

INFEZIONE SPERIMENTALE CON *METAPNEUMOVIRUS* AVIARE E *MYCOPLASMA SYNOVIAE* IN POLLI DA CARNE: RISULTATI PRELIMINARI

Moronato M.L.^{1,2}, Gobbo F.^{2,1}, Mainenti M.¹, Franzo G.², Cecchinato M.², Catelli E.³, Catania S.¹, Martini M.²

¹Università degli Studi di Padova, Viale dell'Università, 16, 35020, Legnaro, Padova (PD), MAPS – Dipartimento di Medicina Animale, Produzione e Salute.

²Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, SCTL - Laboratorio di Medicina Aviaria, Unità Operativa Micoplasmi, Viale dell'Università, 10, 35020, Legnaro, Padova (PD)

³Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Via Tolara di Sopra, 50 - 40064 Ozzano dell'Emilia (BO) - Italia

Summary

Avian *Metapneumovirus* is a respiratory pathogen causing the *Turkey Rhinotracheitis* (TRT). It is associated to the *Swollen Head Syndrome* in broilers, but its role as primary respiratory pathogen in this host is nowadays not completely defined. *Mycoplasma synoviae* is a respiratory bacterial pathogen whose importance increased in the last few years. The greater relevance of aMPV and MS in the poultry sector and the lack of experimental studies regarding their co-infection in broilers led to this infection model for the reproduction of clinical respiratory disease.

The preliminary results evidenced by the clinical and laboratory investigations suggests the possible synergic interaction between aMPV and MS.

INTRODUZIONE

Il *Metapneumovirus* aviare (aMPV) è l'agente eziologico della rinotracheite del tacchino, una patologia acuta di tipo respiratorio caratterizzata da elevata morbilità e bassa mortalità (1). Nel pollo informazioni provenienti dal campo, testimoniano un aumento delle forme cliniche respiratorie correlabili ad aMPV, tuttavia il ruolo del virus come agente patogeno primario è ancora oggi meno definito in questa specie (2). *Mycoplasma synoviae* (MS) è un patogeno aviare responsabile di diverse forme cliniche tra le quali forme respiratorie, sinovite infettiva (3) e nella gallina ovaia di una sindrome chiamata "*Eggshell Apex Abnormalities*" (4). L'importanza di MS, in passato considerata minore rispetto a *Mycoplasma gallisepticum* (MG), è stata recentemente rivalutata sia a livello nazionale che europeo (5).

La percezione di un aumento nella prevalenza di entrambi i patogeni nel pollo e l'assenza di studi sperimentali in questa specie hanno portato alla stesura del presente studio.

L'obiettivo è quello di riprodurre sperimentalmente l'infezione respiratoria da *Metapneumovirus* aviare e *Mycoplasma synoviae* nel pollo da carne, mimando il più possibile le condizioni di campo, sia per i tempi che per le modalità di infezione. E' stato quindi valutato il possibile effetto sinergico tra i due patogeni, attraverso l'analisi dei risultati clinici, necroscopici e laboratoristici dei diffe-

renti gruppi sperimentali. Nel presente lavoro si riportano i dati preliminari ad oggi disponibili.

MATERIALI E METODI

Per la prova sperimentale sono stati utilizzati 160 polli da ingrasso di 1 giorno di vita separati a random in 4 gruppi e stabulati nel rispetto delle comuni condizioni di benessere animale per tutta la durata della prova (35 giorni).

Sia il giorno dell'arrivo che prima dell'inoculazione sperimentale 10 soggetti per isolatore sono stati controllati per aMPV, MS ed MG tramite sierologia e real-time PCR. L'infezione virale è avvenuta a 15 giorni di vita (isolatore A e B) inoculando *Metapneumovirus*, sottotipo B, isolato da pollo con sintomatologia respiratoria per via oculo-nasale. Gli animali appartenenti ai gruppi B e C hanno ricevuto a 18 giorni di vita l'inoculo di *Mycoplasma synoviae* per la medesima via di somministrazione. Gli animali appartenenti al gruppo controllo hanno ricevuto le medesime manipolazioni e l'inoculo di MEM sterile e brodocoltura sterile per micoplasma. Il gruppo/isolatore A presentava animali infettati con aMPV, il gruppo/isolatore B animali infettati con aMPV ed MS, il gruppo/isolatore C animali infettati con MS ed infine il gruppo/isolatore E animali controllo negativo.

