

## STUDIO RETROSPETTIVO SULL'INFEZIONE DA *MYCOPLASMA IOWAE* NEL SETTORE TACCHINO DA CARNE

Catania S.<sup>1</sup>, Santone C.<sup>1</sup>, Boscaro G.<sup>1</sup>, Sturaro A.<sup>1</sup>, Flaminio B.<sup>1</sup>, Gobbo F.<sup>1-2</sup>

<sup>1</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Laboratorio di Medicina aviaria - U.O. Micoplasmi; Viale dell'Università 10, 35020 Legnaro (PD)

<sup>2</sup> Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute (MAPS) Università degli Studi di Padova Agripolis - Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro (PD), Italia

Corresponding author: [scatania@izsvenezie.it](mailto:scatania@izsvenezie.it)

### SUMMARY

*Mycoplasma iowae* (MI) is an avian mycoplasma affecting mainly turkey with decreased hatchability due to late embryonic mortality, moreover in experimentally infected poulters poor growing, abnormal feather and skeletal abnormalities were reported.

Recently some Authors have reported field cases of skeletal abnormalities affecting legs' bones or joints with a specific form of arthrosynovitis.

The aim of this report is to share the results of a retrospective study of 103 cases occurring in the meat turkey sector, routinely submitted for necropsy examination during the period October 2011- September 2012.

A standard necropsy examination and a standard gross-pathology protocol was applied in all examined carcasses and *Mycoplasma spp.* detection was performed in each turkey group through cloaca swab sampling.

A total number of 56 out of 103 groups resulted positive for *Mycoplasma iowae* isolation.

Basing on the gross pathological evidences and the laboratory results, we decide to perform a statistical analysis in order to point out any relationship between the positivity for MI and other laboratory results. We demonstrated that the probability to find a MI-positive flock is 4 times higher in flocks where legs abnormalities were noticed (OR=4.5, IC 95%: 1.71 – 12.16). Moreover the incidence of *Eimeria spp.* in gut was statistically higher in the MI infected groups.

MI infection could contribute to the alteration of intestinal environment predisposing an increase of *Coccidia* load and legs abnormalities, likely causing poor growth performances.

Finally a specific clinical form was observed in the Italian turkey meat sector during the years 2011-2012 and *Mycoplasma iowae* seemed to be correlated with that.

Therefore it is recommended to plan an experimental infection with a recent isolate of *Mycoplasma iowae* in new meat-turkey genetic line in order to elucidate its pathogenic role in the development of gross-pathology lesions and if it can promote and/or influence other pathogens infection.

### INTRODUZIONE

Il *Mycoplasma iowae* (MI) è considerato come specie di interesse per il settore avicolo e nello specifico nel settore tacchino. Tale patogeno in passato ha mostrato un importante impatto sulla produzione, specificatamente attribuito alla scarsa

schiumabilità delle uova prodotte da gruppi di riproduttori infetti. Attraverso infezioni sperimentali, eseguite sia su tacchino che su pollo, l'MI ha determinato uno scarso accrescimento, con evidenti alterazioni dello sviluppo osseo, oltre a forme di lieve aerosacculite, artrosinovite ed anomalie del piumaggio.

Al fine di contenere la problematica nel settore tacchino importanti ed efficaci piani di risanamento sono stati applicati in passato. Recentemente sia negli Stati Uniti che in Italia è stato segnalato l'isolamento di *Mycoplasma iowae* in tacchini da carne, in cui era stato riscontrato un anormale accrescimento associato a gravi alterazioni ossee (Catania *et al.*, 2012, Ley *et al.* 2010, Trampel *et al.*, 1994).

Al fine di verificare l'associazione tra *Mycoplasma iowae* e le problematiche riscontrabili nei gruppi infetti ci siamo proposti di analizzare i dati in nostro possesso ottenuti durante un periodo di 12 mesi, utilizzando i campioni di tacchino industriale conferiti presso il nostro laboratorio come attività diagnostica.

### MATERIALI E METODI

103 gruppi di tacchini sono stati analizzati durante il periodo Ottobre 2011- Settembre 2012 presso i nostri laboratori e inclusi nel presente studio.

Le carcasse conferite per ogni gruppo di animale sono state sottoposte ad un protocollo diagnostico *standard* di base ed in seguito a determinate evidenze anatomopatologiche venivano richiesti esami diagnostici specifici che naturalmente potevano variare a seconda della problematica del gruppo.

