

EPISODIO DI “FALSE OVAIOLE” IN GALLINE OVAIOLE DI 22 SETTIMANE DI ETÀ IN SEGUITO AD INFEZIONE DA VIRUS DELLA BRONCHITE INFETTIVA AVIARE DENOMINATO QXLIKE

¹Massi P., ¹Fiorentini L., ¹Taddei R., ²Barbieri I., ¹Tosi G.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna-Brescia

¹ *Sezione di Forlì*

² *Sede di Brescia*

Riassunto

Si descrive un episodio di “false ovaiole” in galline ovaiole di 22 settimane di età allevate in Romagna in seguito ad infezione da virus della Bronchite Infettiva aviare (IB) denominato “QXlike”. Trattasi di galline di razza Lohmann nate e allevate in Italia. All'età di 16 settimane il gruppo di galline aveva presentato una forma respiratoria da *Mycoplasma gallisepticum* con Colisetticemia. A 19 settimane veniva identificato un virus della BI sequenziato come QXlike. A 22 settimane la deposizione subiva un arresto sul 80%, contemporaneamente iniziavano a comparire soggetti non produttivi con lesioni dell'apparato riproduttore ascrivibili a “false layers”. Questo caso ha messo in evidenza la stretta correlazione fra virus della IB e la lesione morfologica e strutturale dell'apparato riproduttore.

Abstract

A case of “false layers” in 22 weeks commercial layers hens was described. The case was correlated with the presence of a Chinese strain of infectious bronchitis virus (QXIBV). At 16 weeks the animals manifested a respiratory syndrome by *M. Gallisepticum* and *E. Coli*. At 19 weeks of age a QXlike virus was identified. At 22 weeks the flock showed the “non-layers”.

Introduzione

La Bronchite Infettiva (IB) è una malattia ben nota, ma nel tempo si ripropone in forme diverse. Le cosiddette “false ovaiole”, già segnalate dagli anni '50 del secolo scorso e poi mai più viste grazie all'introduzione delle vaccinazioni in incubatoio, sono ricomparse negli ultimi anni in alcuni Paesi Europei.

Il fenomeno conosciuto come “false ovaiole” viene segnalato per la gravità delle lesioni osservate e soprattutto per l'elevata incidenza nei gruppi colpiti. Le galline affette rimangono improduttive. Salvo eccezioni, le false ovaiole morfologicamente sono indistinguibili da un normale soggetto in produzione. La patologia può manifestarsi sia in gruppi da riproduzione che in gruppi di ovaiole commerciali appartenenti a diverse linee genetiche. Anatomicamente l'ovaio è sviluppato e produttivo, ma l'ovidutto è danneggiato in modo tale da impedire il transito dell'ovulo e la formazione e deposizione dell'uovo completo. Si ritiene che il problema si generi in pollastrine prive di anticorpi materni passivi omologhi (o cross-reattivi) in seguito ad un'infezione precoce di virus IB patogeno per l'apparato riproduttore (De Wit J.J., 2006). I soggetti colpiti presentano ovidutto cistico in cui si raccoglie abbondante quantità di liquido: da 0,5-1-1,5 litri di trasudato. In questi soggetti l'addome è teso e fluttuante e costringe l'animale

ad assumere un caratteristico aspetto definito a “pinguino”. Una delle ipotesi eziologiche più accreditata si basa su un’infezione precoce degli animali ad opera del ceppo “QX” della IB, descritto per la prima volta in Cina (Shengwang et al., 2004).

Dal 2005 (Beato et al., 2005) il virus della Bronchite Infettiva (IB) conosciuto come “QXlike” viene segnalato in Italia nel pollame sia da linea carne che da linea uovo. Fenomeni di “false ovaiole” nella galline commerciali (Bano et al., 2006) e da riproduzione (Massi, 2006) sono stati segnalati e diagnosticati. In nessun caso è stata dimostrata la correlazione, fra la presenza del virus QXIB e la lesione all’apparato riproduttore, ma solo ipotizzato per deduzione e affinità con quanto descritto in altri paesi europei (Landman et al., 2005).

Questo lavoro descrive un caso di “false ovaiole” in ovaiole commerciali nella sua forma iniziale correlato alla precedente identificazione del virus QXIB.

