

VACCINAZIONE CON CEPPA TERMOSENSIBILE DI *MYCOPLASMA SYNOVIAE* IN UN GRUPPO DI POLLI RIPRODUTTORI PESANTI: DATI PRELIMINARI

Catania S.¹, Moronato M. L.^{1,2}, Fasoli P.³, Facchetti G.³, Rodio S.¹, Gobbo F.^{1,2}

¹ *Laboratorio di Medicina Aviare. Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Viale dell'Università 10, 35020 Legnaro (PD) Italy, e-mail: scatania@izsvenezie.it*

² *Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute (MAPS) Università degli Studi di Padova, Agripolis - Viale dell'Università, 16 - 35020 Legnaro (PD).*

³ *Gruppo Crescenti Passirano (BS)*

Summary

Mycoplasma synoviae (MS) is considered an important poultry pathogen. Its pathogenic activities can cause economic losses in all the poultry production sectors and categories. Up to now the containment strategy is based on the maintenance of breeders' MS free status in order to avoid the spread of MS by vertical transmission. However many new outbreaks still occur either in meat or layer sectors, demonstrating the maintenance of this pathogen in our area.

Recently, a new thermosusceptible live vaccine has been introduced in the Italian market. In this study the behavior of this vaccine is investigated through the application of its specific plan to a broiler breeder group. Basing on our results, MS-H vaccinal strain has a high level of invasiveness inside the vaccinated group and it shows a high persistence during the time.

The contribution of several laboratory tests could be helpful in the discrimination of vaccinated groups from the infected one, even if the procedures are labor intensive and time consuming.

INTRODUZIONE

Il *Mycoplasma synoviae* (MS) è uno dei micoplasmi considerati patogeni per le specie avicole di interesse industriale, con importanti ripercussioni in termini produttivi. La trasmissione del patogeno può avvenire sia orizzontalmente (diffusione del patogeno tra animali/gruppi infetti) che verticalmente (trasmissione alla progenie attraverso l'uovo). Come per tutti i patogeni che hanno ripercussioni negative sulle *performances* zootecniche, diverse e svariate sono le misure che possono permettere un contenimento o mitigamento della problematica; tra queste possiamo ricordare la costituzione e il mantenimento dei gruppi di riproduttori MS-free, il trattamento antibiotico mirato in caso di infezione e recentemente anche la vaccinazione mediante un vaccino vivo allestito con un ceppo termosensibile.

La recente introduzione del vaccino ha naturalmente stimolato alcune domande sia dal punto di vista laboratoristico, che sul suo comportamento in campo. In particolare dal punto di vista diagnostico la differenziazione tra ceppi di campo "wild" e ceppi vaccinali rappresenta una sfida interessante, mentre conoscere un po' più in dettaglio i comportamenti del ceppo vaccinale in campo risulta essere molto utile per l'interpretazione dei dati analitici e quindi anche per la definizione dello stato

sanitario del gruppo.

Negli ultimi anni la possibilità di differenziare genotipicamente i ceppi di MS è stata applicata da differenti laboratori attraverso una metodica di PCR per il gene denominato *vlhA* (*Variable Lipoprotein Hemagglutinin A*), inoltre recentemente altri geni del patogeno sono stati indagati per meglio differenziare i ceppi vaccinali.

Scopo del presente lavoro è stato quello di monitorare un allevamento di riproduttori pesanti vaccinati con il ceppo termosensibile (MS-H) tramite indagine laboratoristiche sulla progenie ed eventualmente confermare che tale ceppo non è soggetto a trasmissione verticale.

A tal fine sono stati valutati diversi parametri come la sua stabilità genotipica e il mantenimento dello stesso all'interno dell'allevamento in funzione del tempo, e la risposta sierologica degli animali.

MATERIALI E METODI

Un allevamento di riproduttori pesanti costituito da 6 capannoni in cui sarebbero stati accasati animali vaccinati è stato oggetto del seguente studio. I riproduttori appartenevano a due genetiche distinte ed in particolare Ross 308 e Cobb 500. Gli animali provenivano da un unico allevamento, fase pollastra in cui gli stessi erano suddivisi in 5 gruppi differenti.

Il campionamento in fase di pollastra (5 gruppi) ha previsto, pochi giorni prima della vaccinazione effettuata secondo le indicazioni del produttore, il prelievo di tamponi tracheali per l'esecuzione PCR MS (30 tamponi per capannone) e di campioni di sangue (30 per capannone) per l'esecuzione di ELISA e SAR per MS. Mentre il campionamento in fase di produzione prevedeva il prelievo di tamponi tracheali (10 per capannone) per PCR MS e di campioni di sangue (almeno 20 per capannone) per metodica ELISA e SAR, questi sono stati effettuati nelle settimane 25, 30, 38, 44, 49, 54, 60.

