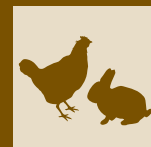


# Pseudotubercolosi aviare in tacchini di un allevamento rurale della provincia di Chieti, Italia



ELGA ERSILIA TIERI<sup>1</sup>, MARIA ANTONIETTA SALETTI<sup>1</sup>, ALESSANDRA CORNACCHIA<sup>1</sup>, GABRIELLA DI FRANCESCO<sup>1</sup>, ANNA RITA D'ANGELO<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", Campo Boario, 64100 Teramo, Italy

## RIASSUNTO

La pseudotubercolosi è una malattia contagiosa degli animali domestici e selvatici causata da *Yersinia pseudotuberculosis*, che può colpire anche l'uomo. La trasmissione avviene attraverso l'ingestione di acqua o alimenti contaminati. Nei tacchini sporadici episodi di mortalità sono stati segnalati fin dai primi anni del 1900. Vista l'esiguità dei dati in letteratura, si descrivono le lesioni anatomopatologiche ed istologiche osservate in tacchinotti (*Meleagris gallopavo*) nell'ambito di un focolaio in un allevamento rurale della provincia di Chieti. La moria dei volatili è stata osservata da novembre a gennaio: in questo periodo, sono morti circa 60 tacchini di sesso femminile di circa 5 mesi di età, su un totale di 105 (57,14%), introdotti in allevamento in agosto.

Gli animali mostravano debolezza, penne arruffate, difficoltà respiratoria, diarrea verdastra, perdita dell'appetito.

In sede necroscopica, in 5 esemplari esaminati, sono state rilevate splenite ed epatite con aree disseminate puntiformi biancastre di 1-2 mm di diametro. Le indagini istopatologiche hanno permesso di apprezzare le lesioni granulomatose ed estese aree di necrosi, in alcune delle quali erano evidenti aggregati batterici. Uguali focolai necrotici sono stati osservati microscopicamente anche nei reni e nei polmoni di 3 volatili.

Gli esami batteriologici hanno evidenziato la crescita di cocco bacilli gram negativi identificati come *Yersinia pseudotuberculosis*. Per ridurre il rischio di contagio tra i volatili allevati e gli animali portatori sani, è auspicabile in allevamento l'applicazione di misure sanitarie volte ad evitare il contatto tra loro e la contaminazione degli alimenti di uso zootecnico e l'acqua di bevanda.

## PAROLE CHIAVE

Tacchino; splenite; epatite; granuloma; *Yersinia pseudotuberculosis*.

## INTRODUZIONE

La pseudotubercolosi è una malattia contagiosa degli animali domestici e selvatici causata da *Yersinia pseudotuberculosis*, batterio ubiquitario che può colpire anche l'uomo, causando una grave enterite acuta con linfadenopatia dei linfonodi mesenterici<sup>1</sup>. La trasmissione avviene attraverso l'ingestione di acqua o alimenti contaminati. Diversi autori documentano che *Yersinia pseudotuberculosis* è veicolato nell'intestino di animali portatori sani, in particolare degli uccelli selvatici e dei roditori che sono in grado di provocare epidemie<sup>2,3</sup>.

La pseudotubercolosi aviare è caratterizzata da una setticemia acuta di breve durata, seguita da infezioni croniche localizzate, che esitano in noduli caseosi simili ai tubercoli della tubercolosi<sup>4</sup>.

Sporadici episodi di mortalità sono stati segnalati nei tacchini in Germania e Francia fin dai primi anni del 1900, come riportato nella sintesi di Beaudette<sup>5</sup>. Successivamente sono stati riportati rari focolai negli Stati Uniti<sup>6,7,8,9</sup> in Inghilterra<sup>10,11</sup> e in Germania<sup>12</sup>. Vista l'esiguità dei dati in letteratura, si descrivono le lesioni anatomopatologiche ed istologiche osservate in tacchinotti nell'ambito di un focolaio in un allevamento della provincia di Chieti.