Materiali e metodi

Le osservazioni sono state raccolte in un gruppo di 36.000 ovaiole commerciali Lohmann brown, accasate all’età di 115 giorni e allevate in batteria. Le galline provenivano da una pulcinaia di circa 100.000 capi, poi, distribuite, all’accasamento, in tre allevamenti diversi. Il gruppo era stato regolarmente vaccinato nei confronti della Bronchite Infettiva secondo il seguente protocollo: 1°giorno con il ceppo vivo attenuato H120 spray, 10° giorno con il ceppo vivo attenuato 793B idro, 40° giorno con il ceppo inattivato contenuto nel vaccino trivalente (IB, ND e Corizza Infettiva) per via intramuscolare, 60° giorno con il ceppo vivo attenuato 793B idro, 95° giorno con il vaccino inattivato trivalente (IB, ND, Corizza Infettiva) per via intramuscolare. Nei giorni seguenti l’accasamento il gruppo accusava una forma respiratoria con mortalità, per questo motivo 7 soggetti deceduti erano conferiti presso il laboratorio della Sezione di Forlì dell’IZSLER per gli accertamenti diagnostici. Tutti i soggetti si presentavano febbricitanti con essudato nasale, catarro in laringe con epatosplenomegalia e aerosacculite toracica e addominale. A questo punto si procedeva al prelievo di campioni per la ricerca di *Mycoplasma synoviae*, *Mycoplasma gallisepticum* ed *Escherichia Coli*. Il gruppo di animali non ancora in produzione è stato sottoposto a terapia antibiotica specifica. La deposizione quindi partiva con una certa progressione e regolarità. A 19 settimane venivano controllati nuovamente 9 soggetti deceduti con i residui della forma batterica setticemica, contemporaneamente si procedeva alla ricerca mediante tecniche di PCR e di RT-PCR del virus IB e dei pneumovirus (Cavanagh et al., 1999) e del virus della Laringotracheite Infettiva (Callisson et al., 2007) partendo da prelievi di intestino, trachea e ovidutto. A 22 settimane di vita l’allevatore denunciava un arresto nella progressione della percentuale di ovodeposizione. Venivano consegnati al laboratorio 9 soggetti, 5 galline morte e 4 galline vive. Le quattro galline vive erano state scelte con accuratezza: una con cresta di aspetto e colore normale e tre con cresta piccola e pallida. Su queste si procedeva al prelievo di campioni ematici per accertamenti sierologici nei confronti delle seguenti varianti di IB: M41, 793B, D274, 1466 e nei confronti dei Mycoplasmi, della ND e dell’AVP. Quindi i soggetti venivano soppressi e tutti sottoposti ad esame necroscopico.

Risultati

A 16 settimane all'esame necroscopico prevalevano le lesioni respiratorie complicate da colli setticemia e gli esami di laboratorio risultavano positivi per *M.gallisepticum*, per *M.synoviae* e per *E.Coli*.

A 19 settimane all'esame necroscopico erano presenti gli esiti di forma respiratoria con pericardite e peritonite e ovarite. Gli esami di laboratorio risultavano positivi nuovamente per i due Mycoplasmi e per *E.Coli*, , risultava inoltre positiva la RT-PCR specifica per una porzione del gene S (subunità S1) del virus IB. Il sequenziamento dell'amplificato ottenuto, ha evidenziato la maggior identità nucleotidica (97.9%) verso il ceppo di referenza QXIBV. Le reazioni di sequenza sono state approntate a partire dal prodotto PCR previa purificazione su gel (Qiaquick Gel extraction kit - QIAGEN) con il BigDye Terminator Cycle Sequencing kit (Applied Biosystem) secondo le istruzioni del produttore, impiegando la stessa coppia di primers utilizzata nell'amplificazione (XCE1+, XCE3-). Le reazioni di sequenza sono state sottoposte ad elettroforesi capillare su sequenziatore automatico ga 3130 (Applied Biosystems). Le sequenze ottenute sono state editate ed analizzate mediante software Lasergene v7.0 (DNASTAR Inc., Madison, WI, USA). A 22 settimane all'esame necroscopico una delle 5 galline pervenute morte presentava addome dilatato, teso e fluttuante per anomalia dell'ovidutto che si presentava estremamente dilatato con assottigliamento della parete per raccolta di un abbondante quantità di trasudato (circa 1 litro) con tendenza all'atrofia ovarica. Due delle galline pervenute vive si presentavano impuberi con mancato sviluppo dell'apparato riproduttore con ipotrofia ovarica e oviduttale, mentre una presentava iperfollicolite ovarica e cisti oviduttale di media dimensione tra magnum e istmus. A questo punto si emetteva il fondato sospetto di "false layers" come conseguenza di un'infezione precoce da IB.

Contemporaneamente sei soggetti su nove presentavano una grave tiflite emorragica da *E.tenella*.

Sierologicamente risultavano positive per i Mycoplasmi, per AVP, per le varianti IB saggiate a basso titolo, per ND a basso titolo.

