

## POSSIBILE STRATEGIA DI CONTENIMENTO DEL *MYCOPLASMA SYNOVIAE* IN UN GRUPPO DI RIPRODUTTORI PESANTI

Gobbo F.<sup>1,2</sup>, Moronato M.L.<sup>1,2</sup>, Flaminio B.<sup>1</sup>, Boscarato M.<sup>1</sup>, Santone C.<sup>1</sup>, Catania S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, SCTI - Laboratorio di Medicina Aviaria, Unità Operativa Micoplasmi, Viale dell'Università, 10, 35020, Legnaro, Padova (PD)*

<sup>2</sup>*Università degli Studi di Padova, Viale dell'Università, 16, 35020, Legnaro, Padova (PD), MAPS – Dipartimento di Medicina Animale, Produzione e Salute.*

### Summary

*Mycoplasma synoviae* (MS) is an important pathogen for the poultry sector causing economic losses in the different poultry categories, moreover its presence in Italy and in European countries is considered high. Like for other important poultry mycoplasmas the maintenance of mycoplasma-free breeders and culling of infected birds is considered the best control method. This approach is the best solution in the last phase of an eradication program where the prevalence of the pathogens is low, whereas if prevalence is high this approach could not be economical so different strategies should be adopted to stop or contain the transmission of MS. The aim of this study was to evaluate a specific program to control MS infection in a early detected MS positive breeder flock through pulsatile treatment with tylosin during the cycle of life. The MS isolate susceptibility to tylosin was monitored via MIC calculation (*Minimum Inhibitory Concentration*) at the beginning of the outbreak and at the end of the production cycle. Antibiotic treatment provide a useful tool for the containment of the spread of infection in the different houses of the farm and provided good production performance in the treated flocks. Then the MIC data suggest that the antibiotic treatment did not generate a selective pressure compromising the susceptibility of the MS isolate to this drug.

### INTRODUZIONE

*Mycoplasma synoviae* (MS) è considerato un patogeno della specie pollo, tacchino e delle specie minori allevate a fini industriali. La sua prevalenza nel territorio comunitario e nazionale è elevata, con conseguenti importanti ricadute economiche nei vari settori produttivi. Per tale motivo abbiamo assistito negli anni ad una maggiore consapevolezza della problematica con conseguente maggiore attenzione nella prevenzione e controllo di questo patogeno. La trasmissione di MS, come per altri importanti micoplasmi del settore avicolo industriale (*Mycoplasma gallisepticum*, *meleagridis* e *iowae*), può avvenire sia per via verticale che orizzontale. Storicamente il controllo di questi patogeni nel sistema avicolo si basava sulla formazione ed il mantenimento di gruppi *PPLO-free* (*Pleuropneumoniae like organism*). Tali misure si sono dimostrate efficaci nella riduzione della prevalenza per MI ed MM ed anche seppur con differenze geografiche per MG. Mentre sembrerebbe almeno sulla base delle prevalenze attuali, che per MS tali misure non siano state totalmente efficaci. Tale discrepanza potrebbe essere ascritta ad alcune particolarità del patogeno (biologiche ed epidemiologiche) ma con molta probabilità la causa è da ricercare in un

approccio meno attento alla problematica del settore produttivo, dato che per diversi decenni è stato considerato un patogeno minore almeno per il settore ovaioia ed il pollo da carne. Negli ultimi anni il suo impatto zootecnico è stato rivalutato anche in funzione del fatto di una nuova forma clinica nel settore della gallina ovaioia. La scelta della strategia di controllo delle micoplasmosi respiratorie può includere diversi approcci: eradicazione, depopolamento, compartimentalizzazione, biosicurezza, profilassi indiretta (vaccinazione), terapia antibiotica mirata, ma anche un insieme coordinato e strutturato dei diversi sistemi appena riportati. Non esiste una regola su quale misura adottare e tale decisione dovrebbe essere presa in funzione della situazione epidemiologica, della realtà produttiva o di altri fattori di natura commerciale. Nel presente studio si riportano i risultati dell'approccio antibiotico, tramite trattamento pulsatile con il macrolide tilosina, in un gruppo di riproduttori pesanti positivi per *Mycoplasma synoviae*.