## MATERIALI E METODI

Nel periodo novembre-gennaio, in un allevamento rurale per l'ingrasso della provincia di Chieti sono morti circa 60 tacchini di sesso femminile, ibridi del Bronzato d'America, di circa 5 mesi di età, su un totale di 105 (57,14%), introdotti in allevamento in agosto. Gli animali mostravano debolezza, penne arruffate, difficoltà respiratoria, diarrea verdastra, perdita dell'appetito con morte a circa due settimane dall'inizio della sintomatologia.

L'allevatore non aveva osservato in precedenza questi segni clinici negli animali del suo allevamento.

Le galline ovaiole allevate nella stessa azienda non mostravano nessuna sintomatologia.

I tacchini si muovevano liberamente dalla stalla alle aree aperte recintate e l'allevatore non disponeva di un piano di controllo dei pests, nonostante avesse rilevato la presenza dei roditori nella sua azienda nelle aree di ricovero e in quelle di stoccaggio e somministrazione dei mangimi e foraggi.

Le carcasse di 5 dei volatili, in scadente stato di nutrizione, sono state conferite all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale" per accertamenti atti a determinarne la causa di morte.

Il fegato, la milza, il rene e i polmoni sono stati flambati, tagliati con coltello e posti in un brodo di arricchimento costituito da acqua peptonata; successivamente i brodi sono stati seminati su agar sangue, Mc Conkey agar e agar mannite e

posti a 37°C. Le colonie sviluppatesi a 24-48 ore sono state sottoposte a test di conferma mediante colorazione di Gram, test dell'ossidasi e della catalasi e infine sottoposte ad identificazione biochimica mediante sistema miniaturizzato API 20E (BioMerieux, Marcy l'Etoile, France), metodo più sensibile tra i sistemi miniaturizzati in commercio<sup>13</sup>. È stata inoltre testata la sensibilità del batterio isolato ai farmaci antimicrobici amoxicillina, colistina, enrofloxacin, neomicina, sulfametazolo + trimethoprim, tetraciclina, con l'esecuzione dell'antibiogramma mediante il metodo della diffusione su piastra di Bauer<sup>14</sup>.

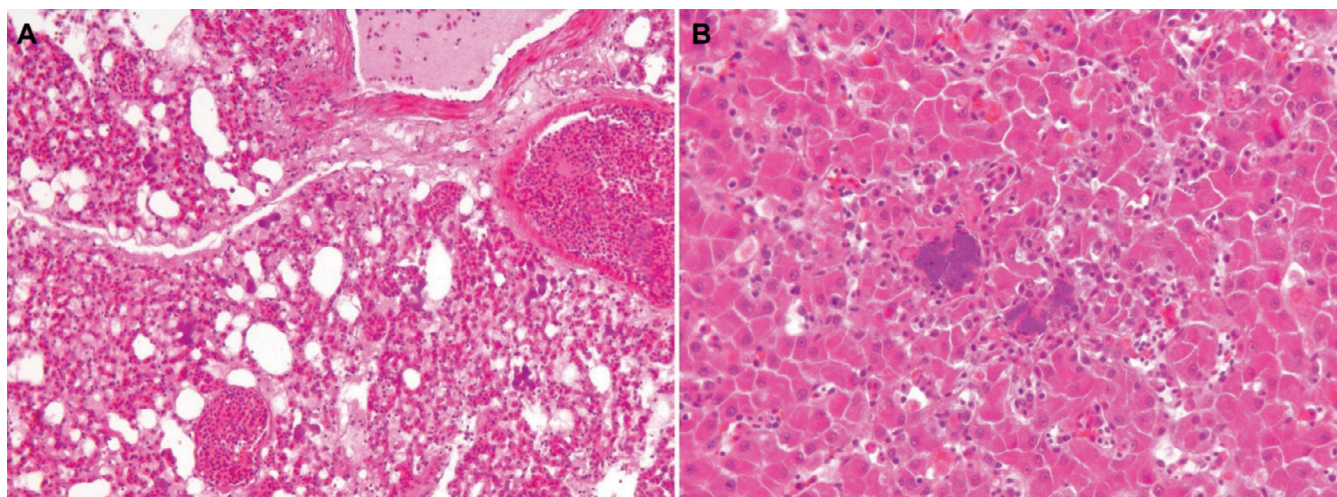
I diametri degli aloni di inibizione sono stati misurati ed i risultati sono stati valutati nelle categorie "sensibile", "intermedio" e "resistente", utilizzando i limiti di attività del germe pubblicati dalle ditte produttrici dei dischetti utilizzati per l'antibiogramma (Oxoid e BD BBL™) e presenti nella guida per *Enterobacteriaceae* del "Clinical and Laboratory Standards Institute"<sup>15</sup>.

