

EPISODI DI MENINGITE DA *RIEMERELLA ANATIPESTIFER* NEL POLLO DA CARNE: ASPETTI CLINICI E DIAGNOSTICI

Bano L.¹, De Zan G.¹, Viel L.¹, Drigo I.¹, Fracas V.¹, Vascellari M.², Agnoletti F.¹

¹ IZS delle Venezie, Sezione Diagnostica di Treviso, Vicolo Mazzini 4, 31020 Villorba, Treviso

² IZS delle Venezie, Laboratorio di Istopatologia, Viale dell'Università 10, 35020 Legnaro, Padova

Summary

The present case report describes two meningoencephalitis outbreaks caused by *Riemerella anatipestifer* in commercial meat-chicken flocks. The disease appeared in 42-day-old birds and post-mortem, bacteriological, virological and histo-pathological examinations have been conducted. The pathogen has been isolated from brains of affected animals but not from septicaemic or serosal lesions. The two stains showed to be susceptible to the beta-lactamines and sulfonamides tested.

INTRODUZIONE

Riemerella anatipestifer è un bacillo Gram-negativo, asporigeno, immobile, catalasi ed ossidasi positivo, causa di una grave malattia contagiosa tipica dell'anatra domestica che prende il nome di setticemia essudativa (1). In tale specie l'intervallo di maggiore suscettibilità all'infezione varia da 1 a 6 settimane di vita, mentre risulta rara nei riproduttori. Provoca ingenti perdite economiche nei sistemi di allevamento intensivo di anatidi, con elevata morbilità e mortalità variabile tra 5 e 50%. L'infezione può inoltre sporadicamente interessare l'oca, il tacchino ed il pollo (1). In quest'ultima specie le segnalazioni sono estremamente scarse tanto che negli ultimi 40 anni se ne contano solo 2: una in Australia e l'altra in Asia (2, 3).

Nell'anatra si ritiene che il patogeno, presente nell'ambiente, penetri nell'ospite attraverso le vie respiratorie o tramite lesioni traumatiche cutanee, soprattutto a carico del piede. Una volta entrata in allevamento, la patologia diventa endemica con andamento stagionale a trasmissione orizzontale (1). Dopo un'incubazione di 2-5 giorni si manifestano i segni clinici che comprendono depressione e atassia, scolo oculo-nasale, sintomatologia respiratoria, diarrea verdastra e sintomatologia nervosa terminale caratterizzata da tremori del capo e del collo che precedono il coma (1).

La lesione tipica negli anatidi è una diffusa poliserosite, maggiormente evidente su pericardio e fegato. Possono essere inoltre presenti meningite, necrosi del tessuto linfoide, frequente salpingite mucopurulenta o caseosa ed una forma d'infezione cronica localizzata che si manifesta a carico delle articolazioni o come dermatite necrotica del dorso ed in sede pericloacale (1).

In questo lavoro vengono descritti gli aspetti clinici e diagnostici di due episodi d'infezione da *Riemerella anatipestifer* del pollo da carne osservati in Italia nel corso del 2012 e 2013.

MATERIALI E METODI

Anamnesi e sintomatologia

Gli episodi di malattia si sono verificati a ottobre 2012 e gennaio 2013 in 2 distinti allevamenti di 20000 polli da carne Ross 308 stabulati su lettiera mista (truciolo e lolla di riso). Al momento della comparsa della sintomatologia neurologica entrambi i gruppi avevano 42 giorni ed in uno di questi era in corso da 2 giorni una terapia con sulfamidico e trimethoprim per pregressa forma respiratoria. La sintomatologia neurologica era caratterizzata da movimenti ritmici del capo (tremori), opistotono, decubito tarsale, perdita di equilibrio ed aveva interessato circa lo 0,5% degli animali. Tutti o parte dei sintomi sopra descritti erano presenti nei soggetti malati e potevano essere associati indifferentemente a una violenta forma eccitatoria o ad abbattimento del sensorio con ptosi palpebrale. La mortalità che fisiologicamente era dell'1% in entrambi gli allevamenti, si è mantenuta tale nell'allevamento in cui era in corso la terapia antibiotica mentre si è portata al 4% per una settimana nell'altro gruppo, dove si è deciso di intraprendere una terapia con amoxicillina. Cinque soggetti con sintomatologia neurologica del primo caso e 7 del secondo sono stati conferiti presso la Sezione Diagnostica di Treviso dell'IZS delle Venezie, qui sacrificati e sottoposti ad esame anatomopatologico e accertamenti diagnostici.

