

INDAGINI DI CAMPO SULL'INFEZIONE DA *METAPNEUMOVIRUS* AVIARE NELL'ALLEVAMENTO DELLA GALLINA OVAIOLA

Ricchizzi E.^{1*}, Falchieri M.², Lupini C.¹, Cecchinato M.³, Meini A.⁴, Bianchi E.⁵, Catelli E.¹

¹ *Università di Bologna, Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Via Tolara di Sopra 50, 40064 Ozzano Emilia (BO), Italy*

² *University of Liverpool, Department of Veterinary Pathology, Leahurst, CH64 7TE Neston, United Kingdom*

³ *Università di Padova, Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata ed Igiene Veterinaria, Agripolis - Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro (PD), Italy*

⁴ *Intervet Shering Plough Animal Health, Segrate (MI) Italy*

⁵ *Agricola Tre Valli, Gruppo Veronesi, S. Martino B.A. (Verona), Italy;*

**Corresponding author: Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale. Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Bologna. Via Tolara di Sopra 50, 40064 Ozzano dell'Emilia (BO), Italy – Tel. +39 051 2097074- Fax: +39 051 2097039 – Email enrico.ricchizzi2@unibo.it*

Introduzione

Il *Metapneumovirus* aviare (AMPV) è l'agente eziologico della Rinotracheite del Tacchino ed è responsabile nel pollo, oltre che d'infezioni respiratorie, di cali dell'ovodeposizione nei riproduttori e nelle ovaiole per la produzione di uova da consumo (Cook *et al.*, 2000; Hess *et al.*, 2004; Sugiyama *et al.*, 2006). In Italia l'infezione è endemica nelle regioni a maggior vocazione avicola quali Lombardia, Veneto ed Emilia Romagna (Catelli *et al.*, 2004). Se il quadro epidemiologico della diffusione di AMPV nell'allevamento del tacchino e del pollo da carne in Italia è piuttosto chiaro, e ben conosciute sono le problematiche sanitarie correlate ad esso (Catelli, 2006), scarse e frammentarie risultano le informazioni relative all'impatto che tale infezione ha sul settore della produzione di uova da consumo.

Allo scopo di delineare un quadro della situazione di campo il più possibile aderente alla realtà, e sulla base di questo sviluppare adeguati piani profilattici, è stata svolta sul territorio nazionale, in particolare nelle aree a rischio d'infezione, un'indagine sulla diffusione di AMPV nell'allevamento della gallina ovaiole. Il progetto ha previsto studi longitudinali e campionamenti singoli in allevamenti sia in fase pollastra che ovaiole, per la ricerca di AMPV diretta, mediante RT-PCR, ed indiretta mediante test ELISA. Dove possibile i risultati sono stati integrati con i dati produttivi dell'allevamento, gli eventuali piani vaccinali applicati e cali dell'ovo deposizione.

Materiali e Metodi

Allevamenti/Gruppi. Lo studio è stato svolto in allevamenti di pollastre ed ovaiole per la produzione di uova da consumo (tabella 1) situati in Lombardia, Vene-



Prodotti per la salute animale

to ed Emilia-Romagna, nel periodo compreso fra ottobre 2006 e dicembre 2007. All'interno di ogni allevamento sono stati oggetto d'indagine uno o più gruppi di animali. Per ogni gruppo veniva compilata una scheda di allevamento/gruppo. In essa venivano riportati, oltre ai dati identificativi dell'allevamento, il numero di soggetti, l'età, le vaccinazioni eseguite per AMPV, l'eventuale sintomatologia clinica pregressa o in atto (forme respiratorie e/o calo dell'ovodeposizione).

Campionamento. Dagli animali di ciascun gruppo sono stati raccolti tamponi rino-faringei per RT nested PCR e/o campioni di sangue per esami sierologici mediante ELISA, in numero di 10 per tipo. I primi venivano processati in pool. Nello studio longitudinale n.1, i campionamenti sono stati eseguiti 2 volte alla settimana, dall'età di 20 sino a 42 settimane. Nello studio longitudinale n.2, in fase pollastra, sono stati eseguiti campionamenti pre-vaccinazione (11 settimane) e post- vaccinazione (14 settimane), successivamente, all'inizio della deposizione è stato eseguito un altro campionamento a 20 settimane, ed un quarto, solo nel gruppo 4, a 24 settimane. Il resto dei gruppi considerati sono stati campionati una volta sola.

RT nested PCR per AMPV. Per evidenziare e tipizzare AMPV dai tamponi a secco è stata impiegata una R-nested-PCR disegnata sulla sequenza del gene che codifica la proteina virale di adesione (G). Tale protocollo permette, in base alla dimensione dei prodotti di amplificazione, di identificare e discriminare i sottotipi A e B (Cavanagh *et al.*, 1999).

ELISA per AMPV. Nell'indagine sierologica è stato utilizzato il kit ELISA del commercio IDEXX FlockChek Avian Pneumovirus Antibody (IDEXX Laboratories, Westbrook, Maine) in grado di evidenziare anticorpi per AMPV sottotipi A, B e C.

