

INFEZIONE SPERIMENTALE IN GALLINE OVAIOLE SPF CON DUE DIFFERENTI CEPPI DI *MYCOPLASMA SYNOVIAE* DENOMINATI PASC8 E TRACH: RISULTATI PRELIMINARI.

Catania S., Bilato D., Gobbo F., Brustolin M., Battanoli G., Beato M.S., Iob L.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Viale Dell'Università 10, 35020, Legnaro (PD); scatania@izsvenezie.it

Summary

Mycoplasma synoviae (MS) is considered worldwide an important pathogen of poultry industry. It is mainly observed in meat poultry production where it is responsible of respiratory and articular diseases. On the contrary its role in hen layers is still subject of debate. Recently some authors have described a new and specific lesion on the top of the eggs, classified as Eggshell Apex Abnormalities (EAA). The same authors have correlated these lesions to oviductal infection with MS. The analysis of *vlhA* gene of the strain isolated from oviducts (PASC8-strain) showed some differences if compared to the strain isolated from trachea (TRACH-strain). Such differences may be responsible for the different tissue tropism of these strains.

The aim of this study was to reproduce MS infection, via intratracheal inoculum, under controlled conditions in SPF White Leghorn chickens in order to clarify any correlation between strains, tissue tropism and presence of abnormal eggs. Our preliminary results showed a presence of abnormal eggs only in the group challenged with PASC8 strain.

INTRODUZIONE

Il *Mycoplasma synoviae* (MS) è considerato uno tra i più importanti micoplasmi patogeni per il settore avicolo industriale. Il suo ruolo patogeno è stato ampiamente dimostrato in particolare nel settore da carne dove provoca, sia nel pollo che nel tacchino, forme respiratorie con interessamento anche articolare. Nel settore della gallina ovaiole tale micoplasma non è stato mai considerato un patogeno di rilevante importanza, infatti il suo ruolo come patogeno risulta essere ancora oggetto di dibattito. Recentemente alcuni Autori (1;2) hanno correlato la presenza del *Mycoplasma synoviae* ad una caratteristica alterazione del polo apicale del guscio, comunemente conosciuta come EAA (*Eggshell Apex Abnormalities*) o uova a guscio di vetro. Studi condotti sul gene *vlhA* hanno correlato uno specifico ceppo di MS, denominato PASC8, alle lesioni del guscio, permettendo inoltre di ipotizzare un maggiore tropismo di tale ceppo per l'ovidutto nei confronti di un ceppo di MS, denominato TRACH, e isolato dalle trachee degli animali nel medesimo allevamento (3,4;5).

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di dimostrare attraverso una infezione sperimentale con i due differenti ceppi di *Mycoplasma synoviae* (PASC8 e TRACH) l'eventuale correlazione tra ceppo, presenza di MS a livello oviduttale e produzione di uova alterate.

MATERIALI E METODI

Un gruppo di 15 animali SPF (*White Leghorn*) di 16 settimane di vita sono stati suddivisi casualmente in tre gruppi da 5 soggetti, e introdotti in tre isolatori BL3 differenti. Dopo due settimane di adattamento alle condizioni sperimentali gli animali sono stati infettati

con 1 ml di brodo coltura per via intratracheale. I tre gruppi sono stati così suddivisi: un gruppo di controllo, un gruppo denominato PASC8 ed infine un gruppo denominato TRACH. L'inoculo era costituito da brodo coltura sterile per il gruppo controllo, da brodo coltura titolata 1.5×10^6 UCC/ml di *Mycoplasma synoviae* ceppo PASC8 per il gruppo PASC8, e da brodo coltura titolata 1.75×10^7 UCC/ml di *Mycoplasma synoviae* ceppo TRACH per il gruppo TRACH.

Gli animali sono stati monitorati a cadenze prestabilite al fine di verificare la sieroconversione mediante metodica SAR ed ELISA, ed attraverso l'esecuzione di tamponi tracheali per evidenziare *Mycoplasma synoviae* mediante PCR specifica. Le uova prodotte sono state raccolte giornalmente, pesate, ed osservate macroscopicamente al fine di evidenziare eventuali lesioni. Gli animali sono stati stabulati per 8 settimane dopo l'infezione e allo scadere di questo periodo sono stati sacrificati e sottoposti ad esame necroscopico. Durante tale esame sono stati prelevati differenti campioni, in particolare sono stati prelevati tamponi da trachea, polmone ed ovidutto per la ricerca di *Mycoplasma synoviae* mediante PCR.