Esame batteriologico

Accertamenti batteriologici sono stati eseguiti da organi/tessuti sede di lesioni evidenti e dal cervello di 3 soggetti sintomatici di ciascun gruppo.

Gli esami batteriologici da cervello sono stati eseguiti tramite accesso dal forame occipitale e il materiale encefalico prelevato è stato inoculato su Columbia agar (CA) e Agar sangue (AS). Le piastre di CA sono state incubate a 37 °C in condizioni di microaerofilia (CO₂ 10%) mentre quelle di AS sono state incubate alla stessa temperatura ma in aerobiosi. I terreni sono stati ispezionati dopo 24 e 48 ore. L'identificazione degli isolati è stata effettuata utilizzando lo strumento Microflex LT (Maldi Biotyper, Bruker Daltonics) equipaggiato con il software FlexControl (versione 3.3, Bruker Daltonics). La farmacosenibilità delle specie batteriche patogene per il pollo è stata saggiata tramite test di Kirby Bauer.

Accertamenti virologici

Campioni encefalici prelevati nel corso del focolaio di ottobre 2012 sono stati sottoposti ad accertamenti virologici generici eseguiti tramite microscopia elettronica, isolamento su uova di pollo embrionate e su convenzionali linee cellulari.

I campioni encefalici sono stati inoltre analizzati tramite real-time PCR per avian paramyxovirus tipo 1 e virus influenzale tipo A. Dal siero di tutti i soggetti conferiti è stato condotto un esame sierologico in ELISA nei confronti del virus dell'encefalomielite aviare.

Nel primo caso clinico sono stati eseguiti anche accertamenti per bronchite infettiva tramite real-time PCR condotta su tampone tracheale di 1 soggetto con tracheite catarrale.

Accertamenti istopatologici

Campioni encefalici prelevati da 1 soggetto sintomatico per gruppo, sono stati fissati in formalina tamponata al 10%, inclusi in paraffina e sezionati a 4 µm. Sulle sezioni

ottenute è stata eseguita colorazione tramite ematossilina-eosina e i preparati sono stati esaminati al microscopio ottico.

RISULTATI

All'esame anatomopatologico è stata osservata epatomegalia e pericardite fibrinosa e, nel caso clinico più recente, anche tracheite catarrale e artrosinovite purulenta a carico dell'articolazione tibio-tarso-metatarsale. Le lesioni sopra descritte erano presenti in alcuni soggetti mentre altri, seppur sintomatici, non presentavano alcuna lesione macroscopica.

Microscopicamente sono stati rilevati manicotti perivasali a carico dell'encefalo e meningite di tipo piogranulomatoso nel caso 1 e a prevalenza linfoistiocitaria o linfoide nel caso 2.

Gli accertamenti virologici e sierologici hanno dato tutti esito negativo, ad eccezione dell'esame per bronchite infettiva. Il ceppo virale individuato ha presentato al sequenziamento genico una similarità del 100% con la variante QX. I risultati degli accertamenti batteriologici vengono riassunti in tabella 1.

I ceppi di *Riemerella anatipestifer* isolati da entrambi i casi clinici hanno mostrato sensibilità ad ampicillina, amoxicillina-acido clavulanico, colistina, florfenicolo, sulfisoxazolo e sulfametossazolo associato a trimethoprim. Tetraciclina, aminoglicosidi, fluorchinoloni di II generazione e i macrolidi testati hanno mostrata scarsa o nessuna efficacia *in vitro* nei confronti di uno o di entrambi i ceppi isolati da ciascun episodio.

