



UNIVERSITA' DI PISA

Corso di Laurea Magistrale in Medicina Veterinaria

*La sindrome da calo di deposizione in
allevamento di ovaiole*

Candidato: Lucignani Barbara

Relatori: Prof. Mani Paolo

Prof. Bagliacca Marco

ANNO ACCADEMICO 2008-2009

ad un Sogno che si realizza

INDICE

	Pag
Riassunto/Abstract	5
Generalità	6
1. Anatomia e Fisiologia	11
1.1 Apparato riproduttore femminile	11
1.1.1. Ovaio	11
1.1.2. Gametogenesi	16
1.1.3. Ovidutto	17
1.1.4. Formazione dell'uovo in ovidutto	22
1.1.5. Fonti del calcio per la sintesi del guscio	25
1.2. Controllo endocrino dell'attività riproduttiva	27
1.2.1. Ormoni ipotalamici	28
1.2.2. Ormoni ipofisari	28
1.2.3. Ormoni ovarici	29
1.2.4. Stress e attività riproduttiva	31
1.2.5. Ovodeposizione e fotoperiodo	32
2. Il calo dell'ovodeposizione	35
2.1. Patologia indotta dall'alimentazione	35
2.1.1. Proteine	36
2.1.2. Carboidrati	39
2.1.3. Grassi	39
2.1.4. Vitamine	40
2.1.5. Minerali	46
2.1.6. Acqua	51
2.2 Micotossine e micotossicosi	54
2.2.1 Aflatossicosi	55
2.2.2 Ocratossicosi	55
2.2.3 Zearalenone	56
2.2.4 Tricoteceni	56
2.2.5 Altre micotossicosi	57
2.3. La luce	58
2.4. Temperatura e ventilazione	63

3. Malattie Virali	65
3.1 Bronchite Infettiva	65
3.2 Pseudopeste Aviare	78
3.3 Infezioni da altri Paramyxovirus Aviari	83
3.4 Influenza Aviare	84
3.5 Encefalomielite Aviare	93
3.6 Sindrome da calo della deposizione	98
3.7 Laringotracheite Infettiva	104
3.8 Rinotracheite Infettiva del tacchino o Malattia della testa gonfia	109
4. Malattie Batteriche	112
4.1 Salmonellosi	112
4.2 Colibacillosi	122
4.3 Micoplasmosi	126
4.4 Campilobatteriosi	133
5. Malattie da Protozoi	136
5.1 Coccidiosi	136
6. Malattie Elmintiche	143
6.1 Nematodi	143
6.2 Cestodi	148
6.3 Trematodi	150
7. Malattie da Artropodi	153
7.1 Acari	154
7.2 Insetti	158
7.2.1 Pidocchi	158
7.2.2 Pulci	161
7.2.3 Cimici	163
Conclusioni	165
Ringraziamenti	166
Bibliografia	167

Parole chiave: calo della ovodeposizione, carenze, malattie virali, malattie batteriche, parassitosi.

Riassunto L'uovo è un alimento di grande valore nutritivo e di largo uso culinario e commerciale. Ne consegue che in ogni parte del mondo è presente un settore avicolo specifico per tale produzione zootecnica. Ad un prodotto sano deve corrispondere un allevamento avicolo sano, dal momento che molte sono le cause che possono portare ad una patologia che coinvolge l'apparato riproduttore e che si ripercuote negativamente sulla qualità dell'uovo. La nostra tesi tende a mettere in evidenza i vari fattori che possono determinare un calo della ovodeposizione ovvero quella patologia subdola che spesso elude anche i controlli sanitari più attenti. Fra cause non infettive, ancora importanti in alcune realtà zootecniche, quelle nutrizionali quali le carenze vitaminiche, minerali e proteiche, ma anche la contaminazione degli alimenti mal conservati da parte di funghi quali ad esempio *Aspergillus* spp. e *Fusarium* spp., produttori di micotossine. Le cause fisiche comprendono un errato fotoperiodo e le condizioni di umidità, temperatura e ventilazione che incidono sul benessere animale. Fra le malattie infettive virali più frequentemente riscontrate: la Bronchite Infettiva, per la variabilità antigenica che caratterizza i sierotipi diffusi in tutto il mondo, l'Encefalomyelite Aviaria e le infezioni da *Paramixovirus*. Fra le malattie batteriche, *Salmonella* spp. ed *E. coli* quali agenti di importanti zoonosi ed i Micoplasmi quali responsabili di complicazioni in corso di patologie ad andamento cronico di natura infettiva o parassitaria. Le malattie da protozoi, elminti e artropodi sono ricollegabili a tecnologie avicole innovative quali la produzione biologica. Fra queste le coccidiosi, le verminosi e l'acariasi dermanissica, da sempre responsabili di calo dell'ovodeposizione nell'allevamento a terra in recinti e senza i trattamenti farmacologici chemioprolattici propri dell'allevamento intensivo.

Key-words: decline in egg production, deficiencies, viral diseases, bacterial diseases, parasitosis.

Abstract Eggs are food with high nutritional value and are widely used for cooking and commercial purposes. Therefore it is possible to find poultry industries for specific animal production in every part of the world. A healthy poultry industry must correspond to healthy products, since there are many causes which may bring about diseases involving the reproductive apparatus and this usually has a negative impact on the quality of the eggs. Our thesis highlights the various factors that may cause less production of eggs, or rather a pathology which often eludes even the most careful checks and controls. Among the non-infectious causes, it is still possible to find some nutritional causes in some parts of the world, such as vitamins, minerals and proteins deficiencies, poorly preserved feed contamination caused by fungal mycotoxins, produced for example by *Aspergillus* spp. e *Fusarium* spp. Physical causes include wrong photoperiod and conditions related to humidity, temperature and ventilation, all which may have an affect on animal welfare. Among the infectious viral diseases which may most frequently be encountered: Infectious Bronchitis, for the antigenic variability that characterizes the serotypes which are prevalent all over the world, Avian Encephalomyelitis and *Paramixovirus* infections. For bacterial diseases, *Salmonella* spp. and *E. coli*, are considered to be important zoonosis agents, and the *Mycoplasma* spp. as agents responsible for complications in the evolution of chronic infectious or parasitic diseases. Protozoa, helminths and arthropod diseases are linked to innovative technologies such as biological production, so in these situations we can find coccidiosis, verminosis and external parasitic diseases like *Dermanissus gallinae* infections, which have always been responsible for the a decline in egg production, in breeding on ground and without prophylactic drug treatments, for intensive breeding.

GENERALITÀ

La sindrome da calo dell'ovodeposizione costituisce uno dei principali problemi economico-sanitari in un settore zootecnico, quello dell'avicoltura per certi aspetti tecnologicamente avanzato e per altri rivolto alle produzioni biologiche con il ritorno all'allevamento tradizionale.

Nel primo caso si può parlare di una vera e propria industria dove la produzione di uova da consumo costituisce un'attività caratterizzata da tecnologia avicola ad elevata specializzazione e automazione che ha comportato in questi ultimi anni la concentrazione della produzione all'interno di pochi gruppi imprenditoriali che detengono il 50-60% del mercato. Tali ditte controllano tutte le fasi della filiera: riproduttori, incubazione, allevamento della pollastra, allevamento della ovaiole, produzione dei mangimi, commercializzazione dell'uovo e produzione e distribuzione di ovoprodotti.

Si tratta di un processo produttivo integrato alla grande distribuzione che porta l'uovo dello stesso marchio su tutto il territorio nazionale.

La restante quota del settore produttivo intensivo è occupata da allevatori tradizionali, evoluti commercialmente perché in grado di distribuire il proprio prodotto in ambito locale, spesso occupando il settore dei prodotti a filiera corta loro destinati della grande distribuzione. In pratica, nei centri commerciali, in scaffali vicini possiamo trovare le tre diverse tipologie di uovo: quello di filiera lunga, quello di produzione locale e quello da allevamento biologico, quest'ultimo sia a filiera corta che lunga.

Ciò comporta che un allevamento di galline ovaiole può avere una consistenza che va da alcune centinaia a decine di migliaia di galline.

A seguito della concentrazione della produzione, si è andato diffondendo anche in Italia il sistema a integrazione verticale o a integrazione orizzontale. In termini generali, per integrazione si intende un coordinamento organico dei processi di decisione di due o più imprese operanti nello stesso stadio o in stadi successivi e complementari della produzione e del mercato della catena agro-alimentare. Se tale coordinamento avviene fra imprese operanti nello stesso stadio di produzione si ha integrazione orizzontale; se avviene tra stadi successivi e complementari si ha integrazione verticale. Quindi, l'integrazione verticale è l'unione di due o più stadi successivi della produzione e/o distribuzione sotto la proprietà e/o controllo di un solo gruppo imprenditoriale. L'integrazione verticale è definita totale, o diretta, quando l'impresa integrante è proprietaria di tutte le attività integrate sulle quali esercita il controllo totale.

E' invece definita parziale, o indiretta, quando sia l'impresa integrante che quella integrata conservano la propria identità e autonomia giuridica. In tale caso le attività vengono concordate in base ad accordi contrattuali che riguardano in genere solo una parte delle produzioni dell'impresa integrata.

In riferimento a quest'ultimo tipo di integrazione, si parla anche di contratti di integrazione verticale o di economia contrattuale o di agricoltura contrattuale.

La caratteristica principale dei contratti di integrazione verticale è costituita dal trasferimento di parte dei poteri decisionali dall'integrato (azienda agricola) all'integrante (impresa) relativamente alla produzione e vendita di alcuni specifici prodotti, rimanendo le due parti indipendenti per tutti gli altri aspetti (Cerolini, 2008).

Altro interessante esempio è quello della soccida ovvero del contratto che un allevatore stipula con un settore industriale quale una ditta mangimistica e/o un incubatoio, dove l'allevatore fornisce ambiente di allevamento, tecnologia e manodopera e riceve compenso in relazione alle uova prodotte.

La stima del numero di galline allevate nel mondo per la produzione di uova si basa spesso su dati relativi al consumo. Poiché la produttività dei ceppi commerciali è abbastanza standardizzata nelle diverse parti del mondo, si potrebbe stimare il patrimonio di galline calcolando: una durata media del ciclo di produzione di 12 mesi, una produzione media annua di 16 kg di uova per gallina e una mortalità del 5%. Da ciò la stima approssimativa che il numero di galline allevate nel mondo sia prossimo a 3,5-4 miliardi (Meluzzi, 2008).

Negli ultimi 35 anni si è registrato un notevole incremento del consumo e quindi della produzione mondiale di uova (+203%) che ha interessato soprattutto i Paesi in via di sviluppo (+757%).

La distribuzione degli allevamenti nel mondo è abbastanza diversificata., il massimo della produzione si registra in Asia (60,4%), seguita da Europa (16,8%), Nord America (13,6%), Sud America(5,1%), Africa(3,7%) e Oceania (0,4%). La Cina, con oltre 24 milioni di tonnellate, risulta il primo Paese produttore di uova, seguito da USA, India e Giappone, mentre l'Italia si posiziona al 14° posto.

In Italia la produzione è concentrata nel Nord Italia e, in particolare, in tre regioni, Lombardia, Veneto ed Emilia Romagna dove si ottiene più del 50% della produzione nazionale.

Sempre nel nostro Paese nel 2007, il 66% delle uova, pari a 150 uova per abitante, è stata consumata come uova in guscio, mentre il 33%, pari a 74 uova per abitante, è stata consumata come ovoprodotti attraverso pasta, dolci e preparazioni alimentari varie.

