

ADENOVIRUS DI TIPO II IN FARAONE CON SPLENITE ED ENTERITE EMORRAGICA. CASO CLINICO

Mainenti M.¹, Dall'Angelo A.², Zanardello C.¹, Moronato M.L.¹, Catania S.¹, Terregino C.¹

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie - Viale dell'Università 10, 35020, Legnaro (PD)

² Società Cooperativa Agricola San Martino SCARL - Via Sommacampagna 63/H, 37137, Verona (VR)

Summary

Avian Adenoviruses type II, belonging to the genus *Siadenovirus*, can cause severe diseases in poultry with different clinical and pathological manifestations among species (hemorrhagic enteritis in turkeys, marble spleen disease in pheasants and splenomegaly in chickens). Guinea fowls have been reported to be susceptible to Adenovirus type II infection and also in Italy outbreaks were reported in the early 90ies. In this paper, we report a recent case occurred in Veneto region in 52-day-old commercial guinea fowls with sudden increase in mortality, splenitis and hemorrhagic enteritis. Diagnostic tools available for turkey hemorrhagic enteritis virus (rRT-PCR and ELISA) were used and resulted positive, as well as an adenovirus different from FAdV was successfully isolated from spleen samples in CEL cells. Further studies aimed to genetically characterize the virus and understand the source of infection are ongoing.

INTRODUZIONE

All'interno del gruppo Adenovirus di tipo II o genere *Siadenovirus* vengono classificati virus aviari sierologicamente e genotipicamente molto simili tra loro che possono causare gravi patologie nel tacchino, fagiano e pollo, con manifestazioni cliniche e patologiche differenti a seconda della specie colpita (enterite emorragica del tacchino, *marble spleen disease* del fagiano, splenomegalia del pollo). A partire dagli anni '80 sono stati riportati alcuni casi di infezione naturale nella specie faraona (*Numida meleagris*) con lesioni macroscopiche ed istopatologiche in comune con la *marble spleen disease* (MSD) del fagiano e la splenomegalia del pollo, riprodotte in condizioni sperimentali mediante l'inoculo sia del virus del tacchino che quello del fagiano. In particolare in Italia, tali lesioni sono state riscontrate in diversi casi nei primi anni '90, in cui è stato inoltre evidenziato un *Adenovirus* in microscopia elettronica da milza e sieroconversione all'AGID test diretto all'antigene del virus dell'enterite emorragica del tacchino. Nonostante questi dati, la presenza di questa malattia nella faraona e la natura dell'infezione sono ancora poco conosciute, inoltre non vi sono dati sulla possibile applicazione di metodiche diagnostiche rapide e sensibili recentemente sviluppate per le altre specie. Pertanto lo scopo del presente lavoro è quello di descrivere un caso di infezione di campo recentemente diagnosticato in un allevamento commerciale di faraone in Veneto (marzo 2017), caratterizzato dalla co-presenza di splenite ed enterite emorragica e in cui sono state applicate metodiche diagnostiche recentemente implementate per il virus dell'enterite emorragica del tacchino, quali *real time* RT-PCR (rRT-PCR) e ELISA.



MATERIALI E METODI

Nel mese di marzo del 2017, sono state consegnate all'IZSVe 5 carcasse di faraone femmine di 52 giorni di età provenienti da un allevamento commerciale di 12.000 faraone in Veneto, che aveva registrato negli ultimi 4-5 giorni una mortalità anomala di circa 20 soggetti al giorno in assenza di sintomatologia clinica. Gli animali erano stati vaccinati per Pseudopeste ad inizio ciclo e non avevano ricevuto trattamenti farmacologici. Ai fini diagnostici è stato eseguito l'esame anatomo-patologico su tutti i soggetti, parassitologico da gozzo e intestino, batteriologico da fegato e intestino, ricerca di sostanze inibenti, ricerca di *Campylobacter spp.*, esame istologico da milza, intestino, fegato, rene e pancreas, esame di microscopia elettronica da pancreas, rRT-PCR per il virus dell'enterite emorragica del tacchino e PCR per *Fowl Adenovirus* (FAdV) da pool di organi, rRT-PCR per influenza aviaria da tamponi tracheali e cloacali. Successivamente alla diagnosi, sono stati eseguiti ulteriori esami a scopo di approfondimento su 10 soggetti a 60 giorni di età e 10 campioni di sangue, tra cui ricerca anticorpi per il virus dell'enterite emorragica del tacchino con tecnica ELISA, isolamento virale da milza su uova embrionate e colture cellulari primarie di epatociti di embrione di polli SPF (CEL), esame in microscopia elettronica su milza, rRT-PCR per il virus dell'enterite emorragica del tacchino (HEV) su milza, esame istologico di organi aggiuntivi quali cuore, tonsille ciecali, muscolo pettorale, trachea, cervello, borsa di Fabrizio, timo, stomaco muscolare e stomaco ghiandolare.

