime impiegato nell'allevamento colpito e mirate alla ricerca di perossidi (metodo titrimetrico) e delle seguenti micotossine: aflatossine (B1, B2, G1, G2), ocratossina A, fumonisine totali, zearalenone, tossina T-2 (ELISA - Ridascreen®).

Identificazione del ceppo virale isolato: veniva impiegato un siero policlonale di coniglio (68A) e i seguenti anticorpi monoclonali anti-reovirus aviari: 154, 14-67 INT, INT 14-11, INT 13-6, 15-1 INT). La prova veniva condotta presso *Intervet International – Boxmeer – The Netherlands*.

Risultati

Venivano accasati 75000 pulcini broilers. Già al secondo giorno di vita si manifestava una forma enterica associata a cloacite. Gli indici di mortalità si mantenevano nella norma. Tuttavia un elevato numero di soggetti presentava crescita stentata e feci acquose. Da un gruppo di animali conferiti al laboratorio all'età di 10 giorni veniva rilevata una grave enterite accompagnata da un contenuto fluido-catarrale dell'intestino.

Dagli organi prelevati in sede necroscopica veniva isolato un virus successivamente identificato come reovirus mediante ME.

Il ceppo isolato reagiva positivamente nei confronti degli anticorpi monoclonali 14-67 INT e INT 14-11 venendo in questo modo classificato come ERS ("enteric reovirus strani").

All'età di 17 giorni alla forma enterica persistente si sovrapponeva una sintomatologia respiratoria. Il gruppo veniva trattato con ampicillina nell'acqua di

bevanda. L'esame anatomico-patologico evidenziava, accanto alle lesioni intestinali già descritte, pericardite e aerosacculite fibrinosa. Gli esami batteriologici portavano all'isolamento di un ceppo di *E.coli* a partire da fegato, milza e pericardio. Tramite ME veniva inoltre rilevata, a livello intestinale, la presenza di rotavirus. La sindrome osservata veniva ulteriormente confermata dall'esame di un altro gruppo di soggetti conferiti al laboratorio all'età di 31 giorni. Nel corso dell'intero ciclo di allevamento si assisteva alla formazione di soggetti di scarto la cui eliminazione portava ad una perdita complessiva del 17% del gruppo. Gli animali rimanenti presentavano comunque un grave ritardo di crescita: le femmine giungevano all'età di 46 giorni pesando solo 1,77 kg, mentre i maschi raggiungevano 2,25 kg a 54 giorni di età. Il peso medio finale, calcolato a 50 giorni, era di 2,02 kg. Le indagini sierologiche condotte a fine ciclo evidenziavano titoli anticorpali elevati nei confronti di reovirus e del virus della bronchite infettiva aviaria. L'esame del mangime rivelava la presenza di livelli anomali di tossina T-2 (38 ppb) e di fumonisine totali (3 ppm).

Discussione

Il ruolo dei reovirus aviari come agenti eziologici dell'artrite-tenosinovite virale è ormai noto da tempo. E' tuttora oggetto di discussione la loro importanza come agenti causali della SMA. L'isolamento di reovirus nel quadro di questa patologia contrasta infatti con il loro riscontro in gruppi sani (3). La recente osservazione, in vari paesi europei ed extra-europei, di gravi forme enteriche associate al costante isolamento di reovirus e la riproduzione sperimentale della malattia sembrano avvalorare la prima ipotesi (4). Inoltre in tutti i casi osservati (compreso quello descritto nel presente lavoro) i ceppi di reovirus sono stati isolati da vari organi (cuore, fegato, milza, cervello). Non si tratta quindi di ceppi a semplice localizzazione intestinale (considerata ubiquitaria). Dalle prove eseguite trova quindi conforto l'ipotesi secondo cui alcuni ceppi di reovirus possano avere un ruolo primario nel determinismo della SMA. L'attività patogena dei reovirus può essere esaltata da fattori manageriali e nutrizionali, come testimoniato dal riscontro di livelli anomali di micotossine nel caso in esame. Resta inoltre da chiarire l'esatta classificazione dei ceppi ERS. Essi mostrano, infatti, un profilo antigenico (rilevato mediante anticorpi monoclonali) diverso rispetto ai ceppi di reovirus responsabili della sindrome artrite-tenosinovite virale. I gruppi da riproduzione vengono vaccinati nei confronti dei reovirus mediante l'impiego di ceppi "articolari". Gli anticorpi materni potrebbero perciò essere insufficienti a proteggere la progenie nei confronti dei ceppi "enterici". Un altro aspetto da approfondire riguarda infine la possibilità di una trasmissione verticale dei ceppi ERS.

Bibliografia

1. Lavazza A, Pascucci S, Gelmetti D: (1990). Rod-shaped virus-like particles in intestinal contents of three avian species. *Vet Rec*, 126: 581
2. McNulty M.S. (1993) "Reovirus" in: J.B.McFerran and M.S.McNulty.: *Virus infections of birds* first edition. Elsevier science publishers b.v., The Netherlands, 181-193.
3. Robertson M.D., Wilcox G.E., Kibenge F.S.B. (1984) "Prevalence of reoviruses in commercial chickens". *Australian veterinary journal*, 61, 319-322.

4. Van Loon A.A.W.M., Koopman H.C., Kosman W., Mumczur J., Szeleszczuk D., Karpinska E., Kosowska G., Luticken D. (2001) "Isolation of a new serotype of avian reovirus associated with malabsorption syndrome in chickens". *The veterinary quarterly*, 23, 129-133.

Figura 1: Microfotografia elettronica di reovirus aviari da liquido allantoideo

Figure 1: Microphotograph of reovirus particles observed in a sample of allantoic fluid.