Tabella 1- *Produzione di uova in Italia e nel mondo* (Fonte: Avicoltura e Coniglicoltura)

Paese	Produzione (t)	%
1 Cina	24.348.250	41,0
2 USA	5.329.600	9,0
3 India	2.492.000	4,2
4 Giappone	2.461.626	4,1
5 Messico	2.072.000	3,5
6 Russia	2.054.000	3,5
7 Brasile	1.560.000	2,6
8 Francia	1.045.000	1,8
9 Indonesia	876.000	1,5
10 Turchia	830.000	1,4
14 Italia	700.000	1,2
Totale mondiale	59.433.971	100,0

Per la produzione di uova mediante il sistema di allevamento intensivo, si utilizzano esclusivamente ceppi selezionati da poche aziende di grosse dimensioni, in genere multinazionali, che detengono i mezzi tecnici e finanziari necessari per la costituzione di ceppi o ibridi commerciali. Questi sono utilizzati in tutto il mondo e presentano le caratteristiche produttive che meglio si adeguano alle mutevoli condizioni del mercato. Poiché gli obiettivi delle aziende selezionatrici per la produzione degli ibridi commerciali sono pressoché i medesimi (massimo numero di uova commercializzabili per gallina accasata, basso consumo di alimento, massima efficienza alimentare, ottima qualità interna ed esterna dell'uovo, buona resistenza allo stress, elevata adattabilità dell'animale e buone prestazioni dei riproduttori) non si rilevano differenze sostanziali fra i diversi ceppi. Tuttavia dobbiamo distinguere due tipologie di ibridi, ovvero ceppi che producono uova a guscio bianco e ceppi che producono uova a guscio colorato.

Entrambe le tipologie presentano un corpo di dimensione ridotta, un addome ben sviluppato e un'elevata vitalità; raggiungono precocemente la maturità sessuale (iniziano a deporre le uova a 19-20 settimane di età), hanno un ciclo di deposizione lungo (almeno 52 settimane) e producono un numero elevato di uova.

Le principali differenze fra le due tipologie di ceppi sono legate, oltre al colore del guscio e del piumaggio, alle dimensioni del corpo, al peso e al numero di uova prodotte per ciclo produttivo e al consumo di mangime. I ceppi colorati, infatti, hanno una taglia leggermente superiore, consumano più mangime, depongono uova più grosse e in quantità leggermente superiore a quella dei ceppi bianchi. Poiché il costo dell'alimento non compensa i vantaggi che si hanno nella produzione, da un punto di vista economico risulterebbe più vantaggioso allevare ceppi bianchi.

Il colore del guscio non ha alcun effetto sul valore nutrizionale del prodotto, ma riveste un ruolo importante nella commercializzazione poiché condiziona la scelta del consumatore. Negli Stati Uniti, in Asia e in alcuni Paesi europei sono preferite le uova a guscio bianco, mentre in Estremo Oriente, Regno Unito e anche in Italia sono preferite le uova a guscio colorato.

In Italia la preferenza per un guscio di colore è legato alla credenza, peraltro del tutto priva di fondamento, che un guscio ben pigmentato sia indicativo di un tuorlo ben pigmentato. In realtà, il colore del guscio, come pure il colore del piumaggio della gallina, è un carattere determinato geneticamente, per cui sono stati ottenuti ceppi a piumaggio bianco che producono uova "bianche" e ceppi a piumaggio rosso-bruno che producono uova "brune".

Si sottolinea che solo negli ibridi commerciali il colore del guscio è legato al colore del piumaggio, nella razze pure, invece, le uova bianche sono deposte anche da individui a piumaggio colorato. Ad esempio, le galline della razza Livorno, distinte nelle varietà dorata, argentata, nera, fulva e bianca in relazione al colore del piumaggio, depongono tutte uova a guscio bianco.

La preferenza degli italiani per le uova a guscio colorato si presenta singolare poiché i ceppi di galline che producono uova a guscio bianco sono stati creati utilizzando proprio razze di polli di origine italiana esportate e selezionate negli Stati Uniti, come la Livorno bianca che produce appunto uova a guscio bianco. In Italia comunque vengono allevate anche galline produttrici di uova a guscio bianco, ma il prodotto è destinato, nella quasi totalità, alla produzione di ovoprodotto liquidi pastorizzati (tuorlo, albume e misto di tuorlo e albume) destinati all'industria alimentare.

Il colore del tuorlo, invece, è determinato dalla quantità e dal tipo di pigmenti presenti nella dieta della gallina.

I ceppi attualmente allevati in Italia sono rappresentati da Isabrown e Hy-Line brown, che coprono ciascuno circa il 40-50% del mercato delle uova colorate e da Lohman (10% del mercato). Per le uova bianche si utilizzano prevalentemente le Hy-Lyne white. Altri ceppi che trovano un impiego limitato nel nostro Paese sono la Bovans, la Babcock, la Shaver, la Hisex, la Dekalb e la Golden Comet (Meluzzi, 2008).

Per un ritorno all'allevamento biologico si utilizzano ceppi tradizionali più rustici e meno produttivi ma complessivamente più affidabili per l'allevamento a terra, parzialmente all'aperto. Si riporta di seguito la descrizione delle principali razze con attitudine alla produzione di uova.

- **Livornese:** originaria dell'Italia centrale, produce uova dal peso minimo di 55 g e con guscio bianco candido. Colore mantello: dorato, bianco, argentato, nero, fulvo, macchiettato, barrato etc.
- **Ancona:** tipica dell'Italia centrale, depone uova dal peso minimo di 50 g con guscio bianco. Colore mantello: nero picchiettato di bianco
- **Padovana:** razza veneta, peso delle uova superiore ai 50 g con guscio bianco. Colore mantello: vario.
- **Rhode Island Red:** originaria degli USA, peso minimo delle uova 60 g con guscio bruno scuro. Due sono le colorazioni del mantello: la più conosciuta è quella rosso mogano e l'altra è la bianca (Marelli, 2008).

1. ANATOMIA E FISILOGIA

1.1 APPARATO RIPRODUTTORE FEMMINILE

L'apparato riproduttore femminile dei Galliformi è costituito da due organi, l'ovaio e l'ovidutto. Esso alla schiusa presenta dimensioni molto ridotte, che vengono mantenute tali per un lungo periodo corrispondente alla maggior parte della fase di crescita. Solo nelle ultime 3 settimane che precedono la deposizione del primo uovo, corrispondente alla maturità sessuale (19-20 settimane di età nella gallina ovaioia), ovaio e ovidotto vanno incontro a una crescita intensa raggiungendo il pieno sviluppo morfologico e funzionale tipico della femmina adulta in attività produttiva. Durante la vita adulta, sia l'ovaio che l'ovidutto regrediscono rapidamente in pochi giorni nei periodi di riposo sessuale, quale ad esempio la muta (Cerolini *et al.*, 2008).

1.1.1. Ovaio

La gonade femminile è impari. In generale, durante lo sviluppo embrionale, i cordoni sessuali primari sono pari, tuttavia in quello di destra non si verifica la proliferazione dell'epitelio germinativo e già al giorno 4 di incubazione è evidente uno sviluppo asimmetrico delle due gonadi. Al giorno 10 di incubazione, l'ovaio e l'ovidutto di destra iniziano a regredire e alla schiusa sono ancora presenti, ma con uno sviluppo rudimentale; infine, al 21° giorno di vita circa, le cellule germinali indifferenziate ancora presenti nell'ovaio di destra regrediscono e infine scompaiono. In caso di asportazione della gonade di sinistra entro il primo mese di vita, la gonade di destra può ancora svilupparsi e formare un ovotestis oppure un testicolo, spesso in grado di produrre spermatozoi vitali.

La gonade femminile, ovaio di sinistra, è situata nella zona craniale della cavità addominale sotto l'aorta e la vena cava posteriore, appoggiata all'estremità anteriore dei reni; è in stretto contatto con la ghiandola surrenale e sono entrambe avvolte da una comune capsula di connettivo fibroso. L'ovaio è ancorato alla parete dorsale addominale da un legamento del peritoneo, il mesovaio, e alla vena cava tramite un peduncolo ovarico (o ilo) composto da tessuto connettivo, vasi sanguigni, nervi e muscoli lisci di sostegno.

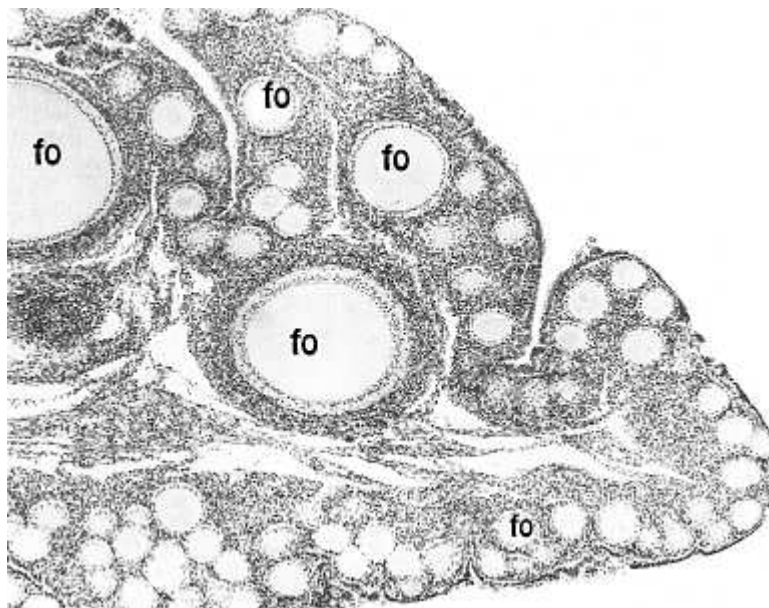
Alla schiusa l'ovaio pesa circa 0,3-0,4 g e presenta una struttura organizzata in due zone, midollare e corticale, nettamente separate da uno strato di tessuto connettivo,

denominato tonaca albuginea. La zona midollare occupa il centro dell'ovaio, presenta una intensa vascolarizzazione ed è costituita da tessuto connettivo, nervi e fibre muscolari di tipo liscio. La zona corticale occupa la zona periferica quindi avvolge completamente la midollare, ad eccezione dell'ilo, ed è costituita dalle cellule germinali non ancora mature, comprendenti gli ovogoni e gli ovociti. La superficie esterna della zona corticale è rivestita da epitelio cubico. Lo sviluppo dell'ovaio è molto lento durante il periodo di crescita e il suo peso presenta una ridotta variazione, da 0,4 a 2 g. Tuttavia, la struttura interna e l'aspetto esteriore della gonade già dalla quinta settimana di vita si modificano, la zona midollare centrale si espande verso l'esterno per cui la distinzione fra zona midollare e corticale non risulta più ben definita, inoltre, la superficie esterna della zona corticale assume un aspetto granuloso a causa del progressivo sviluppo dei follicoli.

L'ovaio sinistro pienamente sviluppato ha un peso totale di 40-60 g presenta una forma caratteristica a grappolo dovuta alla presenza di grandi follicoli in rapido accrescimento che sporgono sulla superficie. La distinzione in una zona corticale e una midollare non è più possibile, ma più correttamente si riconosce ora una struttura mista in cui si distinguono zone ricche di ammassi cellulari, comprendenti anche gli ovociti, definite zone parenchimatose, mescolate a zone ricche di tessuto midollare e vasi sanguigni, definite zone vascolari. In generale, si possono distinguere 7-9 grandi follicoli con un diametro superiore a 10 mm (fino a 35-40 mm) ricchi di tuorlo giallo, 5-15 piccoli follicoli con un diametro compreso fra 5 e 10 mm in cui l'accumulo di tuorlo giallo è solo all'inizio, 5-15 piccoli follicoli di diametro compreso fra 2 e 5 mm in cui è presente tuorlo bianco e numerosissimi piccoli follicoli bianchi, oltre 1.000, di diametro inferiore a 5 mm ancora visibili ad occhio nudo; inoltre, possono essere presenti 1 o 2 follicoli post-ovulatori (FPO) in fase di degenerazione rapida. Una caratteristica peculiare dell'ovaio di gallina è la struttura gerarchica dei follicoli in rapido accrescimento. La gerarchia è costituita da grandi follicoli, ognuno con diametro progressivamente crescente variabile da un minimo di 10 a un massimo di 40 mm, a cui corrisponde uno stadio di maturazione progressivamente più avanzato. Il follicolo maggiore (F1) è quello più maturo e prossimo all'ovulazione, quello di diametro immediatamente inferiore (F2) è destinato ad ovulare a breve distanza di tempo, in genere il giorno successivo, e così via per quelli ancora più piccoli. Ogni 25-27 ore un follicolo entra a far parte della scala gerarchica e il meccanismo di reclutamento è ancora sconosciuto. Si ritiene che il punto di controllo sia a livello dei piccoli follicoli con un diametro inferiore a 8 mm; infatti, alcuni di questi follicoli vanno incontro a regressione (atresia), mentre altri sono selezionati per entrare nella scala gerarchica e, una volta

superato il diametro di 8 mm, il follicolo continua costantemente l'accrescimento per 5-7 giorni fino alla completa maturazione, che si conclude con l'ovulazione. L'atresia è un evento frequente nei piccoli follicoli e probabile anche nei grandi follicoli della scala gerarchica in femmine alla fine del ciclo riproduttivo; al contrario, l'atresia è assente nei follicoli della scala gerarchica in femmine in piena attività riproduttiva in condizioni fisiologiche normali. Il FPO conserva buona parte della parete, incluse la membrana granulosa e le teche, e mantiene attivo il proprio metabolismo, anche se progressivamente in diminuzione, per alcuni giorni dopo l'ovulazione; il suo completo riassorbimento, nella gallina, si compie in 6-10 giorni, in parte attraverso il processo di apoptosi. E' stato dimostrato che il FPO svolge un ruolo funzionale nella programmazione del momento di ovodeposizione.