RISULTATI

All'esame anatomo-patologico dei soggetti di 52 giorni di età si sono osservate alcune delle lesioni precedentemente descritte da Massi *et al.* (1995) quali emorragie petecchiali disseminate da lievi a gravi a carico della muscolatura dei muscoli pettorali, della coscia e delle sierose della cavità celomatica, moderata epatomegalia con grave congestione dell'organo, milza con aspetto pallido e variegato in tutti i soggetti. Inoltre erano presenti lieve splenomegalia, enterite a contenuto emorragico di un tratto focale del duodeno-digiuno, ascite e versamento pericardico in 2 soggetti, e pallore renale e del parenchima pancreatico in tutti i soggetti. Nei soggetti di 60 giorni di età si sono riscontrate le medesime lesioni macroscopiche sopradescritte, con minor gravità del quadro emorragico a livello muscolare e presenza in 1 soggetto di polisierosite fibrinosa. L'esame istopatologico ha permesso di evidenziare a sede splenica i caratteristici corpi inclusi intranucleari anfolilici a carico di alcune cellule linfocitarie e macrofagiche associati a un grave processo necrotico-emorragico. A sede intestinale si sono osservati necrosi della mucosa ed infiltrazione linfoplasmocitaria della lamina propria. Fegato e rene presentavano focolai multipli necrotico-emorragici ed i muscoli scheletrico e cardiaco multifocale congestione ed emorragie. L'esame in microscopia elettronica ha rilevato la presenza di particelle virali riferibili ad *Adenoviridae* in pancreas, milza e pool di organi. La diagnosi di Adenovirus di tipo II è stata confermata dalla positività alla rRT-PCR per HEV su milza e pool di organi e dalla positività sierologica alla metodica ELISA. Inoltre l'isolato da CEL è stato identificato come adenovirus in microscopia elettronica ed è risultato positivo alla rRT-PCR per HEV e negativo alla PCR per FAdV.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Il presente lavoro descrive un caso recente di infezione naturale di *Adenovirus* di tipo II in un allevamento commerciale di faraone di 52 giorni di età in Veneto. Rispetto alle infezioni naturali riportate in precedenza, nel presente caso non si è evidenziata alcuna sintomatologia clinica ma solamente un aumento della mortalità, anomalo per soggetti di questa età. In accordo con i casi riportati in Italia precedentemente da Massi e colleghi (1995), il quadro macroscopico preponderante era di tipo emorragico in particolare con gravi petecchie diffuse a carico dei muscoli scheletrici e delle sierose. In aggiunta a queste erano presenti lesioni simili a quelle presenti nelle infezioni da *Adenovirus* di tipo II nel tacchino e nel fagiano, quali enterite emorragica a carico del duodeno e digiuno, e splenomegalia con aspetto variegato del parenchima rispettivamente. Le metodiche di laboratorio per il virus dell'enterite emorragica del tacchino (rRT-PCR ed ELISA) utilizzate direttamente sugli organi con lesioni hanno dato esito positivo confermando un *Adenovirus* di tipo II come causa dell'infezione, e dimostrando la loro applicabilità nella diagnosi di questo tipo di virus anche nella specie faraona. È interessante notare come la faraona sia una specie recettiva a diversi altri patogeni del tacchino, come ad esempio alcuni ceppi di *Astrovirus* e *Mycoplasma meleagridis*, nonostante sia una specie distante dal tacchino sia dal punto di vista filogenetico che di areale geografico. Sorprendente è stato l'isolamento di questo virus in CEL sulle quali notoriamente i *Siadenovirus*, a cui appartengono i virus dell'HEV e dell'MSD, non crescono. Sono dunque necessari ulteriori approfondimenti sulle caratteristiche biologiche e genetiche del virus isolato per poterne valutare l'origine e le similitudini con virus responsabili di patologie simili in altre specie.