Risultati e Discussioni

I risultati, riportati in tabella n.1, dimostrano un'elevata diffusione dell'infezione da *Metapneumovirus* aviare negli allevamenti campionati. Tutti i ceppi evidenziati appartenevano al sottotipo B. e ciò concorda con i dati a oggi disponibili sulla situazione epidemiologica nazionale indicanti la prevalenza netta di questo sottotipo (Catelli, 2006) rispetto al sottotipo A, pur presente in Italia (Cecchinato *et al.*, 2003). In sole due evenienze è stato possibile correlare la presenza dell'infezione da AMPV a cali dell'ovodeposizione. Degni di nota sono i risultati ottenuti dallo studio longitudinale n°1, da cui è stato possibile delineare alcune considerazioni sull'efficacia di alcuni piani vaccinali nel prevenire l'infezione virale, concludendo che solo il piano vaccinale che prevedeva tre interventi, fra cui uno con vaccino inattivato, sembra avere protetto completamente dall'infezione. Nello studio longitudinale n°2, pollastre negative sierologicamente, vaccinate con vaccino vivo attenuato, hanno successivamente tutte mostrato l'infezione da AMPV entro la 20a settimana di vita, in coincidenza con l'evento stressante dell'accasamento e della entrata in deposizione. La vaccinazione singola con vaccino vivo si è in questo caso confermata inefficace a proteggere oltre che dall'infezione anche dal calo dell'ovodeposizione (Cook *et al.*, 2000) che è stato osservato nel gruppo n. 4 a 22

settimane di età. I campionamenti singoli hanno evidenziato come molti gruppi si infettino in fase pollastra, senza sintomi clinici evidenti, arrivando sieropositivi alla deposizione. Interessante sarà indagare se il contatto con il virus in tale fase protegga da ulteriori infezioni nella futura vita produttiva. Questo studio fornisce dati preliminari ma unici disponibili in Italia sulla diffusione e dinamica delle infezioni da AMPV nel settore produttivo dell'uovo da consumo.

Bibliografia

Catelli E., Cecchinato M., Delogu M., De Matteo P., Ortali G., Franciosi C., De Marco M.A., Naylor C.J. (2004). Avian Pneumovirus infection in turkey and broiler farms in Italy: a virological, molecular and serological field survey. *Italian Journal of Animal Science*, 3(3), 286-292.

Catelli E. (2006). Dati epidemiologici sulle infezioni da Pneumovirus Aviare in Italia. Giornata di Studio INTERVET "Malattie respiratorie e problemi di produzione" 7 giugno 2006, Bologna, Italia. pp. 19-23.

Cavanagh D., Mawditt K., Britton P., Naylor C.J. (1999). Longitudinal field studies of infectious bronchitis virus and avian pneumovirus in broiler using type-specific polymerase chain reactions. *Avian Pathology*, 28, 593-605.

Cecchinato M., Catelli E., Savane C.E., De Matteo P., Faenzi M., Naylor C.J., (2003). Evidenza di pneumovirus aviare sottotipo A in corso di un focolaio di TRT in tacchini da carne in Italia. XLII Convegno Società Italiana Patologia Aviare, Forlì 2-3 ottobre 2003. *Large Animals Review*, 9 (6), 121-122.

Cook J.K.A., Chesher J., Orthel F., Woods M.A., Orbell S.J., Baxendale W., Huggins M.B., (2000). Avian pneumovirus infection of laying hens: experimental studies. *Avian Pathology*, 29, 545-556.

Hess M., Huggins MB, Mudzamiri R, Heincz U. (2004). Avian metapneumovirus excretion in vaccinated and non-vaccinated specified pathogen free laying chickens. *Avian Pathology*, 33(1), 35-40.

Sugiyama M., Koimaru H., Shiba M., Ono E., Nagata T., Ito T. (2006). Drop Egg production in chickens by experimental infection with avian metapneumovirus strain PLE8T1 derived from swollen head syndrome and the application to evaluate vaccine. *Journal of Veterinary Medical Science*, 68(8), 783-787.

Tabella 1: Allevamenti campionati e risultati degli esami di RT nested PCR ed ELISA

	Gruppo	VACCINAZIONE	CAMPIONAMENTO	Risultati	
				ELISA	RT-PCR
STUDIO LONGITUDINALE 1 (ovaiole)	1	Vivo spray (9)* Spento (15) Vivo in acqua da bere (19)	RT-PCR 2 volte a settimana (da 20 a 42)*	n.r.	+B (20)*
	2	Vivo spray (9) Vivo in acqua da bere(19)			+B (20 e 32)
	3	Vivo in acqua da bere (19)			+B (25 e 26)
STUDIO LONGITUDINALE 2 (pollastre-ovaiole)	4	Vivo spray (11)	ELISA (11, 14, 20, 24§) RT-PCR (20, 24§)	- (11) + (14, 20, 24)	+B (20 e 24)
	5				+B
	6				-
CAMPIONAMENTI SINGOLI (pollastre)	7	n.e.	RT-PCR, ELISA (16)	+	-
	8	n.e.	RT-PCR, ELISA (16)	+	-
	9	n.e.	RT-PCR, ELISA (14)	+	+B
	10	Vivo in acqua da bere (9)	RT-PCR(16)	n.e.	-
CAMPIONAMENTI SINGOLI (ovaiole)	11	Vivo spray (15)	ELISA, RT-PCR (34)	+	-
	12	n.e.	ELISA (18), RT-PCR (17)	+	-
	13	n.e.	ELISA (23), RT-PCR (23)	+	-
	14	n.e.	ELISA (23), RT-PCR (23)	+	-

()* = età in settimane di vita, n.r. = non riportata, n.e. = non eseguita, + = positivo, B = AMPV sottotipo B
- = negativo, § = solo gruppo 4