

DIFFERENZIAZIONE DI DUE CEPPI DI *MYCOPLASMA SYNOVIAE* DA CAMPIONI DI TRACHEA E OVIDUTTO PROVENIENTI DA UN ALLEVAMENTO DI GALLINE OVAIOLE

Catania S.¹, Ramirez A.S.², Gobbo F.¹, Brustolin M.¹, Dare C.M.³, Bradbury J.M.³

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD), Italy

² Unit of Epidemiology and Preventive Medicine, Las Palmas de Gran Canaria, Spain

³ University of Liverpool, School of Veterinary Science, Neston, UK

Abstract

Recently some Authors have reported characteristic lesions in the apex of eggs (classified as EAA, *Eggshell Apex Abnormalities*) associated to *Mycoplasma sinoviae* (MS) infection in hen layers (1). In this study we reported a clinical case of EAA in three flock of a farm in North-East Italy. Some animals, selected from positive flocks, were collected and submitted to several analyses: gross pathology and histopathology of oviduct. Therefore tracheal and oviductal swabs were submitted to PCR and culture isolation for MS.

The elaboration of results let us to point out a positive correlation between EAA and MS strains isolated from the oviducts.

Sequencing of the gene *vlhA* of some isolates from trachea and oviduct demonstrated a deletion of 39 nucleotide in the region that includes the tandem repeats that encode proline-rich repeats (PRR) and a difference of three nucleotides in the highly polymorphic region RIII. Taking together these evidence we demonstrated that two different strain of MS can exist, with different tissue-tropism.

Introduzione

Mentre il ruolo di *Mycoplasma synoviae* (MS) è stato ampiamente documentato nell'allevamento avicolo da carne, poche informazioni sono disponibili riguardo diffusione, patologia ed impatto economico nell'allevamento della gallina ovaiole.

Recentemente caratteristiche lesioni dell'apice del guscio, note come *Eggshell Apex Abnormalities* (EAA) (1), sono state correlate all'infezione da MS; tali alterazioni determinano aumentata fragilità causando importanti perdite economiche (2).

Rimane ancora da capire come a fronte di una elevata prevalenza di infezione per MS nel comparto delle ovaiole i casi riferibili ad EAA non siano così frequenti. Sulla base di tale affermazione e sulle discrepanze cliniche da noi evidenziate in un allevamento di galline ovaiole ci siamo proposti di analizzare mediante biologia molecolare i ceppi di MS isolati da differenti matrici al fine di evidenziare eventuali differenze.

Materiali e Metodi

Da alcuni soggetti provenienti dai differenti capannoni dell'allevamento sono state effettuate indagini di laboratorio, quali l'esame anatomo-patologico ed istologico da ovidutto. Inoltre dagli stessi animali sono stati prelevati tamponi tracheali e oviduttali e sottoposti ad esame colturale (*modified Frey medium*) e biomolecolare (PCR) per la ricerca di MS.

Alcuni dei ceppi di MS isolati da trachea ed ovidutto sono stati analizzati anche mediante PCR per il gene *vlhA*, l'amplificato ottenuto è stato sequenziato al fine di evidenziare eventuali differenze (3).

Risultati e discussione

Il gruppo stabulato nel capannone 1, negativo per MS all'introduzione in allevamento, è risultato essere positivo (Isolamento colturale e PCR) dopo diverse settimane solamente da tamponi tracheali ma non oviduttali. In questo gruppo di animali non sono state rilevate uova con lesioni riferibili a EAA.

Al contrario, nei capannoni 2 e 3, dove l'incidenza di EAA era variabile, MS è stato isolato sia da tamponi tracheali che oviduttali, inoltre l'incidenza di uova lesionate sembrava positivamente correlata alla presenza di MS da ovidotto.

Al fine di evidenziare la presenza di un ceppo di MS con tropismo specifico per l'ovidutto abbiamo deciso di sottoporre ad analisi biomolecolare alcuni dei ceppi da noi isolati, cercando di analizzare ceppi provenienti dal capannone 1 in cui non sono state rilevate lesioni riferibili ad EAA e dal capannone 3 in cui l'incidenza di uova con lesioni era alta. In particolare sono stati scelti un ceppo di MS isolato da trachea ed appartenente al capannone 1, un ceppo di MS isolato da trachea appartenente al capannone 3 ed un ceppo di MS isolato da ovidutto anch'esso appartenente al capannone 3. La comparazione delle sequenze del gene *vlhA* ha consentito di identificare differenze geniche situate in una regione con *tandem repeats* che codificano per le PRR (*proline-rich repeats*).

In particolare in tale regione il ceppo isolato da ovidutto presenta una delezione di 39 nucleotidi e una sostituzione di 3 nucleotidi a carico della regione altamente polimorfica RIII. I due ceppi isolati da trachea, pur provenienti da differenti capannoni, non hanno mostrato differenze a carico di tale regione. Quindi sulla base di ciò si può affermare che i ceppi isolati da trachea sono identici tra loro mentre il ceppo isolato da ovidutto risulta essere differente a conferma della nostra ipotesi.

Le inserzioni/delezioni nella regione PRR potrebbero essere correlate alla diversa patogenicità dei ceppi; ulteriori analisi biomolecolari sono in corso per supportare od escludere tali evidenze.

In conclusione un nuovo ceppo di *Mycoplasma synoviae* è stato dimostrato. Tale ceppo, distinguibile dal ceppo tracheale, sembrerebbe presentare uno spiccato tropismo per il tessuto oviduttale, e potrebbe essere l'agente eziologico di EAA. Tale affermazione viene inoltre supportata dalla correlazione positiva tra incidenza di EAA e prevalenza di MS in ovidotto e dall'assenza di lesioni riferibili a EAA nel capannone 1, positivo per MS unicamente da trachea.

Bibliografia

1. Feberwee A, de Wit JJ, Landman WJ. Induction of eggshell apex abnormalities by *Mycoplasma synoviae*: field and experimental studies. *Avian Pathol.* 2009 Feb;38(1):77-85.
2. Catania S., Bilato D., Gobbo F., Granato A., Iob L. and Nicholas R. A. J.. Treatment of egg-shell abnormalities and reduced egg production caused by *Mycoplasma synoviae* infection. *Avian Diseases: Article In Press.*
3. Hammond PP, Ramírez AS, Morrow CJ, Bradbury JM. Development and evaluation of an improved diagnostic PCR for *Mycoplasma synoviae* using primers located in the haemagglutinin encoding gene *vlhA* and its value for strain typing. *Vet Microbiol.* 2009 Apr 14;136(1-2):61-8. Epub 2008 Nov 1.