Gli animali sono stati esaminati quotidianamente e per tutta la durata della prova e l'eventuale forma clinica è stata classificata secondo un sistema di *clinical score* con particolare attenzione nei confronti dell'apparato respiratorio.

A partire dal giorno 18 di vita si è proceduto al prelievo ematico e al sacrificio di 5 animali per ciascun gruppo, selezionati a random, secondo cadenze regolari: 18, 20, 22, 25, 30 e 35 giorni di vita. I soggetti sacrificati sono stati sottoposti ad esame autoptico completo e a classificazione delle lesioni anatomico-patologiche riscontrate secondo un sistema a punteggio. In sede autoptica si è proceduto ad effettuare i campionamenti per l'esecuzione delle analisi real-time PCR aMPV e real-time PCR MS da organi target dell'apparato respiratorio (turbinati nasali, congiuntiva, trachea, sacchi aerei, polmoni) e da altri quali milza, rene, tonsille cecali, cervello, cloaca.

RISULTATI

In seguito all'inoculo oculo-nasale gli animali hanno mostrato sierconversione verso entrambi i patogeni.

I principali sintomi riscontrati nel corso della prova sperimentale sono stati edema peri-palpebrale, fame d'aria, testa gonfia, congiuntivite, depressione/letargia, respirazione difficoltosa e scolo nasale. Non è stata evidenziata mortalità in nessun isolatore.

Per quanto concerne le lesioni macroscopiche dell'apparato respiratorio i soggetti appartenenti al gruppo A (aMPV) hanno mostrato complessivamente il maggior numero di lesioni a carico della congiuntiva, seguiti dal gruppo B (aMPV+MS) ed infine il gruppo C (MS). A carico dei turbinati nasali il gruppo B (aMPV+MS) ha evidenziato il maggior numero di lesioni. A carico della trachea il maggior numero di lesioni è stato identificato nel gruppo B (aMPV+MS), seguito dal gruppo C (MS) ed infine dall'A (aMPV).

Si riportano nella Tabella 1 i risultati delle PCR aMPV e MS (numero di soggetti positivi/esaminati) nei diversi isolatori (A, B, C) distinti per organo nel tempo.