Inoltre, 30 uova scarto schiusa per capannone sono state processate mediante PCR per MS alle settimane 30, 40, 44, 49, 54, 60. Il sangue di pulcini di 1 giorno è stato valutato mediante metodica ELISA, le uova che avevano generato tali pulcini erano state deposte durante le settimane 41, 46 e 51.

A fine ciclo 10 carcasse per ogni gruppo sono state conferite al laboratorio di Medicina Aviare dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie per esame necroscopico e campionamento mirato per la diagnosi di MS.

Nello specifico tamponi tracheali, oviduttali o matrici biologiche presentanti lesioni riferibili ad infezione da *Mycoplasma synoviae* sono stati collezionati e destinati all'isolamento micoplasmi tramite metodica microbiologica e ricerca MS in PCR.

L'identificazione di specie degli isolati è avvenuta tramite metodica 16S-PCR-DGGE (*Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*).

I campioni risultati positivi per MS, sono stati ulteriormente testati con metodica biomolecolare per il gene *vlhA*, al fine di classificarli mediante il sequenziamento del suddetto gene.

RISULTATI

I campioni effettuati alcuni giorni prima della vaccinazione hanno dato esito negati-

vo, mentre i campionamenti effettuati in fase di produzione hanno mostrato durante tutto il periodo di controllo una continua positività in PCR MS e parallelamente la sierologia ha mostrato positività sia in SAR che in ELISA.

In particolare la positività riscontrata in ELISA è stata sempre superiore al 70% dei campioni esaminati durante il periodo di controllo, solamente nel prelievo della 30^a settimana abbiamo riscontrato una positività del 100% dei campioni esaminati.

Gli esami effettuati sulle uova scarto schiusa collezionate hanno sempre dato risultato negativo.

Infine sulle carcasse, a fine ciclo, abbiamo riscontrato positività in PCR da tutti i campioni tracheali analizzati, mentre i campioni oviduttali sono risultati negativi per MS. In isolamento è stata riscontrata positività a *Mycoplasma synoviae* da trachea in tutti i capannoni.

In un soggetto del capannone 2, dove è stata rilevata la presenza di bursite sternale, abbiamo dimostrato mediante PCR la presenza di MS in questa sede.

Il sequenziamento del gene *vlhA* ha rilevato omologia con il ceppo MS-H in tutti i campioni analizzati ad eccezione di 2 campioni dove è stata riscontrata una sequenza nucleotidica che differisce per una delezione (39 nucleotidi) nel tratto PRR del gene.

Conclusioni

Il presente studio ha permesso di meglio capire il comportamento del ceppo vaccinale in un allevamento di polli riproduttori pesanti. In particolare abbiamo notato un elevato potere di diffusione del ceppo termosensibile, confermato dalla continua positività in PCR durante tutto il periodo produttivo. Inoltre il ceppo vaccinale in questione presenta anche un'elevata capacità di persistenza dimostrata dalla possibilità di isolamento dello stesso in animali a fine ciclo. Il ceppo vaccinale non sembra tuttavia avere capacità di diffusione a carico del distretto oviduttale, dato confermato anche dalla negatività rilevata nei campioni di uova scarto schiusa durante tutto il periodo di monitoraggio. Dal punto di vista sierologico si è potuta riscontrare una sieroconversione in almeno il 70% dei soggetti, inoltre dalle prove ELISA effettuate nella progenie ad 1 giorno di vita gli anticorpi anti-MS risultano rilevabili.

Le analisi biomolecolari per la genotipizzazione dei ceppi isolati hanno evidenziato e permesso di classificarli come genotipo C3, che risulta essere lo stesso genotipo del ceppo vaccinale utilizzato, ad eccezione di 2 campioni in cui abbiamo riscontrato una sequenza differente, evidenziando un possibile riarrangiamento del segmento genico studiato.

In conclusione, sebbene siano dati preliminari si nota come tale ceppo vaccinale mostri un'ampia diffusione e mantenimento nel gruppo e induca una evidente sieroconversione dei soggetti. La trasmissione mediante uova non è stata dimostrata ed infine abbiamo riscontrato 2 campioni con genotipo *vlhA* differente da quello caratterizzante il ceppo vaccinale.

Anche se non particolarmente semplice dal punto di vista laboratoristico, potrebbe essere possibile nella maggior parte dei casi insistenti nel nostro territorio differenziare gruppi vaccinati da gruppi infetti con MS di campo.