Il protocollo *standard* di base, e quindi applicato tutti i gruppi del presente studio, prevedeva il rilevamento delle anomalie di sviluppo osseo sia a carico degli arti inferiori che della colonna vertebrale, l'esame parassitologico a fresco del tratto prossimale e distale dell'intestino, la colorazione Diff-Quick da impronte intestinali e l'isolamento micoplasmi da intestino.

La nostra metodica di isolamento micoplasmi prevede il tampone a livello intestinale, che viene prontamente stemperato in brodo ed incubato a 37°C ed al 5% di CO<sub>2</sub> per almeno 15 giorni, i brodi vengono valutati giornalmente ed in seguito ad evidenza di torbidità o variazione del pH vengono seminati in agar, di contro in caso di assenza di crescita evidente al 15° giorno si procede ad un secondo passaggio in brodo e si seminano le piastre in agar e si mantengono i campioni per ulteriori 15 giorni alle medesime condizioni di incubazione. La negatività del campione viene refertata dopo che dal secondo passaggio (brodo ed agar) e trascorsi i 15 giorni non viene dimostrata alcuna evidenza di crescita.

I campioni positivi vengono sottoposti alla PCR-DGGE (Battanelli *et al.*, 2010) per l'esecuzione dell'identificazione della specie di micoplasma isolata.

### RISULTATI

Dei 103 gruppi esaminati 56 sono risultati essere positivi al *Mycoplasma iowae*, tali positivi sono stati riscontrati principalmente nelle classi di età tra la 3° e la 5° settimana, anche se abbiamo riscontrato positività in un gruppo di 98 giorni. Dei 103 gruppi esaminati 41 mostravano la presenza di coccidi ed in particolare 14 classificati come alta, 22 come bassa quantità e 5 non classificati. Inoltre 11 gruppi hanno manifestato positività per *Trichomonas spp.*. Dal punto di vista anatomopatologico, 36 gruppi hanno mostrato anomalie ossee specificatamente localizzate agli arti inferiori, 59 gruppi hanno mostrato alterazioni a carico dei sacchi aerei, 70 gruppi

mostravano segni di enterite ed infine in 33 gruppi è stato possibile rilevare ipertrofia renale. Altre lesioni considerate caratteristiche dell'infezione da MI, come il *wry neck*, sono state rilevate, anche se in un numero esiguo di animali e solamente in un gruppo.

Dall'analisi statistica effettuata, i dati che mostrano significatività statistica tra infezione da MI e le evidenze di laboratorio, risultano essere le anomalie ossee a carico degli arti inferiori e la presenza di coccidi. Mentre per quanto riguarda gli altri parametri rilevati non è stata evidenziata significatività statistica. In particolare è risultato che la probabilità di diagnosticare un soggetto positivo al *Mycoplasma iowae* è quattro volte superiore per i soggetti che presentano anomalie agli arti inferiori (OR=4.5, IC 95%: 1.71 – 12.16), ed inoltre che la probabilità di registrare un esito positivo al *Mycoplasma iowae* risulta tre volte superiore qualora si registri un esito positivo per *Eimeria* (OR=3.4, IC 95%: 1.36 – 8.53).

### CONCLUSIONI

Dai risultati ottenuti si evince che la presenza del *Mycoplasma iowae* nel settore tacchino da carne sembra avere un impatto sulle *performance* produttive. Inoltre le lesioni riscontrate a carico degli arti inferiori così come la presenza di coccidi sembra avere un valore prognostico piuttosto importante nell'avanzare un sospetto di infezione da MI.

La presenza di una correlazione statistica tra MI e coccidi a livello intestinale, può essere interpretata con una alterazione dell'ambiente intestinale che favorisce la colonizzazione dei coccidi. Infine è possibile ipotizzare che la presenza dell'infezione intestinale da MI possa alterare anche le funzioni di questo delicato organo, determinando le alterazioni di sviluppo osseo che si possono manifestarsi con le tipiche deformazioni degli arti inferiori.