Tabella 1		MOMENTO PRELIEVO												
ISOLATORE	ORGANO	18 gg di vita			20 gg di vita		22 gg di vita		25 gg di vita		29 gg di vita		35 gg di vita	
		aMPV	aMPV	MS	aMPV	MS	aMPV	MS	aMPV	MS	aMPV	MS	aMPV	MS
A (aMPV)	Turbinati	5/5	5/5	n.d.	4/5	n.d.	1/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.
	Trachea	4/5	5/5	n.d.	5/5	n.d.	1/5	n.d.	0/5	n.d.	2/5	n.d.		
	Congiuntiva	5/5	5/5	n.d.	3/5	n.d.	1/5	n.d.	1/5	n.d.	0/5	n.d.		
	Sacco aereo	1/5	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.		
	Polmone	0/5	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	1/5	n.d.		
	Milza	1/5	2/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.		
	Rene	1/5	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.		
	Tonsille	0/5	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.		
	Cloaca	0/5	3/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.		
Cervello	0/5	1/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.			
B (aMPV + MS)	Turbinati	5/5	5/5	5/5	5/5	4/5	4/5	4/5	1/5	5/5	3/5	5/5		
	Trachea	2/5	5/5	5/5	4/5	3/5	2/5	5/5	0/5	5/5	0/5	5/5		
	Congiuntiva	3/5	5/5	5/5	3/5	5/5	1/5	5/5	0/5	5/5	0/5	5/5		
	Sacco aereo	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5	0/5	1/5		
	Polmone	0/5	1/5	1/5	0/5	1/5	0/5	4/5	0/5	3/5	0/5	3/5		
	Milza	0/5	2/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	4/5		
	Rene	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	5/5		
	Tonsille	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5		
	Cloaca	0/5	0/5	0/5	2/5	0/5	0/5	0/5	0/5	4/5	0/5	0/5		
Cervello	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5	0/5	3/5	0/5	1/5			
C (MS)	Turbinati	n.d.	n.d.	5/5	n.d.	0/5	n.d.	5/5	n.d.	5/5	n.d.	5/5		
	Trachea	n.d.	n.d.	4/5	n.d.	0/5	n.d.	5/5	n.d.	5/5	n.d.	5/5		
	Congiuntiva	n.d.	n.d.	5/5	n.d.	5/5	n.d.	5/5	n.d.	5/5	n.d.	5/5		
	Sacco aereo	n.d.	n.d.	0/5	n.d.	1/5	n.d.	1/5	n.d.	1/5	n.d.	3/5		
	Polmone	n.d.	n.d.	2/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	3/5	n.d.	2/5		
	Milza	n.d.	n.d.	1/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5		
	Rene	n.d.	n.d.	0/5	n.d.	1/5	n.d.	0/5	n.d.	5/5	n.d.	0/5		
	Tonsille	n.d.	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	1/5	n.d.	0/5		
	Cloaca	n.d.	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	0/5	n.d.	3/5	n.d.	0/5		
Cervello	n.d.	n.d.	0/5	n.d.	2/5	n.d.	0/5	n.d.	2/5	n.d.	0/5			
n.d. = not done														

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Il presente studio sperimentale è stato diretto a riprodurre l'infezione da aMPV ed MS, in qualità di agenti singoli ed in co-infezione in broiler. Il disegno sperimentale ha mimato il più possibile le condizioni di campo tramite la scelta della tempistica e delle modalità di infezione, discostandosi dalla maggior parte degli studi presenti in bibliografia.

A differenza di quanto evidenziato nel gruppo a singola infezione, gli animali del gruppo co-infetto hanno mantenuto la positività in PCR aMPV da turbinati nasali per tutta la durata della prova. Inoltre, sia nel gruppo B che nel gruppo C c'è stata un'ampia diffusione di MS testimoniata dalla positività in PCR da milza, polmone, cervello, cloaca, sacco aereo e tonsille cecali. Tuttavia, solo nel gruppo co-infetto la PCR MS è risultata positiva da rene e il numero di soggetti con PCR positiva dai diversi organi è risultato superiore a quanto evidenziato nel gruppo C.

I dati preliminari ad oggi disponibili suggeriscono la possibile presenza di un effetto sinergico tra aMPV e MS nella specie pollo. L'interazione tra i due agenti patogeni potrebbe essere supportata da una maggiore diffusione sistemica, una prolungata positività post-infezione e un numero maggiore di animali positivi nel gruppo co-infetto se paragonato a quelli a singola infezione.

BIBLIOGRAFIA

1. R.E. Gough & R.C. Jones (2008). Avian Metapneumovirus. *Disease of Poultry* 12th Ed., 100-110.
2. J.K.A. Cook (2000). Avian Pneumovirus infection of turkeys and chickens. *The Veterinary Journal*, 160, 118-125.
3. 1. Kleven S.H and Ferguson-Noel N. Mycoplasma synoviae infection. Chapter 21, Mycoplasmosis. In: *Disease of poultry* 13th Edition, Swayne David E. Blackwell publishing.
4. Catania S., Bilato D., Gobbo F., Granato A., Terregino C., Iob L., Nicholas R.A. 2010. Treatment of eggshell abnormalities and reduced egg production caused by Mycoplasma synoviae infection. *Avian diseases*, 54(2):961-4.
5. Landman WJ. (2014). Is Mycoplasma synoviae outrunning Mycoplasma gallisepticum? A viewpoint from the Netherlands. *Avian Pathol.*;43(1):2-8. doi: 10.1080/03079457.2014.881049.