

NUOVE VARIANTI DI BRONCHITE INFETTIVA NEGLI ALLEVAMENTI AVICOLI SICILIANI

Antoci F.¹, Tumino G.¹, Guercio A.¹, Coniglio A.¹, Chiaracane G.¹, Sallemi S.¹, Terregino C.², Purpari G.¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Via G. Marinuzzi, 3 – 90129 Palermo

²Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Viale dell'Università, 10 – 35020 Legaro (Padova)

Key words: Avian Infectious Bronchitis, poultry, QXIBV

SUMMARY

Avian Infectious Bronchitis (IB) is a disease caused by a *Coronavirus*, included in *Coronaviridae* family. The disease, endemic in Italy, affects both broilers and laying hens. It represents one of the main health issue in sicilian poultry farms. The presence of new antigenic variants makes problematic the implementation of an adequate prophylaxis through the use of appropriate vaccines. The present work aims to study the spread of IB strains in Sicily by serological and biomolecular tests in order to investigate the presence of "historical" strains as well as new strains and to carry out the genotyping of viruses isolated. The serological results show that the used vaccination protocols are able to develop an adequate antibody titre along all production steps both laying hens and broilers. The virological results underline the presence of QX strain in a broilers farm. This is a strain widespread in Italy but never reported in the regional territory.

INTRODUZIONE

La Bronchite Infettiva Aviaria è una malattia che colpisce sia i polli da carne (broilers) che le galline ovaiole, con notevoli ripercussioni a livello sanitario ed economico. Il virus, appartenente alla famiglia *Coronaviridae*, provvisto di envelope, presenta genoma a RNA a singolo filamento con polarità positiva. Ad oggi sono stati riportati circa 60 sierotipi, di cui i più noti: M41, 4/91, H120, Ma5, ITA02.

Una volta introdotta in allevamento la malattia propaga rapidamente, favorita dal contagio per via aerogena in seguito all'inalazione di particelle di essudato infetto. Il periodo di incubazione è variabile da uno a quattro giorni e la sintomatologia è correlata all'età degli animali:

- pulcini: scolo nasale sieroso, starnuti, dispnea e ritardo della crescita;
- broilers: sintomi subclinici;
- ovaiole: manifestazioni respiratorie di lieve entità, ripercussioni negative sull'ovodeposizione.

Si pensa che il ricorrere annuale dell'infezione sia dovuto al fatto che gli animali guariti possano rimanere portatori e quindi eliminatori.

La continua comparsa di nuove varianti antigeniche rende problematica la realizzazione di un'adeguata profilassi immunizzante (1). Pertanto, le indagini epidemiologiche indirizzate alla caratterizzazione dei ceppi IB isolati risultano fondamentali per la scelta di programmi vaccinali protettivi (1, 3). La tipizzazione del virus con metodiche tradizionali si presenta lunga e difficile, per tale motivo può essere utile ricorrere a tecniche di biologia molecolare (5, 8). Il presente lavoro si propone come scopo quello di studiare la diffusione dei ceppi IB nel territorio regionale siciliano, attraverso l'impiego di tecniche sierologiche e della Real Time RT-PCR, e di effettuare la tipizzazione dei ceppi virali isolati al fine di individuare nuove varianti virali e ceppi "storici".

MATERIALI E METODI

Sono state selezionate e monitorate 5 aziende avicole (3 broilers e 2 ovaiole), tra le 42 presenti nel territorio. I campionamenti sono stati condotti sia sugli animali in vita che al momento della macellazione secondo il seguente schema:

Galline ovaiole:

- pulcini 1 giorno: emosiero;
- pollastre 20 settimane: emosiero, tampone tracheale;
- galline 45 settimane: emosiero, tampone tracheale;
- galline fine ciclo: emosiero, tampone tracheale.

Broilers:

- pulcini 10 giorni: emosiero, tampone tracheale;
- polli 35 giorni: emosiero, prelievo trachea;
- polli 50 giorni: emosiero, prelievo trachea.

Nei campioni di emosiero è stata effettuata la ricerca di anticorpi specifici per il virus IB mediante prove di inibizione dell'emoagglutinazione (HI), utilizzando gli antigeni M41 e 793-B (4/91).

La ricerca del virus IB è stata condotta su tamponi tracheali e trachea, mediante Real Time RT-PCR (2). I campioni positivi sono stati tipizzati mediante RT-PCR convenzionale e successivo sequenziamento (4, 10).

RISULTATI E CONCLUSIONI

La tabella 1 mostra le positività relative alla ricerca diretta del virus.

Tabella 1 - Risultati Real-Time RT-PCR e tipizzazione

Matrice	N° Campioni	Positivi Real Time RT-PCR	TIPIZZAZIONE		
			Ceppo 4/91	Ceppo H120	Ceppo QX
Trachea	112	57	57	1	2
Tamponi tracheali	50	1	1	21	0
Rene	13	5	5	0	0
Totale	175	63	63	22	2

I risultati virologici confermano la presenza dei ceppi vaccinali 4/91 e H120 nei campioni sottoposti ad esame. Inoltre, nei broilers è stata riscontrata la presenza anche del ceppo QX.