### BIBLIOGRAFIA

1. Battanoli G., Brustolin M., Bilato D., Gobbo F., Qualtieri K., McAuliffe and Catania S. Utilizzo della DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) per l'identificazione delle specie di micoplasmi in campo avicolo. XII Congresso Nazionale SIDILV. Genova 27-29 Ottobre 2010. pag 63-64.
2. Catania S, Gobbo F, Bilato D, Fincato A, Battanoli G, Iob L. Isolation of *Mycoplasma iowae* in commercial turkey flocks. *Vet Rec.* 2012 Jan;170(4):107-8.
3. Ley D.H., Marusak R.A., Vivas E.J., Barnes H.J., Fletcher O.J. (2010). *Mycoplasma iowae* associated with chondrodystrophy in commercial turkeys. *Avian Pathol.* Apr; 39 (2): 87-93. Erratum in: *Avian Pathol.* 2010 Aug; 39 (4): 307.
4. Trampel DW, Goll F Jr. Outbreak of *Mycoplasma iowae* infection in commercial turkey poults. *Avian Dis.* 1994 Oct-Dec;38(4):905-9.

*Il presente lavoro è stato sviluppato nell'ambito della Ricerca Corrente IZSVE 15/10 "Le micoplasmosi nel settore avicolo industriale: studio e messa a punto di nuove metodiche e protocolli diagnostici al fine di valutare e studiare il differente ruolo dei ceppi circolanti tra le differenti tipologie di produzioni avicole."*

### INFEZIONE DA *CIRCOVIRUS* NELLA GRU CORONATA (*BALEARICA REGULORUM*). CARATTERIZZAZIONE GENOMICA DEL VIRUS IDENTIFICATO

Circella E., Caroli A., Legretto M., Pugliese N., Marino M., Camarda A.

*Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", S. P. per Casamassima km. 3, 70010, Valenzano, Bari.*

### ABSTRACT

*Circovirus*, famiglia *Circoviridae*, è un virus privo di envelope, a DNA circolare a singolo filamento (Niagro et al., 1998). Il suo genoma codifica per due proteine principali, replication associated protein (Rep) e coat protein (CP). È inoltre presente la regione ORF (open reading frame), la cui funzione non è stata ancora ben definita (Varsani et al., 2010).

Nei pappagalli, questo virus è ben noto e viene definito BFDV (Beak and Feather Disease Virus), in quanto causa una patologia denominata Malattia del becco e delle penne (Psittacine Beak and Feather Disease - PBFD), in quanto caratterizzata da anomalie a carico del piumaggio e del becco (Gerlach, 1994). La rilevanza di questa patologia è legata alla immunodepressione che si osserva nei soggetti colpiti, dovuta a deplezione dei tessuti linfoidi, in particolare timo e borsa di Fabrizio, che li predispone a frequenti infezioni secondarie di natura batterica e/o fungina (Katoh et al., 2010; Todd, 2004). Nei pappagalli, l'infezione da *circovirus* è stata identificata in più di 60 differenti specie di psittacidi e si ritiene abbia distribuzione pressochè mondiale (Todd, 2004; Cathedral-Ortiz et al. 2010). Tra le altre specie di volatili, *Circovirus* è stato identificato nei canarini (Todd et al., 2001; Rampin et al., 2006), nei piccioni (Mankertz et al. 2000; Todd et al. 2001; Duchatel et al., 2006; Todd et al. 2008), negli struzzi (Shivaprasad et al. 1993; Eisenberg et al. 2003), nelle oche (Todd et al. 2001; Chen et al. 2003) nelle anatre (Smyth et al., 2005), nel corvo australiano (Stewart et al. 2006) e nel diamante di Gould (Shivaprasad et al., 2004; Circella et al. 2014). In queste specie, gli effetti dell'infezione non sono ancora ben chiari. Analogamente, le manifestazioni cliniche descritte possono variare da caso a caso, anche a seconda della specie colpita. In questo lavoro, viene riportato il riscontro di *circovirus* in una gru coronata (*Balearica regulorum*).

Tale stipite è stato identificato in un esemplare di gru coronata adulto, asintomatico, che si trovava in un giardino zoologico del Sud Italia. Nella stessa struttura, sia pure in voliere differenti, erano presenti pappagalli appartenenti a specie diverse. Il virus è stato identificato mediante PCR utilizzando due protocolli diversi, con due differenti coppie di primers, *BFDV2/4* (Ypelaar et al., 1999) e *DCiVf/r* (Todd et al., 2001). Le PCR hanno permesso di amplificare due frammenti, del peso molecolare atteso rispettivamente di 700 bp e 550 bp. L'analisi delle sequenze corrispondenti ai frammenti ottenuti hanno confermato l'identificazione di *circovirus*, che è stato denominato IT82. Il genoma completo del virus è stato poi amplificato e sequenziato per l'analisi filogenetica del virus identificato.

La sequenza ottenuta è stata comparata inizialmente con quelle corrispondenti ai genomi completi di *circovirus* identificati presso il Dipartimento di