Figura 1-Ovaio di gallina a piccolo ingrandimento (Fonte: www.summagallicana.it)



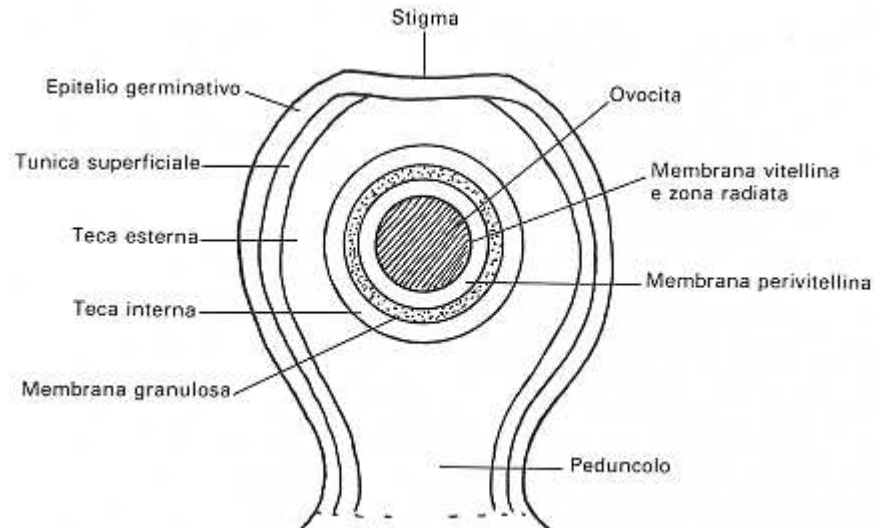
Fo: follicolo

Il follicolo ovarico maturo è costituito dall'ovocita avvolto da diverse membrane o strati concentrici che costituiscono la parete del follicolo; procedendo dall'interno verso l'esterno le membrane presenti sono le seguenti:

- membrana vitellina e zona radiata,
- strato perivitellino,
- membrana granulosa,
- lamina basale,

- due teche, interna ed esterna,
- strato connettivale,
- membrana epiteliale.

Figura 2-Struttura del follicolo (Fonte: www.summagallicana.it)



Tunica superficiale= strato connettivale

La membrana vitellina, a diretto contatto con il tuorlo, è costituita da una grossolana rete di fibre e deriva dalla membrana citoplasmatica dell'ovocita stesso.

La zona radiata è una stretta zona (spessore 5 μm) presente in tutti i follicoli con diametro superiore a 7 mm che ha la funzione di aumentare la superficie di contatto fra ovocita e follicolo.

La membrana vitellina forma delle pliche che si estendono verso la zona perivitellina e racchiudono dei prolungamenti di citoplasma; le sostanze presenti nella zona perivitellina possono infiltrarsi fra le pliche e raggiungere più facilmente l'ovocita.

Lo strato perivitellino è una zona priva di cellule secreta dalla membrana granulosa adiacente; alcuni Autori gli hanno attribuito una struttura amorfa, mentre altri hanno suggerito la presenza in esso di microtubuli.

La membrana granulosa, nei follicoli immaturi, è costituita da diversi strati di cellule cubiche, le quali si organizzano in un unico strato nei follicoli gerarchici più maturi; inoltre, questo stadio è caratterizzato dalla formazione di giunzioni e spazi fra le cellule per facilitare il trasporto di tuorlo all'ovocita.

La lamina basale è una zona priva di cellule che circonda la membrana granulosa ed è costituita principalmente da collagene e da una glicoproteina, la fibronectina.

La teca interna è una capsula cellulare compatta contenente uno strato interno di fibre collagene, uno strato intermedio di fibroblasti e uno strato esterno di cellule vacuolate. La

teca esterna è più ampia e meno compatta di quella interna ed è costituita da fibroblasti e fibre di collagene. Le cellule della teca esterna si distinguono da quelle della teca interna poiché contengono granuli citoplasmatici in prossimità della membrana cellulare.

Procedendo ancora verso l'esterno della parete del follicolo, si incontra uno strato di tessuto connettivo contenente fibre muscolari lisce ed, infine, un epitelio superficiale di rivestimento.

Il follicolo rimane attaccato all'ovaio tramite un peduncolo attraverso il quale riceve i vasi ematici e fibre nervose.

L'ovaio è intensamente vascolarizzato; ogni follicolo riceve 2-4 arterie attraverso il peduncolo che si diramano e penetrano attraverso le teche per andare a formare una fitta rete di capillari attorno alla lamina basale. L'afflusso ematico è maggiore nei cinque follicoli più grandi della scala gerarchica. I vasi arteriosi possono avere origine diversa e, in generale, le arterie ovariche sono diramazioni delle arterie renali di sinistra, tuttavia si sono osservate anche arterie ovariche che diramano direttamente dall'aorta. Il sistema venoso origina da diversi livelli di cui quello più profondo risiede nella teca interna. Il sangue venoso è raccolto da due vene ovariche principali, craniale e caudale, che confluiscono nella vena cava caudale (VCC); la vena ovarica craniale raggiunge prima la vena surrenale sinistra e quindi la VCC, mentre la vena ovarica caudale confluisce direttamente nella VCC.

Nei follicoli di grandi dimensioni diventa evidente una linea di colore chiaro di 2-3 mm di larghezza che si estende nella zona opposta al peduncolo e corrisponde alla linea di deiscenza del follicolo al momento dell'ovulazione, questa zona è definita stigma. A questo livello lo spessore della parete del follicolo risulta ridotto; si ritiene ad esempio che lo strato di connettivo esterno non sia presente e anche la vascolarizzazione sia ridotta, infatti, le vene e le arterie sono presenti in numero limitato allo scopo di evitare il rischio di emorragie al momento dell'ovulazione (se questo avviene sul tuorlo si notano piccole macchie di sangue).

L'innervazione dell'ovaio è molto complessa ed è rappresentata da una rete di gangli, cellule e fibre nervose adiacenti e contenute nel peduncolo ovarico; inoltre si ricorda anche la presenza delle ghiandole surrenali in stretto contatto con la gonade. E' stato dimostrato che l'ovaio riceve numerose fibre nervose sia di tipo colinergico che di tipo adrenergico, indicando quindi la presenza di componenti del sistema nervoso simpatico e parasimpatico. Nei follicoli in accrescimento, il maggior numero di neuroni è presente nelle teche della parete del follicolo e si ritiene che questi forniscano numerosi composti neurochimici e

neuromorali influenti sull'attività ovarica sia nell'embrione che nell'adulto (Cerolini *et al.*, 2008).

1.1.2. Gametogenesi

Le cellule germinali primordiali sono già presenti nell'embrione dopo le prime 18 ore di incubazione, quindi migrano nelle membrane extraembrionali ai due lati dell'embrione e nelle 18 ore successive, in seguito alla comparsa della rete vascolare, entrano nei capillari ematici e vengono trasportate nella loro sede embrionale definitiva dove continuano il processo di differenziazione. Dapprima si formano i cordoni sessuali primari e la zona midollare, in seguito alla proliferazione dell'epitelio germinale compare poi la zona corticale e i cordoni sessuali secondari dove sono presenti gli ovogoni. L'ovogenesi comprende tre fasi, corrispondenti a una fase di moltiplicazione, una fase di crescita o vitellogenesi e una di maturazione. La fase di moltiplicazione si completa durante lo sviluppo embrionale; gli ovogoni compaiono all'8° giorno di incubazione e si moltiplicano rapidamente per mitosi successive, passando da 28.000 a 680.000 dal 9° al 17° giorno di incubazione per poi ridursi a 480.000 entro la schiusa; solo un numero relativamente molto piccolo sarà destinato a raggiungere la completa maturazione e l'ovulazione durante l'attività riproduttiva dell'adulto. Le cellule finali derivate dalla fase di moltiplicazione degli ovogoni sono gli ovociti primari, ancora diploidi, i quali iniziano la fase di maturazione, corrispondente essenzialmente al processo di meiosi. Alla schiusa, il nucleo cellulare si trova allo stato di pachitene e può lentamente iniziare ad evolvere in diplotene oppure rimanere a tale stadio anche per mesi o anni. Solo 2 ore prima dell'ovulazione avviene la prima divisione meiotica da cui hanno origine un ovocita secondario e un primo globulo polare. La seconda divisione meiotica con formazione del pronucleo femminile apolide e di un secondo globulo polare avviene nell'infundibolo dopo l'ovulazione.

La fase di crescita, definita vitellogenesi, corrisponde alla sintesi del vitello (o tuorlo) e consiste in una serie di cambiamenti che si verificano nel citoplasma cellulare e portano prima alla comparsa dei primi granuli di tuorlo e poi al loro accumulo in grande quantità. Il primo periodo di crescita corrisponde a un aumento del diametro del follicolo da 0,07 a 2,5 mm, questo periodo si distingue in due fasi successive ognuna caratterizzata dalla comparsa nel citoplasma di strutture particolari, ancora oggi poco conosciute, ritenute responsabili dei meccanismi di controllo dell'inizio della vitellogenesi. La prima fase è caratterizzata dalla presenza nel citoplasma del corpo di Balbiani, una struttura complessa temporanea (formata da citomembrane, strutture di Golgi, vescicole e mitocondri) che si

forma a ridosso del nucleo per poi disperdersi nel citoplasma quando il follicolo supera il diametro di 0,3 mm segnando il passaggio alla fase successiva, caratterizzata dalla comparsa di organuli citoplasmatici complessi di elevate dimensioni (indicati in inglese *macrobodies*) i quali si formano per endocitosi di materiale citoplasmatico. Quando il follicolo raggiunge i 2,5 mm di diametro si osserva la comparsa nel citoplasma delle prime sfere di vitello, definito come vitello bianco, in cui sono presenti principalmente proteine e minori quantità di lipidi. Segue quindi un secondo periodo di crescita in cui avviene la sintesi del vitello vero e proprio distinto in tre fasi successive: fase iniziale in cui il diametro del follicolo passa da 2,5 a 4 mm per l'accumulo di vitello bianco; fase intermedia in cui il diametro del follicolo passa da 4 a 8 mm per l'accumulo di vitello che comincia ad assumere la sua composizione definitiva (contenuto di lipidi maggiore del contenuto di proteine); fase principale in cui il diametro del follicolo passa da 8 a 37 mm per l'accumulo di vitello giallo. All'inizio del secondo periodo di crescita, l'ovocita si sposta sulla superficie del vitello dando origine a una zona particolare indicata come latebra e mantiene questa posizione durante tutto il successivo periodo di crescita. La durata della fase principale di crescita varia nei diversi volatili domestici, nella gallina varia da 6 a 14 giorni, nella tacchina da 11 a 15 giorni e nella quaglia da 5 a 7 giorni. Inoltre si è osservato un aumento della durata di questa fase durante l'invecchiamento della femmina, di conseguenza, un vitello prodotto da una gallina all'inizio del ciclo di ovodeposizione pesa circa 12 g, mentre quello prodotto alla fine pesa circa 23 g. Tutte le sostanze (lipoproteine, proteine, minerali e pigmenti) presenti nel vitello sono sintetizzate nel fegato, la cui attività duplica alla maturità sessuale, e trasportate all'ovaio tramite la circolazione ematica. La sintesi epatica della gallina in deposizione risulta quindi molto onerosa e corrisponde alla produzione giornaliera di circa 4 g di proteine solo per la sintesi dell'uovo. Tale attività di sintesi è controllata dagli ormoni ovarici, che svolgono sul fegato sia una azione diretta sia indiretta. Considerando i meccanismi e i tempi di sintesi del tuorlo dell'uovo, risulta di fondamentale importanza una corretta alimentazione della gallina ovaia, poiché l'alimento è la fonte principale delle sostanze necessarie alla sintesi epatica e sue eventuali alterazioni, anche se di breve durata, si ripercuotono immediatamente sulla produzione di almeno 4-7 uova (Cerolini *et al.*, 2008).