Considerazioni

Il caso clinico descritto ha dimostrato la stretta correlazione fra virus IB e la lesione dell'ovidutto che caratterizza le cosiddette "false ovaiole". Non risulta facile stabilire in percentuale il numero di galline che possono esserne colpite per vari motivi. Uno di questi motivi consiste nel fatto che il caso è troppo recente e solo con il proseguo si potranno fare delle valutazioni più precise. Un altro motivo per cui questa valutazione non è facile, specialmente nella fase iniziale, dipende che all'esame clinico generale di un gruppo colpito e allevato in batteria, le galline false ovaiole non manifestano alcuna anomalia esteriore e sono morfologicamente indistinguibili dagli altri soggetti, anzi appaiono in ottimo stato di nutrizione e ben impiumate. Nei casi più avanzati, invece, si possono notare alcuni soggetti, immediatamente identificabili come false ovaiole, con un atteggiamento caratteristico detto a "pinguino" dovuto all'addome a bisaccia. La causa di questo atteggiamento sono le cisti con raccolta di liquido trasudato nel lume stesso dell'ovidutto, le cui pareti si dilatano a dismisura fino a contenere anche 1,5 litri di liquido. L'ovaio rimane attivo, ma la salpinge e l'ovidutto non

sono in grado di accogliere né tanto meno di far proseguire l'ovulo maturo. Nella maggior parte dei casi, per contro, la lesione più comune risulta in un restringimento o atresia dell'ovidutto. Già a 5/6 settimane di età il sistema riproduttore immaturo infettato può subire alterazioni con formazione di ovidutti malformati e parzialmente atrofizzati.

Nel caso descritto la percentuale di deposizione si è portata al % a 24 settimane di vita contro il % previsto per la razza e l'età in mancanza di patologie.

La sensazione che se ne ricava è che l'evento "false ovaiole" nel gruppo di galline considerato non determini una elevata percentuale di mancata produzione (30-50%) come descritto in altri episodi, ma possa essere contenuta fra il 5-10% dal momento che le pollastre hanno avuto due vaccinazioni precoci con due ceppi diversi nei primi dieci giorni di vita, per cui anche di fronte ad un'infezione precocissima, una gran parte dei soggetti risultava possedere una buona copertura vaccinale.

Infatti, De Wit (2006) in seguito a diverse prove vaccinali sperimentali condotte nei riproduttori e nella progenie, conclude che 1) gli anticorpi neutralizzanti omologhi sono protettivi; 2) quanto maggiori sono i livelli anticorpali dei riproduttori, tanto migliore è la protezione della progenie. Sono auspicabili livelli $\geq 10 \log_2$; 3) elevati livelli anticorpali nei riproduttori si raggiungono con l'uso di vaccini inattivati con più sierotipi di IBV; 4) l'ideale sarebbe un vaccino omologo.

Concludendo, non potendo attualmente disporre del vaccino omologo, si può affermare che al fine di proteggere le ovaiole da questa patologia occorre allevare pulcini per gruppi omogenei con titoli passivi per IB elevati ed omogenei e procedere precocemente alla copertura vaccinale con i diversi ceppi vaccinali a disposizione in commercio.

Ringraziamenti

Si ringrazia tutto il personale tecnico della Sezione di Forlì per la gentile collaborazione

Bibliografia

1. Bano L., Bellato S., Cocchi M., Terregino C., Vascellari M., Agnoletti F. 2006. Elevata incidenza di "false ovaiole" in un gruppo di galline commerciali. Atti del XLV Convegno annuale SIPA, p.29.
2. Beato M.S., De Battisti C., Terregino C., Drago A., Capua I., Ortali G. 2005. Evidence of circulation of a Chinese strain of infectious bronchitis virus (QXIBV) in Italy. *Veterinary Record*, 156:720.
3. Callison SA, Riblet SM, Oldoni I, Sun S, Zavala G, Williams S, Resurreccion RS, Spackman E, García M. 2007. Development and validation of a real-time Taqman PCR assay for the detection and quantitation of infectious laryngotracheitis virus in poultry. *J Virol Methods*. Jan;139(1):31-8.
4. Cavanagh D., Mawditt K., Britton P., Naylor C.J. 1999. Longitudinal field studies of infectious bronchitis virus and avian pneumovirus in broilers using type-specific polymerase chain reactions. *Avian Pathol* .28, 593-605.
5. De Wit J.J., 2006. Un nuovo capitolo sull'argomento false ovaiole. Atti della Giornata di Studio Intervet, Bologna, 7 giugno 2006.

6. Landman W.J.M., Dwars R.M., De Witt J.H..2005.High incidence of false layers in (re)production hens supposedly attributed to a juvenile infectious bronchitis virus infection.Proc.of the fifty-fourth Western Poultry Disease Conference, Vancouver, Canada, 25-27 April.
7. Massi P.,2006.Epidemiologia della Bronchite Infettiva in Italia. Atti della Giornata di Studio Intervet, Bologna, 7 giugno 2006.
8. Shengwang L., Xiangang K., 2004.A new genotype of nephropathogenic infectious bronchitis virus circulating in vaccinated and non vaccinated flocks in China.Avian Pathology,33(3):321-327.