DISCUSSIONE

I risultati ottenuti portano alla diagnosi di meningoencefalite da *Riemerella anatipestifer* quale causa della sintomatologia neurologica osservata. Tale microrganismo è stato infatti isolato da tutti i campioni encefalici analizzati e da un prelievo eseguito da articolazione. Colpisce il mancato isolamento del patogeno da organi parenchimosi o sierose, che negli anatidi vengono considerati sede elettiva per l'esame colturale. Questo, se da un lato può trovare giustificazione dal trattamento farmacologico già in atto nel primo caso osservato, non è spiegabile nel secondo caso in cui gli animali non erano trattati al momento della comparsa della sintomatologia. L'essudazione fibrinosa osservata a livello delle sierose (pericardio e sacco aereo) e l'occasionale aumento di volume di fegato e milza erano forse attribuibili alla presenza di *E. coli* che è stato isolato da queste sedi.

L'unico isolamento extracerebrale è stato ottenuto dall'articolazione di 1 soggetto colpito da essudazione fibrino-purulenta. Tale localizzazione potrebbe essere avvenuta per via ascendente a partire da piccole soluzioni di continuo della cute del piede, come già descritto per gli anatidi (1).

Non è dato sapere se in prossimità dei focolai erano presenti allevamenti di anatidi, ma si sa che sicuramente a breve distanza vi erano allevamenti di tacchini da carne, specie nella quale *R. anatipestifer* viene isolata con maggiore frequenza rispetto al pollo.

CONCLUSIONI

I casi clinici sopra descritti, osservati a distanza di pochi mesi l'uno dall'altro in 2 allevamenti diversi, fanno sospettare che l'infezione da *Riemerella anatipestifer*,

ritenuta malattia rara nel pollo, potrebbe aver inspiegabilmente aumentato la sua diffusione in questa specie nell'ultimo periodo. Sebbene la patologia risulti agevolmente controllabile tramite terapia antibiotica, è auspicabile saggiare la farmacosenibilità del ceppo implicato, al fine di prevenire l'insorgenza di ceppi multiresistenti che, con la loro diffusione, potrebbero causare pesanti perdite al settore avicolo.

BIBLIOGRAFIA

1. Sandhu T. S., Rimler R. B. (1997). Infezioni da *Riemerella anatipestifer*. In: Calnek B. W. (Eds.), Diseases of poultry, Iowa State University Press, Ames, Iowa, pp. 177-183.
2. Rosenfeld L. E. (1973). *Pasteurella anatipestifer* infection in fowls in Australia. Aust Vet J, 49: 55-56.
3. Li J. X., Tang Y., Gao J. Y., Huang C. H., Ding M. J. (2011). *Riemerella anatipestifer* infection in chickens. Pakistan Veterinary Journal, 31(1):67-69.

Caso	Soggetto	Organo/tessuto	Esito	
1	1	fegato	Negativo	
		pericardio	<i>Escherichia coli</i>	
	2	fegato	<i>Escherichia coli</i>	
		pericardio	Negativo	
	3	cervello		<i>Riemerella anatipestifer</i>
				<i>Escherichia coli</i>
		pericardio	<i>Escherichia coli</i>	
		milza	<i>Escherichia coli</i>	
		4	cervello	<i>Riemerella anatipestifer</i>
	5	pericardio	fegato	Negativo
			<i>Escherichia coli</i>	
cervello		<i>Riemerella anatipestifer</i>		
2	3	pericardio	Negativo	
		cervello	<i>Riemerella anatipestifer</i>	
	4	cervello	<i>Riemerella anatipestifer</i>	
		cervello	<i>Riemerella anatipestifer</i>	
	5	sacco aereo	<i>Enterococcus cecorum</i>	
		pericardio	Negativo	
7	articolazione	<i>Riemerella anatipestifer</i>		

Tabella 1. Esito degli accertamenti batteriologici condotti