1.1.3. Ovidutto

Solo l'ovidutto di sinistra si sviluppa e diventa pienamente funzionale. L'ovidutto destro blocca il proprio sviluppo e inizia a regredire durante lo sviluppo embrionale in

corrispondenza dell'ottavo giorno di incubazione. Nella gallina, l'ovidutto alla schiusa si presenta come un tubo sottile, lungo 14-19 cm, il suo sviluppo è analogo a quello dell'ovaio, molto lento durante il periodo di crescita e molto rapido dopo la 16a settimana di vita per raggiungere la piena maturità morfologica e funzionale poco prima dell'inizio dell'ovodeposizione.

Nella gallina adulta, l'ovidutto è costituito da un tubo tortuoso di notevoli dimensioni che si estende dall'ovaio sinistro alla cloaca e occupa buona parte della cavità addominale, la sua lunghezza totale raggiunge i 60 cm e il peso i 40 g. Esso è sospeso alla parete dorsale addominale, centralmente al rene sinistro, da una piega del peritoneo che forma due legamenti, uno dorsale e uno ventrale, entrambi contenenti fibre muscolari lisce, più abbondanti lungo il margine libero del legamento ventrale dove formano una corda muscolare attaccata all'estremità posteriore della vagina. La parete dell'ovidutto presenta una struttura uniforme in tutta la sua lunghezza e risulta costituita da diversi strati o membrane sovrapposte. Esternamente a contatto con il peritoneo si trova il tessuto muscolare diviso in due strati, uno esterno di fibre muscolari longitudinali e uno interno di fibre muscolari circolari. I due strati muscolari sono separati fra di loro e dalla lamina propria più interna da tessuto connettivo. La lamina propria è la zona dove sono presenti le vere e proprie ghiandole pluricellulari di tipo tubulare; infine, lo strato più interno che delimita il lume è rappresentato da un epitelio di tipo secernente in cui sono presenti cellule caliciformi, responsabili dell'attività di secrezione, e cellule ciliate.

La mucosa presenta delle pliche a spirale lungo tutta la lunghezza dell'ovidutto, che possono variare sia come forma sia come complessità in funzione delle zone considerate. In modo analogo, anche lo sviluppo delle diverse porzioni della parete dell'ovidutto non è omogeneo, ma si osservano variazioni in funzione della zona considerata; di conseguenza, sebbene la struttura della parete sia simile in tutta la sua lunghezza, le variazioni numeriche e/o qualitative dei suoi componenti sono in grado di distinguere diverse zone con caratteristiche specifiche. L'ovidutto è vascolarizzato da diramazioni arteriose provenienti dalle arterie renali e iliache interne, mentre gli analoghi vasi venosi (vena renale craniale e vena iliaca interna) drenano il sangue per convogliarlo alla vena cava caudale. L'afflusso ematico è maggiore durante il periodo di presenza dell'uovo al suo interno e si riduce nei periodi di assenza. L'innervazione dell'ovidutto proviene sia dal sistema simpatico sia dal sistema parasimpatico; il movimento dell'uovo lungo l'ovidutto e anche la sua espulsione alla deposizione sono sotto il controllo nervoso, mentre l'attività di secrezione ne risulta

indipendente. L'ovidutto può essere suddiviso in cinque zone distinte, le quali procedendo in senso cranio-caudale sono l'infundibolo, il *magnum*, l'istmo, l'utero e la vagina.

L'infundibolo ha una tipica forma a imbuto nel suo tratto craniale (detto anche ampolla) a contatto con l'ovaio e si restringe a formare uno stretto tubo nel tratto caudale. La parete all'estremità craniale presenta dei prolungamenti, le fimbrie, che facilitano il passaggio dell'ovocita in ovidotto al momento dell'ovulazione. In particolare, le fimbrie in seguito a un maggiore afflusso di sangue e alla contrazione delle fibre muscolari presenti nella parete e nel legamento ventrale si estendono al momento dell'ovulazione e catturano l'ovocita liberato dal follicolo ovarico per introdurlo in ovidotto. Occasionalmente, tale meccanismo risulta inefficiente per cui l'ovocita può anche non passare in ovidotto e rimanere in cavità addominale dove viene rapidamente riassorbito entro 24 ore al massimo, questo evento viene definito come ovulazione interna. Nell'infundibolo, le pliche della mucosa sono per la maggior parte corte e semplici, rivestite da un epitelio pseudostratificato di tipo colonnare ciliato; solo nel tratto finale, in prossimità del passaggio alla zona successiva, le pliche diventano più numerose e complesse. La lamina propria è priva di ghiandole nella maggior parte dell'infundibolo e le prime strutture ghiandolari si osservano solo in prossimità del magnum. L'epitelio presenta cellule secernenti responsabili della produzione di muco acido. L'ovocita entra in infundibolo subito dopo l'ovulazione e vi staziona mediamente 18 minuti (range 15-30 minuti), durante questo intervallo può avvenire la fecondazione.

Il *magnum* è la porzione più sviluppata di tutto l'ovidutto e nella gallina ha una lunghezza di circa 33 cm. Si distingue nettamente dall'infundibolo per il colore bianco opaco, il maggiore diametro esterno e l'elevato spessore della parete, che può raggiungere i 5 mm, dovuto a un consistente aumento della massa ghiandolare. Internamente, la mucosa presenta numerose pliche voluminose di tipo semplice, senza pliche secondarie, di conseguenza, il lume interno dell'ovidutto in questo tratto si riduce a una stretta fessura delimitata dalle pliche stesse. Le ghiandole tubulari, presenti in questo tratto, sono molto numerose e compatte, rivestite internamente da alte cellule piramidali secernenti proteine e i dotti escretori si aprono su tutta la superficie del lume interno. In generale, la secrezione è di tipo merocrino, le proteine sono prima accumulate nel lume ghiandolare come granuli eosinofili poveri d'acqua e poi escrete, solo successivamente si compie l'idratazione della proteina. Tutte le proteine che saranno utilizzate per la produzione dell'albume dell'uovo sono già presenti nel magnum al momento dell'ovulazione. L'epitelio comprende sia cellule secernenti sia cellule ciliate, inoltre, sono presenti numerosi microvilli sulla

superficie del lume interno. Il diametro esterno del magnum si riduce all'estremità caudale per assumere le dimensioni caratteristiche del tratto successivo, l'istmo, da cui è nettamente separato da una sottile zona bianca priva di ghiandole. La funzione principale del magnum è la sintesi delle proteine dell'albume e l'uovo vi staziona per un periodo variabile da 2 a 3 ore.

L'istmo presenta un diametro esterno e una massa ghiandolare ridotti in confronto al magnum. Le ghiandole presentano comunque caratteristiche simili a quelle delle ghiandole descritte nel tratto precedente; i secreti ghiandolari sono di tipo proteico. Le pliche della mucosa in questo tratto sono piccole e separate da ampi spazi. Lo strato di fibre muscolari circolari della parete risulta ben sviluppato e di spessore maggiore in confronto a quello presente nel magnum. L'epitelio risulta costituito da cellule ciliate non secernenti e da cellule caliciformi secernenti, come nella maggior parte dell'ovidutto. La porzione distale dell'istmo è spesso indicata come istmo rosso, a causa della intensa colorazione della superficie interna della parete conseguente a un aumentato flusso ematico in questa zona (e nell'utero) in concomitanza della formazione del guscio. La funzione principale dell'istmo è la sintesi delle membrane testacee; inoltre, nell'istmo rosso risulta probabile l'inizio della sintesi del guscio, in particolare, la formazione dei nuclei mammillari. L'uovo staziona nell'istmo mediamente 1 ora e 14 minuti (intervallo variabile da 1 a 2 ore). L'utero (camera calcigena o ghiandola del guscio) presenta un tratto iniziale tubulare con un diametro simile a quello dell'istmo, ma si allarga subito dopo a formare un sacchetto permanente, che non si forma quindi in seguito alla distensione della parete per la presenza dell'uovo. La porzione di fibre muscolari longitudinali della parete è ben sviluppata. La mucosa presenta pliche interne più lunghe, strette e complesse in confronto a quelle presenti nell'istmo, mentre la massa ghiandolare è meno voluminosa. La superficie interna del lume si presenta intensamente colorata in confronto alle altre zone dell'ovidutto a causa della sua intensa vascolarizzazione, similmente all'istmo rosso. L'epitelio interno ha una organizzazione estremamente regolare, caratterizzata dall'allineamento su due file dei nuclei cellulari, le cellule con il nucleo nella fila più superficiale sono definite apicali e le altre basali. Le cellule apicali sono ciliate, mentre le cellule basali non hanno ciglia, comunque entrambe si estendono fino alla superficie libera del lume presentano microvilli. Le strutture ghiandolari vere e proprie presentano elementi cellulari con vacuoli e sono privi di granuli di secrezione. Si ipotizza una secrezione di tipo apocrino. I capillari ematici presenti nello spessore della lamina propria sono fenestrati, proprietà che favorisce il trasporto rapido di elevate quantità di metabolici.

L'utero svolge diverse attività, fra le quali la principale è la sintesi del guscio. L'uovo staziona nell'utero da 18 a 26 ore in funzione del ritmo di ovodeposizione.

La vagina è un tratto breve, stretto, nei Galliformi presenta una forma caratteristica a S, è in comunicazione con l'utero tramite uno sfintere muscolare e termina sul lato sinistro dell'urodeo, il tratto intermedio della cloaca. La mucosa presenta pliche longitudinali principali, da cui hanno origine pliche secondarie disposte parallelamente alle precedenti. Le pliche sono molto strette in confronto ad altre zone dell'ovidutto, a causa della ridottissima massa ghiandolare. L'epitelio interno è

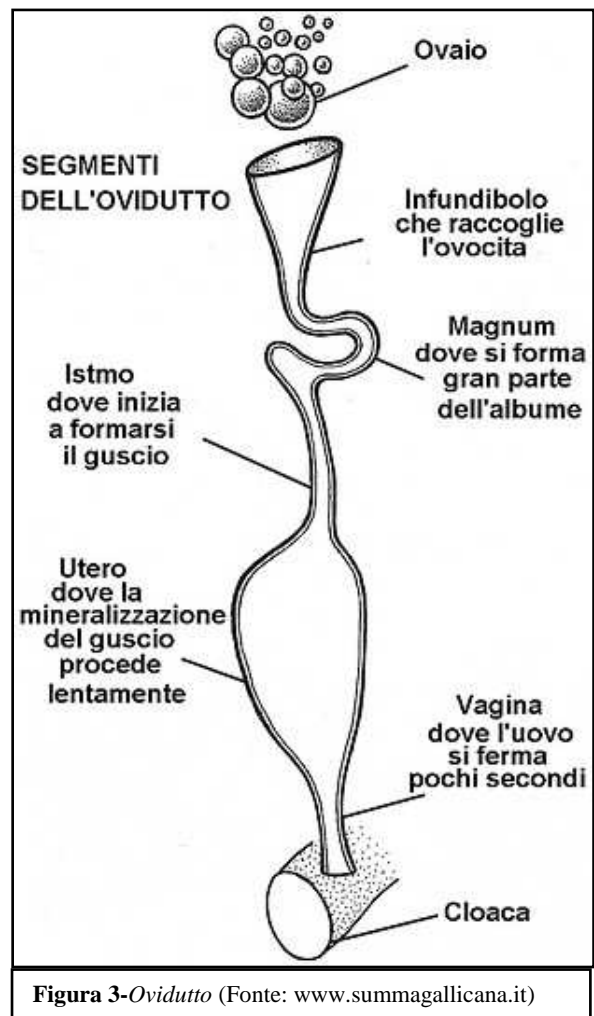


Figura 3-Ovidutto (Fonte: www.summagallicana.it)

sempre di tipo pseudostratificato e comprende cellule colonnari, ciliate e muco-secernenti; l'ultimo tipo cellulare è presente in maggiori proporzioni in confronto alle cellule ciliate per la maggior parte della lunghezza del tratto vaginale. La vagina è dotata di strutture ghiandolari solo nella zona di giunzione utero-vaginale; le ghiandole sono corte, ben distanziate una dall'altra e la loro funzione è di conservare gli spermatozoi depositati in vagina durante l'accoppiamento (o l'inseminazione artificiale) per periodi relativamente lunghi, variabili in funzione della specie, che possono arrivare a 20 giorni circa nella gallina e a 60 giorni circa nella tacchina. Considerando la loro funzione, sono generalmente indicate come ghiandole di stoccaggio degli spermatozoi (Sperm Storage Tubules, SST). Il lume ghiandolare è rivestito da cellule epiteliali di tipo colonnare caratterizzate da un nucleo basale, nucleoli prominenti e un vacuolo, che si presenta vuoto oppure ripieno di lipidi, posizionato sopra al nucleo. Gli spermatozoi sono conservati nelle SST in uno stato di quiescenza metabolica, immobili e con le membrane plasmatiche e acrosomale stabilizzate; essi sono rilasciati dalle ghiandole lentamente, ma costantemente per effettuare la risalita dell'ovidutto, favorita dal movimento delle ciglia presenti sulla superficie interna del lume, e raggiungere l'infundibolo, sede della fecondazione. Nella tacchina, il numero di spermatozoi immagazzinato nelle SST è di circa 2×10^6 , nonostante circa $200-400 \times 10^6$ di cellule siano regolarmente inseminate artificialmente ogni settimana.