I tessuti, inviati per le indagini microscopiche, sono stati fissati in formalina neutra tamponata e processati in paraffina. Le sezioni di tessuto sono state colorate con Ematossilina-Eosina, Ziehl-Neelsen per la ricerca di bacilli alcoolico resistenti e con la colorazione di Perls per l'evidenziazione dei depositi di emosiderina.

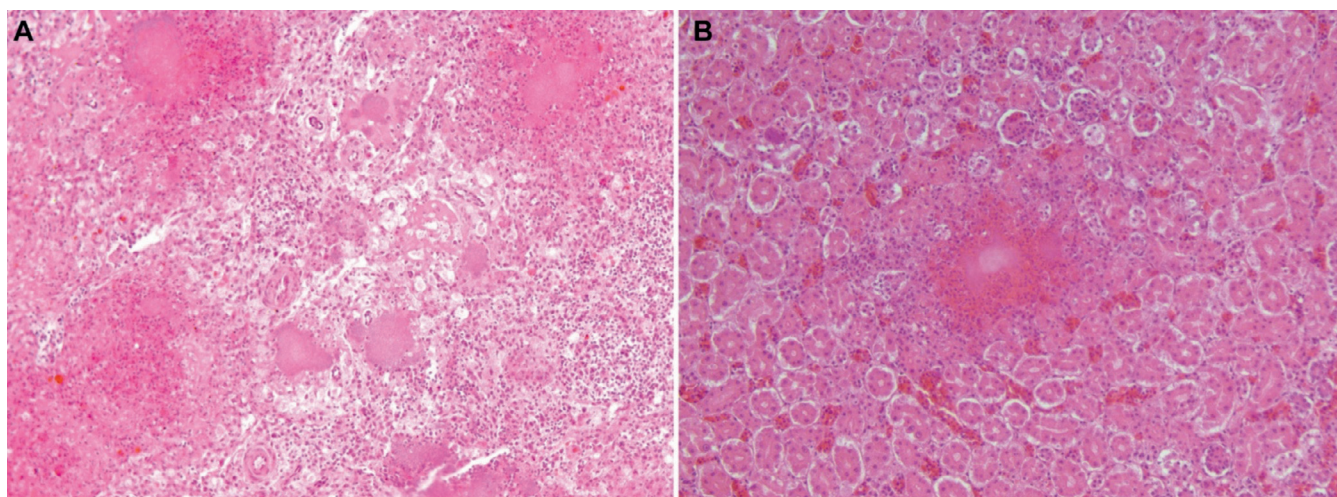
## RISULTATI

In sede necroscopica, in tutti gli animali sono stati rilevati l'aumento di volume del fegato e dei reni, l'enterite catarrale con il contenuto intestinale di colore verdastro e la presenza di splenite ed epatite con aree disseminate puntiformi biancastre di 1-2 mm di diametro. In due esemplari è stata rilevata la presenza di aree di polmonite e di materiale caseoso giallastro nei sacchi aerei addominali ed in un solo esemplare l'edema gelatinoso del grasso pericardico.