RISULTATI E DISCUSSIONE

I soggetti del gruppo di controllo durante tutto il periodo della sperimentazione non hanno presentato positività per *Mycoplasma synoviae* né sierologica né mediante PCR.

Due soggetti del gruppo PASC8 hanno presentato positività per MS mediante ELISA già al 5° giorno post-infezione (PI), mentre la totalità dei soggetti ha presentato positività per MS sia in SAR che in ELISA al 7° giorno PI. Inoltre, i tamponi tracheali sono risultati positivi in PCR per MS per tutto il periodo della prova.

Nel gruppo TRACH al 5° giorno PI solamente un soggetto ha manifestato positività per MS mediante SAR, mentre nessuna positività in ELISA è stata evidenziata. Al 7° giorno PI tutti i soggetti hanno manifestato sieroconversione, sia in SAR che in ELISA. Anche in questo gruppo è stato possibile dimostrare la presenza di MS a livello tracheale mediante PCR per tutta la durata della prova.

Solamente il gruppo PASC8 ha mostrato alterazione apicale del guscio in 13 uova, pari al 7.3% di quelle prodotte nelle 8 settimane post infezione. Tale alterazione era rappresentata da un'area di maggiore rugosità con margini regolari di circa 2 centimetri di diametro, a livello della porzione apicale dell'uovo. Tuttavia la colorazione delle uova non è sembrata essere alterata, anche se dobbiamo considerare che la linea genetica utilizzata per questo studio produce uova a guscio bianco. Rispetto alle lesioni rilevate nelle galline ovaiole in campo, le lesioni evidenziate in queste prove sperimentali sono state meno evidenti, forse anche a causa della linea genetica degli animali utilizzata per la prova.

I risultati degli esami effettuati sugli animali deceduti durante la prova o sacrificati alla fine della stessa, hanno dimostrato positività per *Mycoplasma synoviae* a livello oviduttale solamente in due soggetti, entrambi appartenenti al gruppo PASC8. L'analisi del gene *vIhA* ha dimostrato la loro identità al ceppo PASC8 utilizzato per la infezione sperimentale.

I dati preliminari fin qui riportati sembrerebbero confermare l'ipotesi iniziale in cui si supponeva che le alterazioni apicali del guscio fossero correlate ad un ceppo specifico di *Mycoplasma synoviae* con particolare tropismo per l'ovidutto e diverso da quello isolato dall'apparato respiratorio delle galline.

BIBLIOGRAFIA

1. Feberwee A, de Wit JJ, Landman WJ. (2009). Induction of eggshell apex abnormalities by *Mycoplasma synoviae*: field and experimental studies. *Avian Pathol.*38(1):77-85.
2. Catania S, Bilato D, Gobbo F, Granato A, Terregino C, Iob L, Nicholas RA. Treatment of eggshell abnormalities and reduced egg production caused by *Mycoplasma synoviae* infection. *Avian Dis.* 2010 Jun;54(2):961-4.
3. Catania S, Ramirez AS, Gobbo F, Battanoli G, Dare CM, Bradbury JM. (2010). IOM 18th Congress of The International Organization For Mycoplasmology. July 11-16, Chianciano Terme, Siena, Italy *Mycoplasma synoviae* infection in multi-age layer hens, differentiation of two strains in tracheal and oviduct specimens.
4. Catania S, Gobbo F, Bilato D, Battanoli G, Iob L, Nicholas R.A.J. (2010). XIIIth European Poultry Conference, Tours France, 23-27 August 2010. "Mycoplasma synoviae Infection in Multiage Layer Hens." Abstract and Full Paper, Pag. 253.
5. Catania S, Ramirez AS, Gobbo F, Brustolin M, Dare CM, Bradbury JM. (2010). Differenziazione di due ceppi di *Mycoplasma synoviae* da campioni di trachea e ovidutto provenienti da un allevamento di galline ovaiole. 49° Convegno Società Italiana di Patologia Aviaria (SIPA) Forlì, 29-30 aprile 2010. Pag. 115-116