Inoltre, si è osservato che il 50-70 % dei pulcini prodotti da una femmina sono tutti figli di 1 o 2 maschi, anche se la femmina era stata inseminata con un pool di seme costituito con 12-15 eiaculati di individui diversi. Questi fenomeni supportano l'ipotesi che gli spermatozoi destinati alle SST siano sottoposti a un criterio di selezione, alcuni Autori hanno ipotizzato un criterio di tipo immunologico, altri funzionale basato sulla capacità di movimento propria dei gameti maschili. I meccanismi di conservazione e di rilascio degli spermatozoi dalle SST sono fenomeni ancora sconosciuti e oggetto di studio.

La vagina non svolge alcun ruolo funzionale alla sintesi dell'uovo, ma partecipa con l'utero all'espulsione dell'uovo all'esterno, di conseguenza il tempo di percorrenza dell'uovo completo in questo tratto è di pochi minuti. La vagina ha comunque un'importanza fondamentale sulla funzione riproduttiva per la peculiare presenza delle SST (Cerolini *et al.*, 2008).

1.1.4. Formazione dell'uovo in ovidutto

L'ovulazione avviene per rottura della parete del follicolo a livello dello stigma e quindi l'ovocita con la sua massa di vitello viene inglobato dall'infundibolo nell'ovidutto, all'interno del quale avviene la sintesi delle restanti parti dell'uovo il quale, una volta completato, viene espulso dalla cloaca durante l'ovodeposizione. Il transito dell'uovo in ovidotto dura in totale circa 25-26 ore, quindi l'ovodeposizione si ripete con un ritmo superiore alle 24 ore. Ogni tratto dell'ovidutto svolge una specifica attività di sintesi, ognuna conseguente a quella precedente, la sintesi completa dell'uovo è quindi progressiva e parallela al transito dell'ovocita dall'infundibolo alla vagina. Durante il passaggio nell'infundibolo, si osserva un ispessimento nella membrana vitellina, le cellule secernenti dell'epitelio producono muco acido e le ghiandole presenti nella porzione distale iniziano la produzione dell'albumine e delle calaze. Nel magnum avviene la sintesi di tutte le proteine presenti nell'albumine. Le ghiandole secernenti del magnum svolgono una attività continua e vengono accumulate, al massimo, le proteine necessarie alla sintesi di 2 uova; di conseguenza, se si verifica una carenza alimentare in aminoacidi essenziali, questa si ripercuote sul 2 o uovo depresso. Si ritiene che esista una specificità di sintesi proteica dei diversi tipi cellulari presenti nella parete del magnum: le cellule delle ghiandole tubulari producono ovoalbumina, ovotransferrina e lisozima, mentre le cellule caliciformi dell'epitelio secernono avidina e ovomucina. L'attività secernente del magnum è sotto il controllo degli estrogeni e del progesterone che svolgono una azione combinata molto

complessa e specifica per ogni proteina prodotta. La funzione dell'albumina è di protezione del vitello dall'attacco di microrganismi e di fornire all'embrione i principi nutritivi, come l'acqua, le proteine e i minerali.

Quando l'uovo abbandona il magnum, l'albumina ha una consistenza gelatinosa e contiene solo il 50% del suo contenuto finale di acqua e, al contrario, sono già presenti la maggior parte dei suoi minerali (sodio, calcio e magnesio) ad eccezione del potassio. La stratificazione tipica dei componenti dell'albumina avviene in utero in seguito alla continua rotazione dell'uovo in quel tratto dell'ovidutto.

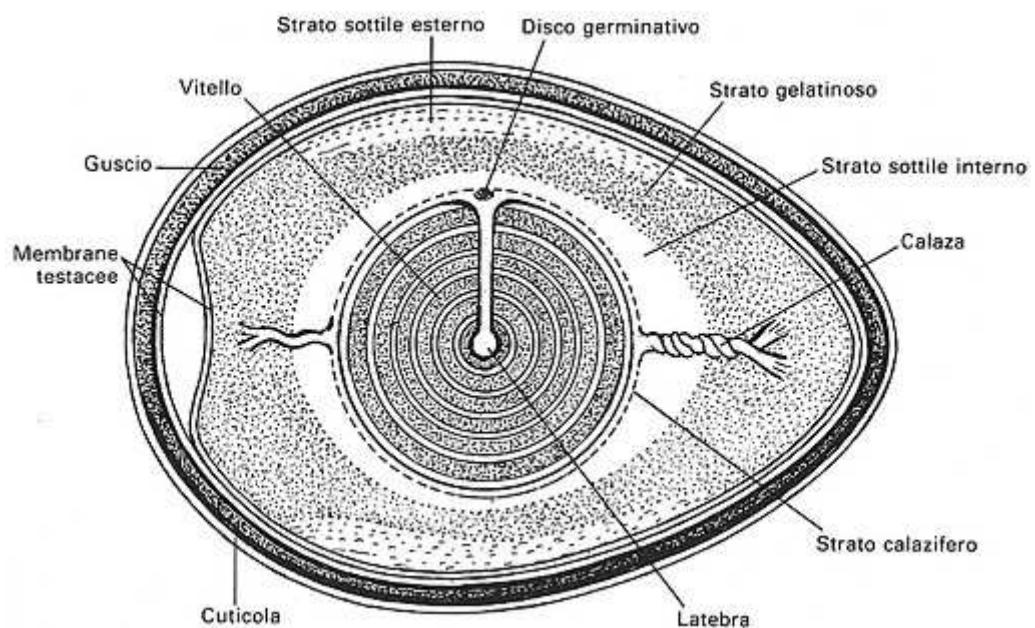
L'istmo sintetizza le due membrane testacee, interna ed esterna, che si presentano strettamente associate una all'altra e che formano la camera d'aria al momento dell'ovodeposizione separandosi a livello del polo ottuso dell'uovo. Le membrane testacee sono costituite da una rete di fibre composte da proteine (70-75 %), glicoproteine e collagene (10%). Le membrane testacee sono semipermeabili e permettono il passaggio di gas, acqua e cristalloidi, ma non di albumina. Si ritiene che non esista un controllo endocrino dell'attività dell'istmo, ma che sia la sua distensione provocata dall'arrivo dell'uovo a innescare la sintesi delle membrane. Nell'istmo rosso ha luogo la formazione dei nuclei mammillari che si presentano come proiezioni della membrana testacea esterna, in cui la composizione tipica della membrana viene modificata. Esse verranno poi inglobate nella struttura cristallina del guscio. I nuclei mammillari sono considerati i siti iniziali di calcificazione, rappresentano la maggior parte della matrice organica del guscio e sono composti principalmente da proteine, ma anche da carboidrati e mucopolisaccaridi; la loro sintesi viene attribuita alle cellule secernenti dell'epitelio. L'uovo entra nell'utero circa 5 ore dopo l'ovulazione e vi rimane in media 20 ore. L'attività principale dell'utero è la sintesi del guscio, a cui si aggiungono anche altre attività come il completamento dell'idratazione dell'albumina, la formazione delle calaze e della cuticola. L'idratazione dell'albumina si compie durante le prime 6 ore circa di permanenza dell'uovo in utero prima che si compia la calcificazione del guscio, un elevato quantitativo di acqua (15 g) in cui sono presenti enzimi, ioni minerali e sali viene trasferito dalle ghiandole tubulari della mucosa all'albumina secondo un processo particolare definito “ a caduta” (dal termine inglese “*plumping*”).

Il guscio è formato per il 3% da composti organici e per il 97% da composti inorganici. I composti organici sono rappresentati per la maggior parte (2%) da proteine e mucopolisaccaridi acidi organizzati in diversi strati che formano una matrice sulla quale si inserisce il processo di calcificazione; la sintesi della matrice organica inizia subito dopo

l'ingresso dell'uovo in utero. I composti inorganici sono rappresentati principalmente da cristalli di carbonato di calcio, sotto forma di calcite, e da minori quantità di carbonato di magnesio; essi sono organizzati in diversi strati di cristallizzazione: lo strato mammillare, quello a palizzata e quello cristallino superficiale. Lo strato mammillare è il primo a formarsi e ha uno spessore di circa 100 μm , il deposito dei cristalli inizia dai nuclei mammillari e procede verso l'esterno, alcuni cristalli sono depositati anche al di sotto dei nuclei a diretto contatto con la membrana testacea esterna, altri sono depositati lateralmente e possono crescere fino a unirsi a quelli di un nucleo adiacente, tuttavia, in certi punti questa crescita laterale non si verifica e si formano così dei pori con un diametro di 0,3-0,9 μm . La calcificazione prosegue con il deposito di cristalli organizzati in colonne perpendicolari alla superficie che formano lo strato a palizzata (o spongiforme) di 200 μm di spessore e si completa con uno strato superficiale di spessore ridotto, 3-8 μm , in cui l'organizzazione dei cristalli è ancora perpendicolare alla superficie ma più compatta rispetto allo strato precedente. La calcificazione dello strato a palizzata inizia circa 5-6 ore dopo l'ingresso dell'uovo in utero. Le ghiandole tubulari sono responsabili del continuo apporto di calcio per la costruzione del guscio. Infine, durante gli ultimi 30 minuti che precedono l'ovodeposizione, le cellule secernenti dell'epitelio producono una sottile membrana, la cuticola, composta da proteine (90%), polisaccaridi e lipidi; essa riveste esternamente il guscio ed ha una funzione di protezione dell'uovo, sia dalla evaporazione di acqua sia dall'attacco microbico. I principali pigmenti del guscio sono la protoporfirina, un complesso policristallino, e la biliverdina provenienti dalle cellule dell'epitelio; i pigmenti sono depositati nella cuticola, ma anche nella matrice inorganica di calcite del guscio durante un periodo che si estende da 3 a 0,5 ore prima della deposizione dell'uovo. Le calaze appaiono come due cordoncini bianchi ritorti, che si estendono lungo l'asse longitudinale dell'uovo dal tuorlo ai due poli, e mantengono il tuorlo stesso in posizione centrale. Le calaze sono costituite da due filamenti di ovomucina, la cui sintesi è iniziata in infundibulo, che assumono la forma caratteristica attorcigliata grazie alla continua rotazione dell'uovo in utero. Gli strati muscolari della parete dell'ovidutto presentano una attività contrattile che viene esercitata per favorire i seguenti eventi: l'ingresso dell'ovocita nell'infundibolo al momento dell'ovulazione, il passaggio progressivo dell'uovo nei diversi tratti dell'ovidutto, la rotazione dell'uovo secondo il suo asse maggiore durante la formazione del guscio in utero (la rotazione favorisce anche la stratificazione dell'albume e la formazione delle calaze), il passaggio dell'uovo dall'utero alla vagina e, infine, l'espulsione all'esterno attraverso la cloaca. La stessa presenza dell'uovo in ovidutto agisce

come stimolo meccanico che induce il progressivo trasporto dell'uovo verso la vagina. La deposizione dell'uovo, invece, si ritiene sia controllata dall'azione di diversi ormoni, tradizionalmente veniva associata a un aumento dell'arginina-vasotocina secreta dal lobo posteriore dell'ipofisi (neuroipofisi), tuttavia oggi si ritiene che le prostaglandine secrete dai follicoli pre- e post-ovulatori siano direttamente responsabili dell'ovodeposizione, provocando la contrazione muscolare dell'utero e il rilassamento della vagina che causano l'espulsione dell'uovo. Al momento dell'ovodeposizione, si verifica l'estroffessione della vagina con occlusione delle terminazioni degli apparati escretore e digerente in cloaca in modo che il guscio non venga contaminato da deiezioni durante il passaggio verso l'esterno; l'eventuale presenza di deiezioni sul guscio è dovuta a contaminazioni successive all'ovodeposizione (Cerolini *et al.*, 2008).