Le indagini istopatologiche hanno evidenziato lesioni riferibili ad un'infezione batterica cronica. Lesioni multifocali milari hanno interessato il fegato, la milza, i polmoni ed i reni. È stato possibile identificare tre tipi di lesioni di contemporanea localizzazione. Lesioni allo *stadio iniziale* (*small lesions*) con evidenti aggregati batterici (Figura 1, A-B), lesioni in *stadio intermedio* (*intermediate lesions*) con aree centrali eosinofliche amorfe, che sostituivano le colonie batteriche, delimitate da infiltrato di granulociti neutrofilici (Figura 2, A-B), ed infine lesioni allo *stadio di grandi granulomi* (*large granulomas*) con grandi cellule giganti (Figura 3, A-B-C-D). La *Ziehl-Neelsen* non ha evidenziato in alcun caso germi alcoolico resistenti e la colorazione di Perls ha messo in luce rari depositi di emosiderina solo nel fegato (Figura 4).

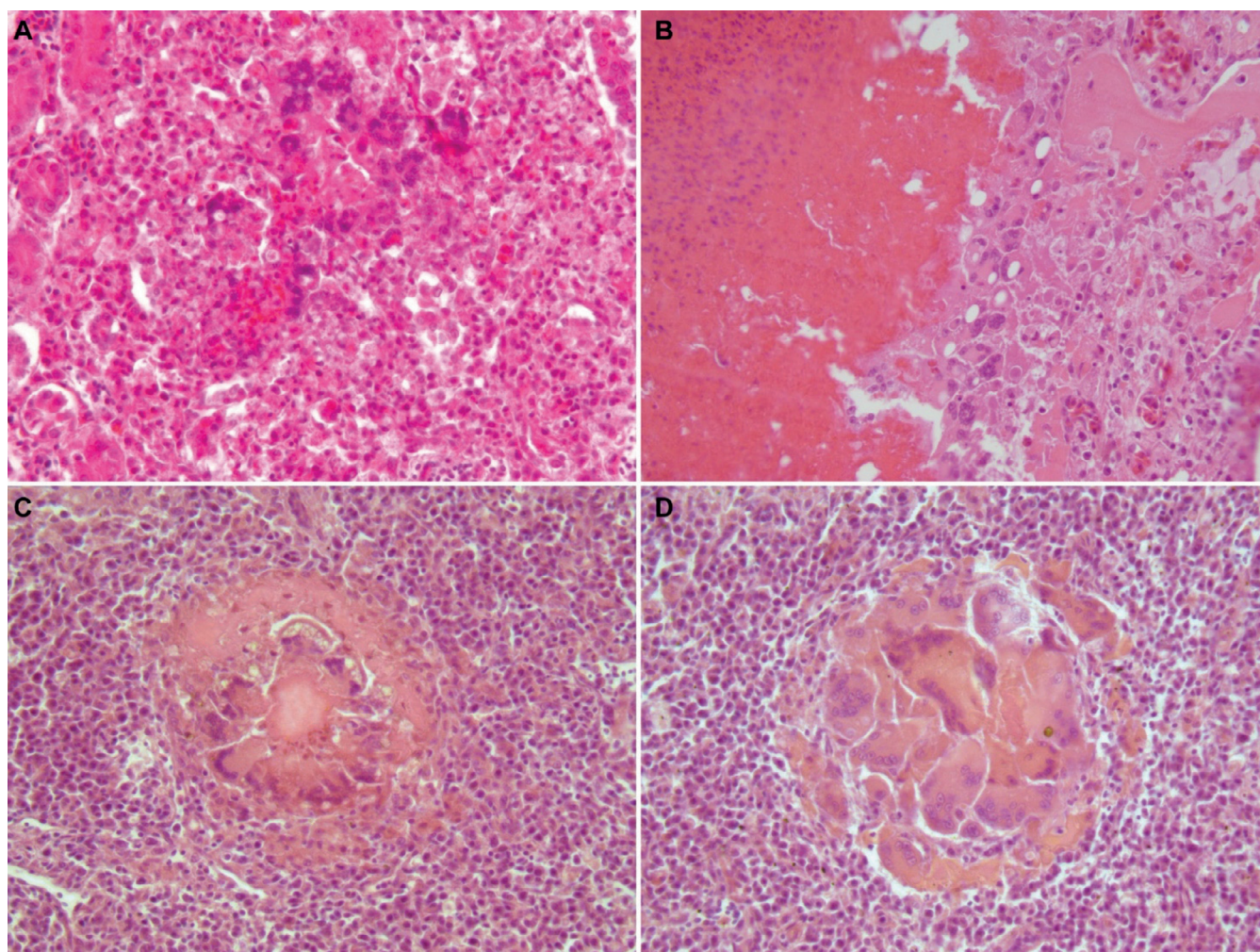


**Figura 1** - Lesioni istologiche nello stadio iniziale (*small lesions*). Colonie di batteri. **A)** Polmone (Ematossilina Eosina 20x). **B)** Fegato (Ematossilina Eosina 40x).



**Figura 2** - Lesioni istologiche nello stadio intermedio (*intermediate lesions*). Ampie aree di necrosi, delimitate da granulociti neutrofilici, contenenti aggregati batterici. **A)** Milza (Ematossilina Eosina 20x). **B)** Rene (Ematossilina Eosina 20x).





**Figura 3** - Lesioni istologiche nello stadio di grandi granulomi (large granulomas).