## **MATERIALI E METODI**

Durante il consueto monitoraggio bimensile per MS e MG di un gruppo di riproduttori pesanti tramite ricerca in PCR da tamponi tracheali, collezionati in numero di 10 per capannone, si è evidenziata una positività per *Mycoplasma synoviae* in uno (cap. A) dei 5 capannoni testati (A, B, C, D, E) (40 settimane di età). Si è quindi provveduto ad effettuare immediatamente un campionamento aggiuntivo nel capannone positivo per l'isolamento colturale del ceppo circolante di MS e per effettuare lo studio di antibiotico suscettibilità tramite metodica MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*). Nel frattempo si è deciso di iniziare tempestivamente un trattamento mirato di attacco a base di tilosina (50g/hL) nel capannone in oggetto e in quello limitrofo (capannone A e capannone B); la scelta di tale farmaco è avvenuta utilizzando dei dati MIC su base storica per MS in possesso presso il laboratorio di Medicina Aviare dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie. Parallelamente, in azienda sono state implementate le misure di biosicurezza per contenere la diffusione dell'infezione negli altri capannoni. Una volta effettuato l'isolamento del ceppo circolante ed eseguita la MIC con metodo delle microdiluzioni in brodo è stata confermata la suscettibilità al farmaco utilizzato e si è quindi proseguito con il trattamento pulsatile (50g/hL per 3 giorni ogni due settimane) per tutta la durata del ciclo produttivo. Tutti i 5 capannoni sono stati monitorati ogni 15 giorni per l'intero ciclo produttivo per evidenziare una eventuale diffusione del patogeno MS tramite metodiche di PCR e sierologiche (ELISA). A fine ciclo (62 settimane) si è provveduto a campionare un nuovo isolato batterico per effettuare il test MIC e valutare i valori di antibiotico suscettibilità.

## **RISULTATI**

La rottura da *Mycoplasma synoviae* si è instaurata nel capannone A a 40 settimane di vita con sieroconversione dopo 3 settimane, i capannoni limitrofi (capannone B e C) si sono positivizzati per MS a 45 settimane, il capannone D a 51 settimane ed infine il capannone E a 54 settimane. La valutazione dei titoli anticorpali per MS tramite metodica ELISA nei diversi capannoni ha dimostrato alti titoli nel capannone A (fino 1:23271) e titoli ben più bassi negli altri capannoni (media 1: 2000-1:6000). Il monitoraggio bimensile per *Mycoplasma gallisepticum* ha escluso la presenza di questo patogeno nell'intero ciclo produttivo. La valutazione dell'antibiotico suscettibilità

dell'isolato al momento della rottura (isolato MS T<sub>0</sub>) e dell'isolato a fine ciclo (isolato MS T<sub>f</sub>) presenti in tab. 1 dimostrano la conservata suscettibilità dei due isolati al macrolide tilosina se comparati con i *breakpoint* disponibili (S= $\leq$ 1  $\mu$ g/ML, I= $\leq$ 2  $\mu$ g/ML, R= $\geq$ 4  $\mu$ g/ML, Hannan *et al.*, 1997).

**Tab. 1** (valori di MIC espressi in  $\mu$ g/ML per le diverse molecole antibiotiche testate)

Farmaco	Doxiciclina	Enrofloxacin	Eritromicina	Florfenicolo	Lincomicina	Ossitetraciclina
<b>Isolato MS T<sub>0</sub></b>	0,50	>16	>8	<0,5	<0,5	1,00
<b>Isolato MS T<sub>f</sub></b>	0,50	>16	>8	2,00	1,00	1,00
	<b>Spiramicina</b>	<b>Tiamulina</b>	<b>Tilmicosina</b>	<b>Tilosina</b>		
<b>Isolato MS T<sub>0</sub></b>	<0,5	0,25	2,00	<b>0,125</b>		
<b>Isolato MS T<sub>f</sub></b>	1,00	0,50	8,00	<b>0,25</b>		

Si segnala inoltre che i dati di produzione del ciclo (N° uova/gallina accasata, N° uova incubabili, schiusa media, N° pulcini/gallina accasata, ecc. ecc.) sono risultati in linea con gli *standard* di riferimento e considerati migliori rispetto a gruppi di cicli precedenti MS-free, inoltre non si sono evidenziate problematiche riferibili ad MS nella progenie. La mortalità cumulativa a fine ciclo nel gruppo di riproduttori si è attestata al 7%.