Figura 4-Struttura dell'uovo (Fonte: www.summagallicana.it)



1.1.5. Fonti del calcio per la sintesi del guscio

Il guscio è formato per il 97-98% da carbonato di calcio e per la percentuale rimanente da carbonato di magnesio e fosfato tricalcico. L'utero trasporta 2-2,5 g di calcio in un intervallo di 15 ore, corrispondente al periodo di calcificazione del guscio; questa quantità

è fornita dalla circolazione sanguigna e proviene principalmente da due fonti: alimentare, in seguito all'assorbimento intestinale, e scheletrica, in seguito al riassorbimento della matrice ossea. La fonte alimentare rappresenta la sorgente principale in grado di soddisfare la maggior parte del fabbisogno calcico per la sintesi del guscio se la gallina riceve una dieta adeguata (almeno 3,6 % di calcio) e diversi meccanismi fisiologici entrano in funzione durante l'ovodeposizione un più efficiente utilizzo del calcio alimentare. La fonte scheletrica assume maggiore importanza, arrivando a soddisfare il 30-40% del fabbisogno, solo in caso di carenza alimentare (calcio inferiore al 2%); tuttavia, dal momento che buona parte della sintesi del guscio avviene durante la notte, quando la femmina non si alimenta e il contenuto del digerente tende a diminuire, il contributo osseo alla formazione del guscio è importante nelle ultime ore del periodo di buio, anche in condizioni dietetiche normali. In particolare, nel caso di fotoperiodo classico circadiano di 16 ore di luce e 8 di buio, si è osservato che la sintesi dell'uovo si svolge dalle 20:00 alle 08:00 in corrispondenza dell'intervallo che si estende dalla 10a alla 22a ora successiva all'ovulazione. Il calcio ematico presenta due forme principali: una forma diffusibile libera rappresentata da ioni Ca^{++} (60 mg/l) e una forma non diffusibile legata (150-200 mg/l) a proteine di trasporto, come l'albumina e la vitellogenina. Alcune settimane prima della maturità sessuale, sotto l'influenza degli estrogeni, il livello ematico totale di calcio aumenta e non presenta particolari variazioni in funzione del ciclo di ovulazione-ovodeposizione; tuttavia, si ritiene che la forma libera sia quella direttamente sequestrata dalle cellule uterine e che l'equilibrio ematico dipenda dalla possibilità di scambio costante fra calcio in forma libera e forma legata. L'assorbimento intestinale di calcio raddoppia dal 40 all'80% durante la formazione del guscio grazie all'aumento della sintesi del metabolita attivo della vitamina D (1,25 diidrossicolecalciferolo, 1,25 (OH) $2D_3$), quest'ultimo è responsabile di una maggiore secrezione acida nel tratto digerente che favorisce l'aumento della permeabilità della mucosa intestinale e quindi un maggiore assorbimento di calcio; questa azione è regolata dagli ormoni estrogeni ed ha un andamento tipico giornaliero essendo presente nelle ore in cui l'uovo staziona nell'utero. L'apporto di calcio deve essere elevato sia prima che durante la la sintesi del guscio e questa esigenza viene soddisfatta da un particolare comportamento alimentare tipico della femmina in ovodeposizione, definito come appetito calcico, che consiste nell'aumentare l'ingestione volontaria di calcio in particolari momenti della giornata. L'appetito calcico inizia dopo 8-12 ore dall'ovulazione, proprio in corrispondenza dell'ingresso dell'uovo in utero, e si protrae per tutto il periodo di formazione del guscio; al contrario, l'appetito calcico non si manifesta nei giorni in cui

L'uovo non è presente in ovidotto. I meccanismi di trasporto del calcio attraverso la parete intestinale e uterina non sono ancora chiaramente conosciuti. In entrambi i tessuti, all'inizio dell'ovodeposizione si osserva un aumento della sintesi e dell'accumulo sia di $1,25(OH)_2D_3$ sia di calbindina, una proteina in grado di legare calcio. Le ghiandole dell'utero aumentano la secrezione di calcio circa 7 ore dopo l'ovulazione, raggiungono una attività massima durante la formazione del guscio e ritornano a una secrezione di tipo basale a guscio completato prima della deposizione, quando l'uovo è ancora presente in utero. L'ipotesi di una azione di controllo ormonale esercitata dagli estrogeni è stata formulata da alcuni Autori, tuttavia i meccanismi ormonali che regolano il processo di secrezione del calcio in utero sono ancora sconosciuti. Come descritto in precedenza, il riassorbimento di calcio osseo fornisce una fonte minerale nelle gallina in ovodeposizione, questo fenomeno presenta una certa variabilità fra individui ed è inversamente proporzionale al contenuto calcico intestinale, inoltre, minore è il suo contributo e maggiore è lo spessore del guscio. Per tutti questi motivi è consigliabile favorire il massimo contributo alimentare di calcio per la formazione del guscio in modo che il contributo scheletrico sia ridotto al minimo. Nella gallina, la mobilizzazione di calcio dalle ossa per la sintesi del guscio si svolge in una matrice ossea particolare, che prende il nome di osso midollare. Essa è presente nel midollo delle ossa lunghe (costole, femore e ossa pelviche) e si forma circa 10 giorni prima dell'inizio dell'ovodeposizione sotto l'azione regolatrice combinata degli estrogeni e degli androgeni. Durante il ciclo di ovulazione-ovodeposizione, l'osso midollare alterna periodi di intensa mobilizzazione a periodi di altrettanto intensa formazione di nuova matrice ossea; in condizioni normali, quindi, l'osso midollare è in grado di ripristinare le riserve perdute durante la formazione del guscio nei periodi in cui questa stessa attività è assente (Cerolini *et al.*, 2008).

1.2. CONTROLLO ENDOCRINO DELL'ATTIVITÀ RIPRODUTTIVA

L'attività riproduttiva è controllata dal sistema neuroendocrino ipotalamo-ipofisi che agisce sulla gonade. In generale, l'ipotalamo produce ormoni liberanti che, tramite il sistema vascolare portale, raggiungono l'ipofisi anteriore dove promuovono la secrezione di ormoni gonadotropi. Questi vengono trasferiti nella circolazione sistemica per arrivare alla gonade dove stimolano la produzione di ormoni steroidei (Cerolini *et al.*, 2008).

1.2.1. Ormoni ipotalamici

L'ipotalamo produce ormoni liberanti (*Gonadotrophin Releasing Hormones*, GnRH) che svolgono una azione positiva sull'attività endocrina dell'ipofisi anteriore. Nelle specie aviarie, si sono identificate due forme di GnRH, l'LHRH-I e l'LHRH-II (*Luteinizing Hormone Releasing Hormone I e II*), entrambe decapeptidi con una sequenza aminoacidica oggi nota. Le due forme sono state isolate in nuclei ipotalamici diversi, ma solo l'LHRH-I è presente nell'eminenza mediana e può quindi essere trasferito attraverso il sistema vascolare portale all'ipofisi anteriore. Questa e altre evidenze scientifiche dimostrano che solo l'LHRH-I è direttamente responsabile della produzione ipofisaria di gonadotropine, mentre la funzione dell'LHRH-II non è ancora certa e si ipotizza un eventuale controllo indiretto sull'attività riproduttiva. L'LHRH-I controlla sia la secrezione basale, sia quella acuta di gonadotropine ipofisarie (Cerolini *et al.*, 2008).

1.2.2. Ormoni ipofisari

L'ipofisi anteriore, o adenoipofisi, sotto l'azione positiva dell'LHRH-I, secreta e immette nella circolazione sistemica due ormoni ad attività gonadotropica: l'ormone luteinizzante (LH) e l'ormone follicolostimolante (FSH). Le gonadotropine degli Uccelli presentano caratteristiche chimiche e fisiche analoghe a quelle dei Mammiferi e per questo motivo sono di norma indicate con lo stesso nome; tuttavia, l'azione dei due ormoni non è sempre la stessa in entrambe le Classi animali. L'LH e l'FSH sono glicoproteine composte da due subunità α e β ; la subunità α è comune ad entrambi gli ormoni, mentre la subunità β è specifica per ciascun ormone e quindi responsabile dell'azione particolare svolta sulla gonade. Il ruolo delle gonadotropine ipofisarie è di stimolare l'attività endocrina della gonade e, attualmente, questo ruolo viene differenziato in funzione dello stadio di sviluppo dei follicoli ovarici. Il ruolo primario dell'FSH è esercitato sulle cellule della membrana granulosa nella parete dei follicoli di piccole dimensioni, quelli non ancora reclutati per la scala gerarchica, e consiste in una azione di differenziazione e di induzione dell'attività steroidogenica delle stesse cellule; al contrario, si ritiene che l'FSH non svolga alcuna azione steroidogenica sui follicoli della scala gerarchica. L'LH svolge una azione positiva sull'attività steroidogenica generale di tutti i follicoli ovarici, sia quelli di piccole dimensioni sia quelli della scala gerarchica. Nei follicoli di piccole dimensioni, l'LH stimola la sintesi di androgeni e di estrogeni, mentre nei follicoli della scala gerarchica

L'LH stimola anche la sintesi di progesterone, oltre a quella di androgeni e di estrogeni. L'LH è il principale ormone responsabile del processo di ovulazione e questa azione è in relazione due eventi principali: un picco di induzione o crepuscolare e un picco pre-ovulatorio. L'LH presenta un ritmo ematico circadiano e all'inizio del periodo di buio si verifica regolarmente ogni 24 ore un suo lieve aumento, picco di induzione, responsabile dell'avvio dei cambiamenti ormonali che culminano con l'ovulazione se concomitanti a una condizione ovarica favorevole. Nella gallina e anche in molti altri volatili, l'ovulazione è sempre preceduta da un picco ematico pre-ovulatorio di LH che probabilmente agisce come stimolo per iniziare la rottura della parete del follicolo e permettere l'ovulazione a distanza di 6-8 ore.

La stretta associazione anatomica fra l'ovaio e la ghiandola surrenale ha supportato l'ipotesi che anche gli ormoni surrenalici (corticosterone e catecolamine) fossero coinvolti nella regolazione dell'attività riproduttiva, tuttavia, nonostante i numerosi svolti fino ad oggi, non sono stati ottenuti risultati certi che confermino questa ipotesi. L'ipofisi anteriore secreta anche un terzo ormone, la prolattina, con azione sull'attività riproduttiva e generalmente associato al fenomeno della cova dell'uovo. Come nei Mammiferi anche negli Uccelli, la prolattina è un ormone proteico che presenta diverse forme distinte per l'attività biologica, per le caratteristiche immunologiche e la presenza di vari recettori. Questo ormone svolge una azione molto complessa, che coinvolge non solo la funzione riproduttiva, ma anche altre, come l'equilibrio osmotico, la crescita e azioni metaboliche specifiche. Per quanto riguarda l'influenza sulla funzione riproduttiva, l'aumento di prolattina ematica è strettamente associato alla cova che comporta sia cambiamenti fisiologici sia comportamentali. Tuttavia, nell'avicoltura intensiva la cova è una attività riproduttiva non necessaria dal momento che lo sviluppo embrionale avviene tramite l'uso esclusivo dell'incubazione artificiale. Di conseguenza, le femmine riproduttrici sono state selezionate con l'obiettivo di aumentare l'ovodeposizione ed eliminare l'attitudine alla cova (Cerolini *et al.*, 2008).