**A)** Rene. Reazione granulomatosa caratterizzata da cellule giganti multinucleate nei lumi dei tubuli degenerati (Ematossilina Eosina 20x).

**B)** Polmone. Reazione granulomatosa con area di necrosi delimitata da cellule giganti multinucleate (Ematossilina Eosina 40x).

**C, D)** Milza. Reazione granulomatosa a differenti stadi di evoluzione (Ematossilina Eosina 40x).

L'esame batteriologico ha evidenziato, su agar sangue, la crescita a 24-48 ore in aerobiosi a 37°C di piccole colonie di 1-3 mm di diametro, di colore grigio e non emolitiche, incolori su Mc Conkey agar. Il batterio è stato caratterizzato come cocco-bacillo Gram negativo, ossidasi negativo, catalasi positivo; il sistema API 20E lo ha identificato come *Yersinia pseudotuber-*

*culosis* e tra gli antibiotici saggianti è risultato sensibile a diverse molecole (Tabella 1). I restanti tacchini dell'allevamento sono stati quindi sottoposti ad un trattamento terapeutico con tetracicline che ha permesso l'estinzione del focolaio.

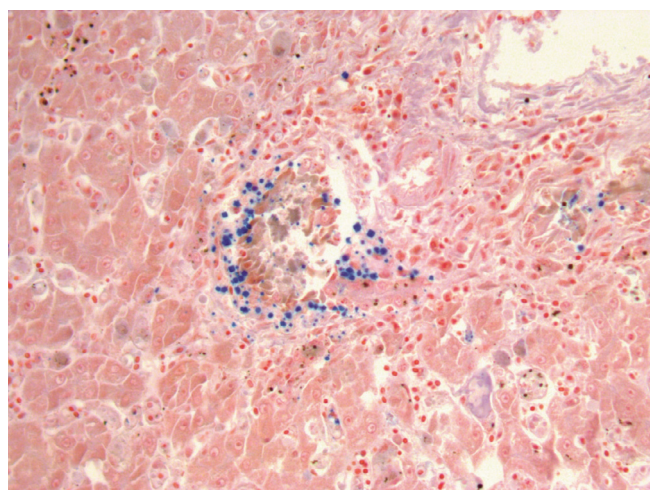
## DISCUSSIONE

Il rilievo di aree biancastre puntiformi disseminate nel fegato e nella milza sono state già documentate in precedenza in alcuni focolai di pseudotubercolosi nei tacchini in Francia<sup>5</sup>, in Inghilterra<sup>10</sup> e negli Stati Uniti<sup>9</sup> mentre erano assenti in altri in Germania<sup>5</sup>, negli Stati Uniti<sup>6,7</sup> e in Inghilterra<sup>11</sup>.