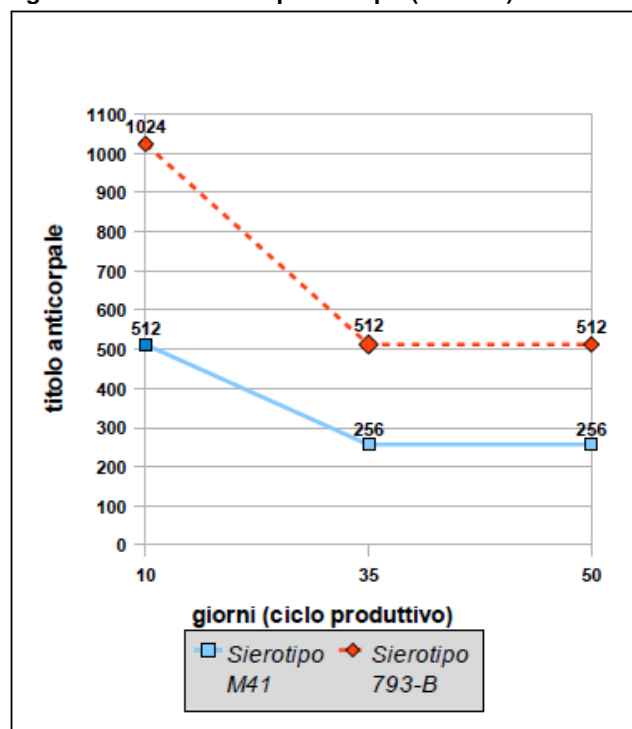
La tabella 2 riporta le positività riscontrate sui sieri mediante ricerca indiretta.

Tabella 2 - Risultati HI

MATRICE	CAMPIONI	Positivi HI M41	Positivi HI 793-B (4/91)
Emosiero	210	182	175
Totale	210	182/210 (86%)	175/210 (83%)

In Figura 1 sono riportate le curve anticorpali nei confronti dei sierotipi M41 e 793-B (4/91), relative ai capi (broilers) vaccinati secondo lo schema convenzionale (2° e 15° giorno di vita) e controllati al 10°, 35° e 50° giorno dalla vaccinazione.

Figura 1 – Titolo anticorpale/tempo (broilers)



I risultati sierologici ottenuti (Fig. 1) dimostrano che gli interventi vaccinali consentono di mantenere il livello anticorpale protettivo per tutta la durata del ciclo di produzione.

I risultati dell'indagine virologica dimostrano la circolazione di ceppi vaccinali (4/91 e H120) e la presenza del ceppo QX, isolato da trachee di broilers. Trattasi di un ceppo di campo circolante da alcuni anni in Italia (8) ma fino ad ora mai identificato in Sicilia, nei confronti del quale nel territorio italiano non esiste ancora alcun presidio immunizzante specifico (7). La dimostrazione della circolazione del ceppo QX ha consentito di suggerire agli allevatori di riformulare gli schemi vaccinali, sostituendo il ceppo H120 con il ceppo Ma5, maggiormente immunogeno ed in grado di garantire, in combinazione con il ceppo 4/91, una copertura anticorpale efficace anche contro il ceppo QX (6, 9).

BIBLIOGRAFIA

1. Britton P., Armesto M., Cavanagh D., Keep S. (2012). Modification of the avian coronavirus infectious bronchitis virus for vaccine development. *Bioeng Bugs* 1;3(2). [Epub ahead of print].
2. Callison S.A., Hilt D.A., Boynton T.O., Sample B.F., Robison R., Swayne D.E., Jackwood M.W. (2006). Development and evaluation of a real-time Taqman RT-PCR assay for the detection of infectious bronchitis virus from infected chickens. *Journal of Virological Methods* 138(1-2): 60-65.
3. Dolz R., Vergara-Alert J., Pèrez M., Pujols J., Majò N. (2012). New insights on infectious bronchitis virus pathogenesis: characterization of Italy 02 serotype in chicks and adult hens. *Vet. Microbiol.* 4;156(3-4): 256-64.
4. Jones R.C., Worthington K.J., Capua I., Naylor C.J. (2005). Efficacy of live infectious bronchitis vaccines against a novel European genotype, Italy 02. *The Veterinary Record* 156: 646-647.

5. Lelli R., De Santis P., Luciani M., Savini G. (2000). Caratterizzazione dei ceppi di virus Bronchite infettiva isolati in Italia mediante tecnica RFLP. *Bollettino delle Ricerche*, 2(1): 128-129.
6. Lim T.H., Kim M.S., Jang J.H., Lee D.H., Park J.K., Youn H.N., Lee J.B., Park S.Y., Choi I.S., Song C.S. (2012). Live attenuated nephropathogenic infectious bronchitis virus vaccine provides broad cross protection against new variant strains. *Poult Sci*;91(1):89-94.
7. Meir R., Krispel S., Simanov L., Eliauh D., Maharat O., Pitcovski J. (2012). Immune responses to mucosal vaccination by the recombinant A1 and N proteins of infectious bronchitis virus. *Viral Immunol*;25(1):55-62.
8. Terregino C., Beato M.S., Ortali G., Battisti C., De Drago A. (2006). Indagine sulla circolazione dei virus della bronchite infettiva aviaria in Nord Italia. Congresso f Italian Society of Avian Diseases (SIPA), 44, Forlì (Italy).
9. Terregino C., Toffan A., Beato M.S., De Nardi R., Vascellari M., Meini A., Ortali G., Mancin M., Capua I. (2008). Pathogenicity of a QX strain of infectious bronchitis virus in specific pathogen free and commercial broiler chickens, and evaluation of protection induced by a vaccination programme based on the Ma5 and 4/91 serotypes. *Avian Pathology* 37:5: 487-493.
10. Valastro V., Monne I., Fasolato M., Cecchetti K., Parker D., Terregino C., Cattoli G. (2010). QX-type infectious bronchitis virus in commercial flocks in the UK. *The Veterinary Record* 167(22): 865-866.