1.2.3. Ormoni ovarici

L'ovaio, sotto il controllo ipofisario, secreta ormoni sessuali steroidei rappresentati da progesterone, androgeni ed estrogeni; gli ormoni ovarici esercitano a loro volta una azione di *feedback* sul sistema neuroendocrino regolando la produzione delle gonadotropine ipofisarie: gli estrogeni e gli androgeni esercitano un *feedback* negativo, il progesterone un *feedback* positivo.

Gli ormoni steroidei sono prodotti dalle cellule della granulosa e delle due teche presenti nella parete del follicolo e questa attività endocrina cambia in funzione dello stadio di sviluppo del follicolo stesso. Nei follicoli di diametro inferiore a 9 mm che non hanno ancora iniziato la fase principale di crescita rapida, le cellule della granulosa non presentano alcuna produzione ormonale, mentre le cellule della teca interna utilizzano il colesterolo per produrre principalmente androstenedione, che è poi convertito in estrogeni nelle cellule della teca esterna. Nei follicoli di grandi dimensioni formanti la scala gerarchica, si ritiene che la sintesi di ormoni steroidei avvenga secondo un modello basato sull'integrazione dell'attività enzimatica presente nei tre tipi cellulari della parete del follicolo: le cellule della granulosa utilizzano il colesterolo per la produzione principale di progesterone, il quale viene poi convertito in androstenedione nelle cellule della teca interna, infine, l'androstenedione diventa il substrato delle cellule della teca esterna per la produzione di estrogeni; una piccola quantità di androgeni, in particolare testosterone, è prodotta probabilmente sia nelle cellule della granulosa, sia in quelle della teca interna. Il reclutamento del follicolo nella scala gerarchica è caratterizzato da un cambiamento fondamentale delle cellule della granulosa che passano da una fase FSH dipendente a una fase LH dipendente e ciò determina l'attività endocrina tipica del follicolo in rapido accrescimento. Gli estrogeni, estrore e 17 β -estradiolo, sono sintetizzati dalle cellule della teca esterna presente nella parete del follicolo. Nell'adulto, la sintesi degli estrogeni è prevalente nei follicoli F2 e F3 della scala gerarchica, mentre il follicolo F1, corrispondente a quello più vicino all'ovulazione, non produce più estrogeni, ma solo progesterone. Gli estrogeni favoriscono la comparsa di recettori citoplasmatici per il progesterone nell'ipotalamo, per cui svolgono un'indispensabile azione preliminare di induzione affinché il progesterone possa svolgere la sua azione di feedback positivo con conseguente aumento di LH ematico. Gli estrogeni svolgono una azione molteplice mirata nel complesso a promuovere la formazione dell'uovo, in particolare i singoli eventi influenzati positivamente sono di seguito elencati:

- crescita dell'ovidutto;
- formazione delle ghiandole tubulari e differenziazione dell'epitelio nella parete dell'ovidutto;
- sintesi epatica dei lipidi e delle proteine destinate alla formazione del tuorlo;
- trasporto ematico di lipoproteine e di calcio e loro accumulo nel follicolo ovarico;
- sintesi delle proteine dell'albume nel magnum;

- formazione dell'osso midollare prima e durante l'ovodeposizione;
- assorbimento intestinale di calcio durante l'ovodeposizione.

Infine gli estrogeni agiscono anche sulla comparsa dei caratteri sessuali secondari, come colore e forma della livrea, e sul comportamento sessuale.

Gli androgeni sono prodotti dalle cellule della teca interna presente nella parete del follicolo. Alla maturità sessuale, essi sono responsabili della crescita e della pigmentazione della cresta e dei bargigli e promuovono la formazione dell'osso midollare agendo in sinergia con gli estrogeni. Si è osservato che il livello ematico di androgeni può aumentare in prossimità dell'ovulazione e anche durante la muta, tuttavia non si conosce il significato fisiologico di tali cambiamenti. Il progesterone è secreto principalmente dalle cellule della membrana granulosa della parete del follicolo F1 della scala gerarchica e la sua funzione principale è quella di promuovere l'ovulazione, in associazione con l'LH ipofisario. Inoltre, in conseguenza all'identificazione di recettori specifici in diversi siti dell'ovidutto, si è ipotizzato un suo ruolo sulla sintesi proteica (in particolare di avidina) delle ghiandole del magnum, sulla contrazione muscolare della parete e sulla formazione del guscio in utero e un ruolo diretto sulla deiscenza dello stigma al momento dell'ovulazione.

La secrezione di LH ipofisario aumenta progressivamente dopo la schiusa per diverse settimane consecutive e presenta un picco circa 3 settimane prima della maturità sessuale. La produzione di estrogeni nella gonade è presente fin dai primi giorni di incubazione, continua ad aumentare dopo la schiusa e raggiunge un picco ematico 2-3 settimane prima dell'inizio dell'ovodeposizione per poi diminuire al valore basale di 100-150 pg/ml che viene mantenuto durante il periodo adulto. Il livello ematico di progesterone è molto basso durante tutto il periodo di crescita e aumenta a 0,4-0,6 ng/ml (valore basale) solo una settimana prima della maturità sessuale, in corrispondenza della comparsa dei follicoli maturi prossimi all'ovulazione (Cerolini et al., 2008).

1.2.4. Stress e attività riproduttiva

Si può definire il termine “ stress” come uno stato di disagio di varia intensità e durata provocato nel pollame da varie cause. Tra queste le principali sono: le brusche variazioni climatiche e stagionali, con escursioni termiche notevoli nei due sensi; gli spaventi provocati da varie cause (temporali, terremoti, vento violento, animali predatori e topi, caduta di qualche pezzo dell'arredamento interno, ecc.); gli squilibri e le deficienze alimentari; le sostanze tossiche; l'impiego prolungato e irrazionale di medicinali; gli

errori di allevamento (che sono numerosissimi: l'eccessiva densità dei soggetti, la mancanza di spazio di mangiatoie ed abbeveratoi, il ricambio d'aria deficiente, l'eccessiva umidità ambientale, la lettiera inadeguata e mal tenuta, l'illuminazione deficiente, l'insufficienza o irrazionalità dei nidi e posatoi, ecc.); gli interventi sugli animali; i parassiti esterni ed interni; tutte le malattie in genere; ed infine ogni brusco cambiamento di abitudini può costituire cause di stress.

E' noto come ogni stress influisca negativamente sullo stato di salute degli animali e quindi sulle loro produzioni, incidendo anche gravemente sul bilancio economico.

Dal punto di vista endocrino la caratteristica principale dello stress è la liberazione ipotalamica di CRH. A questa consegue la liberazione ipofisaria di ACTH. Insieme a questo vengono liberate B lipotropine e B endorfine, provenienti dalla scissione del comune precursore (preopiomelanocortina=POMC). Gli effetti periferici della secrezione ipofisaria, sono la lipolisi e la liberazione di glucocorticoidi. I fattori di origine ipofisaria (ACTH, β endorfine, MSH ecc.) hanno importanti effetti sull'ipotalamo, cui giungono forse anche circolazione retrograda dall'ipofisi. Tuttavia a livello encefalico lo stress determina anche la liberazione locale di neuroormoni endogeni a livello ipotalamico, come pure in aree extraipotalamiche (ACTH, endorfine, encefalite, dinorfine, ADH) ai quali sono da addebitare importanti effetti comportamentali. Lo stress, con la liberazione dei glucocorticoidi, causa anche inibizioni ormonali, quali quella della liberazione di GnRH, con conseguente diminuzione dell'attività gonadotropica (Debenedetti, 1998).

1.2.5. Ovodeposizione e fotoperiodo

Il ciclo ovulatorio è definito come l'intervallo di tempo che separa due ovulazioni successive; nella gallina può variare da un minimo di 25 a un massimo di 28,5 ore e quindi si ripete regolarmente per più giorni consecutivi. L'ovulazione è seguita dalla deposizione dell'uovo dopo un intervallo di tempo variabile da poco più di 24 ore a 28 ore (ciclo di ovulazione-ovodeposizione), di conseguenza, anche la deposizione dell'uovo si ripete per diversi giorni consecutivi. I giorni consecutivi nei quali si ripete costantemente l'ovodeposizione sono definiti come sequenza, mentre i giorni in cui non si verifica la deposizione sono definiti come pausa. Il ritmo di ovodeposizione è determinato dalla continua successione di periodi di sequenza e di pausa; maggiore è la durata della sequenza e più alta è la percentuale di ovodeposizione, cioè il numero di uova deposte in un preciso intervallo di tempo. Nei soggetti selezionati per l'aumento dell'ovodeposizione le sequenze sono costituite da un numero di giorni molto elevato (esempio 9-13 giorni) e interrotte da

pause di un solo giorno, il risultato è una attività sessuale quasi ininterrotta per periodi molto lunghi che, nella gallina ovaioia, possono arrivare a 365 giorni. Nelle prime due settimane di ovodeposizione successive alla maturità sessuale, la gallina depone con ritmo erratico e con una elevata frequenza di uova anomale (esempio con doppio tuorlo o con guscio molle), nelle successive 6-10 settimane il ritmo di ovodeposizione diventa regolare e raggiunge la massima frequenza (picco di ovodeposizione), infine, inizia una fase di progressiva diminuzione che si protrae per numerose settimane consecutive e si conclude con la rimonta oppure con l'induzione forzata della muta accompagnata dalla completa sospensione dell'ovodeposizione. L'ovodeposizione si verifica solo in un intervallo di tempo ben definito nell'arco delle 24 ore, sincronizzato con il fotoperiodo e tipico di ogni specie. Ad esempio, utilizzando un fotoperiodo di 16 ore di luce e 8 di buio, la gallina depone le uova a partire dalle prime ore di luce fino alle 16:00, quindi per un periodo di 8 ore circa, e l'orario in cui è massima la frequenza di ovodeposizione corrisponde alle 11:00 circa; dopo le 16:00 e durante il periodo notturno non si verifica mai la deposizione dell'uovo. Sempre utilizzando lo stesso fotoperiodo, la tacchina presenta un comportamento di ovodeposizione diverso da quello della gallina, infatti l'intervallo di tempo in cui è probabile la deposizione è più lungo e compreso fra le 10:00 e le 22:00 e il momento di massima frequenza ritardato alle 14:00. Dovendo rispettare questo tipico ritmo giornaliero, l'intervallo fra due ovodeposizioni successive tende a ridursi all'aumentare della lunghezza della sequenza. Il ritmo di ovodeposizione descritto è il risultato della somma di due cicli fisiologici distinti, il ritmo di ovulazione e il periodo di formazione dell'uovo in ovidotto, entrambi questi cicli non risultano avere un ritmo circadiano, ma sono leggermente superiori alle 24 ore. All'inizio si è detto che il ritmo di ovulazione ha una durata variabile e si ripete con frequenza giornaliera. Il momento dell'ovulazione viene calcolato sapendo che questo segue di 30-45 minuti quello di ovodeposizione. In studi sperimentali compiuti nella gallina, si è calcolato che l'ovulazione si verifica sempre in un particolare intervallo di tempo di 8 ore circa che inizia in corrispondenza dell'inizio del periodo di buio, sincronizzato quindi con il fotoperiodo, indicato come “ periodo aperto” (dall'inglese *open period*). Il “periodo aperto” è determinato dal ciclo circadiano luce-buio e ha anch'esso un andamento circadiano, quindi si ripete regolarmente ogni 24 ore. Il ritmo di ovulazione è il risultato della coincidenza di due cicli fisiologici distinti e asincroni, il primo è il “ periodo aperto” che determina l'orario giornaliero della possibile ovulazione e il secondo è il ritmo di maturazione dei follicoli ovarici che determina il progressivo ritardo giornaliero delle ovulazioni successive