Le lesioni macroscopiche renali riportate nei volatili esaminati furono riscontrate in passato in un focolaio descritto in Francia<sup>5</sup>, mentre quelle polmonari non sono state finora osservate.

A differenza di quanto riportato da alcuni Autori<sup>9,11,12</sup>, nei tacchini esaminati non sono state osservate lesioni riferibili ad osteomielite delle ossa lunghe, né a miopatia degenerativa.

Le lesioni istologiche sono sovrapponibili a quelle di tipo 2 osservate da Cork nei piccioni e nei pappagalli<sup>16</sup>, associate ad un decorso cronico della pseudotubercolosi, ad eccezione dei depositi di emosiderina che nel nostro caso sono risultati di lieve entità.



**Figura 4** - Fegato. Granuli di emosiderina colorati in blu e delimitanti i depositi di materiale necrotico (Perls 40x).



**Tabella 1** - Risultati della sensibilità di *Yersinia pseudotuberculosis* ai farmaci antimicrobici saggiati.

Antibiotico saggiato	Categorie	Diametro degli aloni di inibizione (mm)	Breakpoint tra la categoria S ed I e la categoria R ed I <sup>15</sup>		
			R	I	S
Amoxicillina 10 µg	S	24	≤ 13	14-16	≥ 17
Enrofloxacin 5 µg	S	23	≤ 16	17-22	≥ 23
Sulfametoxazolo + Trimethoprim 23.75/1.25 µg	S	28	≤ 10	11-15	≥ 16
Tetraciclina 30 µg	S	22	≤ 11	12-14	≥ 15

S = sensibile, I = intermedio, R = resistente.

L'assenza di sintomatologia nelle galline ovaiole allevate con tacchini affetti da pseudotuberculosis fu segnalato in passato in un focolaio della Germania del 1924 nella sintesi di Beaudette<sup>5</sup>.

## CONCLUSIONI

Vista la valenza zoonosica di *Yersinia pseudotuberculosis*, le persone a contatto con gli animali infetti dovrebbero prestare la massima attenzione ed usare tutte le precauzioni per non infettarsi. Per ridurre il rischio di contagio tra i volatili allevati e gli animali portatori, è auspicabile in allevamento l'applicazione di misure sanitarie volte ad evitare il contatto tra loro e la contaminazione degli alimenti di uso zootecnico e l'acqua di bevanda.

### ■ Avian pseudotuberculosis in backyard turkeys in the province of Chieti, Italy

#### SUMMARY

**Introduction** - Pseudotuberculosis is a contagious disease of domestic and wild animals caused by *Yersinia pseudotuberculosis*, which can affect humans.

**Aim** - Since only limited data about turkeys infected by *Yersinia pseudotuberculosis* can be found in literature, we will be describing the anatomic-pathological lesions and histopathological results observed in turkeys (*Meleagris gallopavo*) during an outbreak occurred in a flock in the province of Chieti. The disease in affected turkeys was characterized by debility, ruffled feathers, dyspnea, diarrhea, anorexia and death in about two weeks from the beginning of the clinical symptoms.

**Materials and methods** - The outbreak took place between November and January; in this period, 60 female turkeys about five months old died out of the total of 105 (57.14%) that had been put into the flock in August.

Turkeys were free to move by stable to open area paddock and farmer didn't use a pests control plan, even if he noticed the presence of rodents in his farm.

At necropsy, in 5 carcasses examined, splenitis was observed and hepatitis with multifocal white protuberant foci of 1-2 mm in diameter both in kidneys and in lungs.