BIBLIOGRAFIA

- Capua I, Gough RE, Scaramozzino P, Lelli R, Gatti A. 1994. Isolation of an adenovirus from an ostrich (*Struthio camelus*) causing pancreatitis in experimentally infected guinea fowl (*Numida meleagris*). *Avian Dis.* 38(3):642-6.
- Catania S, Rodio S, Moronato ML, Ayling RD, Nicholas RAJ. 2014. Outbreak of disease associated with *Mycoplasma meleagridis* in a free-range mixed poultry farm. *Veterinary Record Case Reports* 2: e000107. doi: 10.1136/vetrecr-2014-000107
- Charlton BR, Bickford AA. 1995. Gross and histologic lesions of adenovirus group I in guinea fowl. *J Vet Diagn Invest.* 7(4):552-4.
- Cowen BS, Rothenbacher H, Schwartz LD, Braune MO, Owen RL. 1988. A case of acute pulmonary edema, splenomegaly, and ascites in guinea fowl. *Avian Dis.* 32(1):151-6.
- Eregae ME, Vaillancourt JP, Brugère-Picoux J. 2015. Siadenovirus (Hemorrhagic enteritis). In: *Manual of Poultry Diseases*, ed. Brugère-Picoux J, Association française pour l'avancement des sciences, Toppan Printing Leefung, China, pp. 184-185.
- Massi P, Gelmetti D, Sironi G, Lavazza A, Dottori M, Pascucci S. 1993. Malattia emorragica della gallina faraona. *Segnalazioni in Italia. Zootecnica Internazionale*, 4 (suppl.), 75-76.
- Massi P, Gelmetti D, Sironi G, Dottori M, Lavazza A, Pascucci S. 1995. Adenovirus-associated haemorrhagic disease in guinea fowl. *Avian Pathol.* 24(2):227-37.

Ojkić D1, Krell PJ, Tuboly T, Nagy E. 2008. Characterization of fowl adenoviruses isolated in Ontario and Quebec, Canada. *Can J Vet Res.* 72(3):236-41.

Reece RL, Pass DA. 1986. Inclusion body pancreatitis in guinea fowl (*Numida meleagris*). *Aust Vet J.* 63(1):26-7.

Toffan A, Catania S, Salviato A, De Battisti C, Vascellari M, Toson M, Capua I, Cattoli G. 2012. Experimental infection of poults and guinea fowl with genetically distinct avian astroviruses. *Avian Pathol.* 41(5):429-35.

Zellen GK, Key DW, Jack SW. 1989. Adenoviral pancreatitis in guinea fowl (*Numida meleagris*). *Avian Dis.* 33(3):586-9.

COMPARAZIONE DELL'EFFICACIA PROTETTIVA DI UN PROTOCOLLO VACCINALE TRADIZIONALE PER NDV RISPETTO AD UNA SINGOLA SOMMINISTRAZIONE DI UN VACCINO RICOMBINANTE HVT-NDV IN TACCHINI DA CARNE A FINE CICLO

Mazzetto E.¹, Bonfante F.¹, Salomoni A.¹, Boscolo L.¹, Maniero S.¹, Meini A.², Berto G.², Terregino C.¹

¹ *Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie*; ² *Ceva Salute Animale S.p.A.*

Summary

Newcastle disease (ND) is one of the most important poultry diseases, and it causes significant economic losses to the poultry industry. In many countries, prophylactic vaccination is applied to prevent and reduce the circulation of Newcastle disease virus (NDV). However, despite the extensive active immunization with inactivated and/or live attenuated vaccines, outbreaks have been reported in many parts of the world. To overcome some of the limitations associated with current vaccination approaches, new recombinant ND vaccines have been developed.

Among these, the Turkey Herpesvirus (HVT) vector has been recently engineered to express the NDV fusion protein. This novel vaccine appears to have uniquely advantageous characteristics, such as the abilities to elicit strong cell-mediated immunity along with humoral immunity, to be less affected by maternally derived antibodies and to replicate for months inside the host upon a single administration, constantly boosting the immune response.

In this study, the efficacy of a single shot of a commercial HVT-ND vaccine at the hatchery is compared with a traditional immunization program for ND in meat turkeys that consist of a live vaccine administered by drinking water within the first week and a shot with an inactivated vaccine at about 25 days of age. Irrespective of the immunization protocol, female and male turkeys at the end of their commercial life were fully clinically protected against a velogenic NDV strain. The overall equivalence between the protective performances of the HVT-ND and the traditional ND vaccination indicate this vaccine as a promising alternative for the protection of meat turkeys up to the end of their productive cycle.

INTRODUZIONE

La malattia di Newcastle (ND) è una tra le patologie virali più diffuse al mondo e l'entità dei danni che può provocare in termini di perdite economiche nella filiera avicola è comparabile a quella di malattie quali l'influenza aviaria e la bronchite infettiva (Kapczynski et al., 2013). In Italia la vaccinazione profilattica è divenuta obbligatoria a seguito dell'epidemia di NDV nel 2000 (Capua, et al., 2002), e successivamente il Ministero della Salute con nota 0005266-03/03/2015-DGSAF ha rinnovato la gestione del piano vaccinale definendo l'utilizzo di vaccini vivi attenuati, inattivati o combinazioni di essi in funzione della specie e della tipologia produttiva. Questi schemi di vaccinazione presentano tuttavia alcune criticità; la modalità di somministrazione e l'interferenza degli anticorpi materni, per esempio, sono fattori che spesso ne compromettono l'efficacia. Inoltre, mentre da una parte i vaccini vivi per ND possono, in alcuni contesti, favorire l'insorgenza di forme respiratorie;