#### Conclusioni e discussione

L'implementazione delle misure di biosicurezza/gestionali ed il controllo dell'infezione tramite trattamento pulsatile con tilosina, a nostro parere ha consentito una diminuzione della carica infettante limitando la diffusione del patogeno negli altri comparti dell'allevamento (dati supportati dalla tempistica di positivizzazione e dai titoli sierologici), il penultimo (D) e l'ultimo capannone (E) si sono positivizzati rispettivamente 11 e 14 settimane dopo la rottura nel capannone A. La diagnosi precoce (importanza del monitoraggio costante e ad intervalli brevi) associato al tempestivo intervento terapeutico ha consentito di contenere l'infezione nell'allevamento e di mimare un'infezione controllata senza generare l'insorgenza di fenomeni di antibiotico-resistenza (AR) nei confronti del macrolide testato. I gruppi trattati hanno mostrato buone *performances* produttive e non si sono segnalate problematiche riferibili ad MS nella progenie. Il trattamento antibiotico nella categoria dei riproduttori può, in funzione della situazione epidemiologica del territorio o delle specifiche necessità del produttore, essere un utile mezzo per il controllo dell'infezione di MS,

se supportato nel tempo da valutazione dell'efficacia terapeutica tramite metodiche capaci di monitorare il mantenimento dell'antibiotico-sensibilità nei ceppi di interesse. Inoltre come è facile intuire trattare animali all'apice della piramide (riproduttori) permette in caso di impossibilità, per qualsivoglia motivo, dell'eliminazione del gruppo infetto di contenere il rischio di trasmissione del patogeno alla linea da produzione (carne o uova), riducendo conseguentemente nel settore carne trattamenti antibiotici per patologie secondarie alla micoplasmosi, e quindi nella bilancia finale di filiera una riduzione dell'utilizzo dei farmaci. Tale tipologia di approccio necessita sicuramente di ulteriori approfondimenti e conferme, dato che l'utilizzo anche prudente e ponderato dei farmaci in questa particolare fase storica, non sembra essere sempre del tutto compreso.

## **BIBLIOGRAFIA**

S.H. Kleven & N. Ferguson-Noel (2008). *Mycoplasma synoviae* infection. *Disease of Poultry* 12 th Ed., 845-856

Anneke Feberwee , Tjep S. de Vries & Wil J. M. Landman (2008). Seroprevalence of *Mycoplasma synoviae* in Dutch commercial poultry farms, *Avian Pathology*, 37:6, 629-633, DOI: 10.1080/03079450802484987

Salvatore Catania, Dania Bilato, Federica Gobbo, Anna Granato, Calogero Terregino, Luciano Iob and Robin A. J. Nicholas. Treatment of Eggshell Abnormalities and Reduced Egg production Caused by *Mycoplasma synoviae* Infection. *Avian Diseases* 54:961-964, 2010

Catania Salvatore, Gobbo Federica, Fincato Alice, Kasic Tihana, Flaminio Barbara, Iob Luciano. Poster: Evaluation of MIC (Minimum Inhibitory Concentration) of 40 field strains of *Mycoplasma synoviae* isolated in EU. Book of Abstracts of XVIIth Congress of WVPA World Veterinary poultry Association, 19-23 August 2013, Nantes, France. Pag. 243

Catania S. e Gobbo F.. Diagnostica applicata alle micoplasmosi. Seminario in Epidemiologia e controllo delle micoplasmosi animali: buone pratiche di vaccinazione e terapia, Centro Congressi IZO, 5-6 Marzo 2014, Pavia, Italia. Pag. 12

Flaminio B, Fincato A., Sturaro A., Santone C., Gobbo F., Catania S.. Minimum Inhibitory Concentration of mycoplasma species: a chance for a practitioner, a challenge for the laboratorist. 3rd EAVLD Congress, Pisa 12th-15th October 2014. Pag. 36

Landman WJ., Is *Mycoplasma synoviae* outrunning *Mycoplasma gallisepticum*? A viewpoint from the Netherlands. *Avian Pathol.* 2014;43(1):2-8. doi: 10.1080/03079457.2014.881049.