**Results and conclusions** - The histopathological tests indicated granulomatous lesions and extensive areas of tissue necrosis, in some of them bacterial agglomerates were present. Similar areas of tissue necrosis were observed microscopically in the kidneys and lungs of 3 turkeys.

The bacteriological test carried out on liver, spleen, kidney and lungs showed the growth of Gram-negative coccobacil-

lus, oxidase-negative, catalase positive and the API 20E system identified the isolate as *Yersinia pseudotuberculosis*.

The isolate showed to be sensitive to some antimicrobials, the animals therefore have been subjected to a therapeutic treatment with tetracyclines which ended the outbreak.

*Yersinia pseudotuberculosis* can infect human beings and cause acute enteritis and mesenteric lymphadenitis. People in contact with infected animals should use extreme caution and adopt all possible healthcare measures to prevent this agent from being transmitted.

In order to reduce the risk of infection between bred birds and healthy carrier animals, it is advisable to adopt in the farm sanitary measures aimed at preventing contact between them and at avoiding contamination of foodstuff and drink water.

#### KEY WORDS

Turkey; splenitis; hepatitis; granuloma; *Yersinia pseudotuberculosis*.

#### Bibliografia

- Weber J., Finlayson N.B., Mark J.B.D. (1970). Mesenteric lymphadenitis and terminal ileitis due to *Yersinia pseudotuberculosis*. N. Engl. J. Med. 283:172-174.
- Mair N.S. (1973). Yersiniosis in wildlife and its public health implications. J. Wildlife Dis. 9:64-71.
- Harcourt-Brown N.H. (1978). *Yersinia pseudotuberculosis* infection in birds. Veterinary Record, 102:315.
- Rimler R.B., Glisson J.R. (2001). Pseudotuberculosis. In Calnek B.W, 2001. Patologia aviare, 349-354, Piccin Nuova Libreria Padova.
- Beaudette F.R. (1940). A case of pseudotuberculosis in a blackbird. J. Am. Vet. Med. Assoc. 97:151-157.
- Kilian J.G., Yamamoto R., Babock W.E., Dickinson E.M. (1962). An unusual aspect of *Pasteurella pseudotuberculosis* in turkeys. Avian Dis, 6:403-405.
- Mathey W.J., Siddle P.J. (1954). Isolation of *Pasteurella pseudotuberculosis* from a California turkey. J. Am. Vet. Med. Assoc., 125:482-483.
- Rosenwald A.S., Dickinson E.M. (1944). A report on *Pasteurella pseudotuberculosis* infection in turkeys. Am J. Vet. Res. 5:246-249.
- Wallner-Pendleton E., Uppal P.K. (1983). Several outbreaks of *Yersinia pseudotuberculosis* in California turkey flocks. Avian Dis., 27:524-526.
- Blaxland J.D. (1947). *Pasteurella pseudotuberculosis* infection in turkeys. Vet. Rec. 59:317-318.
- Wise D.R., Uppal P.K. (1972). Osteomyelitis in turkeys caused by *Yersinia pseudotuberculosis*. J. Med. Microbiol. 5: 128-130.
- Hinz K.H., Kaleta E.F., Stiburek B., Glunder G., Tessler K. (1981). Eine durch *Yersinia pseudotuberculosis* bei Mastputen verursachte Myopathie. Dtsch. Tierärztl. Wochenschr., 88:352-354.
- Neubauer H., Sauer T., Becker H., Aleksic S., Meyer H. (1998). Comparison of systems for identification and differentiation of species within the genus *Yersinia*. J. Clinical Microbiology, 36:3366-3368.
- Bauer A.W., Kirby W.M.M., Sherris J.C., Turck M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol., 45:493-496.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2012). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 22nd informational supplement. CLSI document M100-S22. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. Vol. 32, no.3. 44-49.
- Cork S.C., Collins-Emerson J.M., Alley M.R., Fenwick S.G. (1999). Visceral lesions caused by *Yersinia pseudotuberculosis*, serotype II, in different species of bird. Avian Pathology, 28:393-399.