in una sequenza. Il “ periodo aperto” inizia in corrispondenza del passaggio dalla fase luminosa alla fase notturna e corrisponde a un evento neuroendocrino (asse ipotalamo-ipofisi) in grado di innescare i cambiamenti ormonali che portano all’ovulazione. L’evento neuroendocrino scatenante non è ancora oggi chiaramente identificato e sono state formulate diverse ipotesi. Quella ritenuta più attendibile considera come evento iniziale un aumento ematico di LH che si ripete con frequenza circadiana all’inizio del periodo di buio, picco di induzione o crepuscolare; questo aumento è in grado di stimolare l’attività endocrina dei follicoli presenti nella gonade, se un follicolo della scala gerarchica ha raggiunto la maturazione completa e passa dalla posizione di F2 a quella di F1, la teca interna della parete interrompe la sintesi di androgeni e la membrana granulosa aumenta quella di progesterone, di conseguenza si verifica un aumento di progesterone ematico, il quale, a sua volta, esercita una azione di *feedback* positivo sull’ipotalamo causando una ulteriore sintesi e aumento ematico di LH. Si alimenta così un meccanismo a cascata che porta all’aumento progressivo dei due ormoni che culmina in picchi ematici di LH e progesterone che precedono regolarmente di 6-8 ore l’ovulazione. I picchi pre-ovulatori sono chiaramente evidenti e corrispondono a un livello ematico di LH e di progesterone rispettivamente oltre due e sette volte il livello basale. La presenza di un follicolo F1 è indispensabile per innescare il meccanismo ormonale a cascata responsabile dell’ovulazione e, se tale presenza non si verifica, al picco di LH di induzione non segue alcuna variazione nel livello ematico di progesterone, non si innesca il meccanismo ormonale a cascata e non seguono i picchi pre-ovulatori e l’ovulazione, quindi non si verifica ovodeposizione nel giorno successivo che diventa un giorno di pausa. Utilizzando un fotoperiodo circadiano, il ritmo di maturazione dei follicoli ovarici mediamente risulta di 25 ore in una sequenza, mentre l’ultima ovulazione della sequenza è separata da 40 ore circa dalla prima ovulazione della sequenza successiva. Il calo del ritmo di ovodeposizione che si osserva durante l’invecchiamento della gallina, corrispondente nella pratica di allevamento al progredire del ciclo riproduttivo, si ritiene dipendere da una riduzione della sensibilità ormonale dell’asse ipotalamo-ipofisi e, al contrario, la gonade non sembra ridurre la propria attività e la maturazione dei follicoli continua ad essere efficiente e in grado di mantenere una normale scala gerarchica (Cerolini *et al.*, 2008).

2. IL CALO DELL'OVODEPOSIZIONE

Il calo di ovodeposizione costituisce un meccanismo fisiologico che accompagna la gallina alla fine di un ciclo produttivo, ma può anche essere una conseguenza di uno stato patologico della gallina dovuto a fattori diversi spesso integrati o amplificati fra loro. Tale situazione, valutata in base all'allontanamento della produzione dallo standard, può essere definita: sindrome da calo di deposizione per il fatto che agenti patogeni, fattori predisponenti e agenti di irruzione secondaria interagiscono dando origine ad un problema che spesso non ha riscontro sullo stato di salute apparente dell'animale e del gruppo.

2.1. PATOLOGIA INDOTTA DALL'ALIMENTAZIONE

L'alimentazione gioca un ruolo di primaria importanza nell'allevamento degli animali in generale e dei polli in particolare. E' importante dal punto di vista selettivo perché è, fra tutti i fattori ambientali, quello che maggiormente influisce sulla variabilità individuale.

La somministrazione infatti di razioni bilanciate, in grado cioè di soddisfare le esigenze nutritive del pollame, costituisce il mezzo principale per consentire la manifestazione, nella misura più completa, delle capacità produttive che sono, tra l'altro, la espressione del patrimonio genico. Sotto questo aspetto l'alimentazione può essere considerata un mezzo selettivo, sia pure indiretto, di indiscussa efficacia. L'alimentazione inoltre influisce sulle condizioni sanitarie dell'individuo e rappresenta quindi il mezzo più valido per conferire all'organismo una efficiente resistenza ad agenti patogeni.

E' infine un fattore economico di indiscussa importanza, influenzando in senso positivo o negativo, sulle caratteristiche organolettiche e sulla composizione dei prodotti avicoli: carne ed uova.

Il tipo di pollame attualmente a disposizione degli allevatori, le moderne tecniche di allevamento, impongono l'impiego di diete bilanciate, che tengano conto delle esigenze nutritive del pollame in funzione: dell'età, della razza, dell'incrocio, dell'indirizzo produttivo che si vuole perseguire e, non ultime, le tecniche di allevamento adottate.

Il pollo è, fra tutti gli animali domestici, il più vorace, non è mai sazio ed è sempre pronto alla ricerca del cibo. Non appena il gozzo e lo stomaco ghiandolare sono vuoti è pronto a riempirli nuovamente. Sono state avanzate varie ipotesi volte a spiegare il fenomeno della fame e della sazietà dei polli, e molta responsabilità è stata attribuita all'ipotalamo, quale regolatore dell'assunzione del mangime. Comunque vari sono i fattori

che possono essere chiamati in causa e precisamente: i fattori genetici, il peso corporeo, il sesso, l'età, la deposizione e la grossezza delle uova, l'impennamento, la tecnica dell'allevamento, l'appetibilità del mangime, la composizione delle razioni, la temperatura ambiente, gli stress, ecc.

I polli sono omeotermi a sangue caldo, il loro principale problema è quello di mantenere costante la temperatura corporea ed in relazione a ciò regolano l'ingestione del mangime. Se la quantità di energia ingerita è superiore al fabbisogno il pollo mangia di meno, in caso contrario aumenta la quantità di mangime che ingerisce (Giavarini, 1988).

Gli alimenti sono in generale delle sostanze di notevole complessità chimica che attraverso una serie di trasformazioni originate da fenomeni digestivi e dall'assorbimento, forniscono agli organismi che li assumono sostanze chimiche relativamente semplici rispetto a quelle originarie, che vengono chiamate "principi nutritivi".

I principi nutritivi essenziali che devono far parte di una razione sono: le proteine, i carboidrati, i grassi, le vitamine, i minerali e l'acqua (Asdrubali *et al.*, 1996).

2.1.1. Proteine

Le proteine sono sostanze organiche complesse formate ordinariamente da carbonio, ossigeno, idrogeno, azoto. A questi quattro elementi chimici fondamentali se ne possono aggregare altri: fosforo, zolfo, rame e ferro.

Esse sono unità polimerizzate di aminoacidi i quali rappresentano il prodotto terminale del processo digestivo (Asdrubali *et al.*, 1996).

Gli Uccelli sintetizzano proteine contenenti venti aminoacidi in forma levogira (L-aminoacidi).

Gli aminoacidi ottenuti dalle proteine alimentari vengono utilizzati dall'animale per assolvere diverse funzioni. Gli aminoacidi sono i costituenti principali dei tessuti strutturali e di protezione

(piume, pelle, matrice ossea e legamenti), così come dei tessuti molli (organi e muscoli). Inoltre, aminoacidi e peptidi fungono da regolatori di numerosi processi metabolici. Gli aminoacidi in forma libera sono coinvolti in processi anabolici e catabolici che comprendono la sintesi di proteine, l'interconversione di aminoacidi, la gluconeogenesi, la chetogenesi e l'ossidazione, che nel complesso costituiscono il metabolismo proteico. Le proteine corporee sono sottoposte a un continuo processo di rinnovamento, per tale ragione è necessario un adeguato apporto proteico giornaliero attraverso l'alimentazione.

Dal punto di vista nutrizionale, gli aminoacidi vengono classificati in:

- aminoacidi essenziali: non possono essere sintetizzati dall'animale per cui devono necessariamente essere introdotti nell'organismo con la dieta. Gli aminoacidi essenziali sono: arginina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, e valina. Nel pulcino la sintesi endogena di istidina, glicina e prolina è insufficiente, per cui tali aminoacidi sono considerati essenziali negli Uccelli in accrescimento;
- aminoacidi semi-essenziali: la sintesi di tali aminoacidi è possibile in presenza dei rispettivi precursori essenziali, è il caso di cisteina e tirosina che possono essere sintetizzati rispettivamente a partire da metionina e fenilalanina. La cisteina può essere sintetizzata anche a partire dalla serina che non è considerata essenziale;
- aminoacidi non essenziali: tali aminoacidi possono essere sintetizzati a partire da prodotti intermedi del metabolismo e in presenza di donatori di gruppi amminici (alanina, glicina, serina, acido aspartico e acido glutammico) o da altri aminoacidi non essenziali (glutamina, asparagina e prolina).

La *qualità della proteina alimentare* dipende dalla sua quantità, digeribilità e composizione aminoacidica. In un alimento, l'aminoacido che risulta maggiormente deficitario, rispetto al fabbisogno animale, è definito *primo aminoacido limitante*. Il successivo è definito *secondo aminoacido limitante* e così via.

Il concetto di *proteina ideale* si riferisce alla proteina alimentare dove la quantità di aminoacidi essenziali soddisfa completamente il fabbisogno dell'animale e la quantità di aminoacidi non essenziali è sufficiente a garantire la sintesi endogena di tutti gli aminoacidi non essenziali. Nella pratica, i principali aminoacidi limitanti nelle diete per avicoli sono lisina, metionina e triptofano. In tal senso, si può considerare che le diete provviste di adeguati apporti di tali aminoacidi, consentono automaticamente la copertura del fabbisogno di tutti gli aminoacidi.

Il fabbisogno *proteico* e *aminoacidico* varia in funzione delle condizioni dell'animale, dell'intensità di accrescimento o del livello di ovodeposizione. I pulcini in accrescimento e le ovaiole in deposizione manifestano elevati fabbisogni proteici e aminoacidici per poter sostenere l'accrescimento dei tessuti o la produzione di uova. I galli adulti, rispetto alle galline in deposizione, manifestano fabbisogni inferiori anche a fronte di un peso corporeo maggiore e di un livello di ingestione alimentare simile (Schiavone, 2008).

Carenza di aminoacidi

Nel pulcino, la grave carenza di aminoacidi si manifesta con una riduzione dell'accrescimento e del consumo di alimento. La riduzione dell'ingestione alimentare si verifica dopo alcune ore dall'ingestione di diete carenti ed è dovuta all'alterazione della composizione aminoacidica plasmatica e tissutale. L'anoressia ha la funzione di compensare, attraverso la mobilitazione delle proteine corporee, lo squilibrio aminoacidico plasmatico che si verifica a seguito dell'ingestione di diete carenti. Parallelemente si assiste al deposito di tessuto adiposo anziché di tessuto muscolare, poiché parte degli aminoacidi, non utilizzabili a fini plastici, vengono deaminati e convertiti in lipidi. Carenze moderate di aminoacidi vengono transitoriamente compensate dall'aumento di ingestione di alimento nel tentativo di soddisfare il fabbisogno aminoacidico. Anche in questo caso si assiste all'aumento dei depositi adiposi poiché, conseguentemente all'aumentata ingestione, una maggior quantità di energia viene incorporata e gli eccessi trasformati in lipidi. In ogni caso, carenze transitorie vengono prontamente compensate se la dieta viene opportunamente sostituita. La carenza cronica induce un ritardo nel raggiungimento della taglia dell'adulto che spesso si presenta emaciato. Negli animali adulti, la carenza di proteine alimentari determina un aumento del catabolismo delle proteine corporee, principalmente nei muscoli scheletrici, e un bilancio azotato negativo. Nelle femmine in deposizione si osserva una riduzione dell'ovodeposizione fino al suo arresto. In ogni caso le uova deposte sono di peso inferiore e tale riduzione è imputabile principalmente a una minore produzione di albume, che è la componente dell'uovo a più alto contenuto proteico. I pulcini schiusi da queste uova sono soggetti a elevata mortalità, sono di peso inferiore e manifestano un ritardo nell'accrescimento e nelle capacità di apprendimento. La carenza moderata di metionina determina la riduzione del peso dell'uovo ma non del numero di uova deposte (Schiavone, 2008).

Eccesso di aminoacidi

Moderati eccessi di proteina alimentare sono ben tollerati se la composizione aminoacidica è bilanciata. Notevoli eccessi di proteina alimentare determinano riduzione della crescita e aumento dell'uricemia.

Eccessi di un singolo aminoacido sono meno tollerati rispetto agli eccessi globali di proteina alimentare. La metionina è l'aminoacido considerato maggiormente tossico, la sua presenza a concentrazioni di 3-4 volte superiori rispetto al fabbisogno determina riduzione della crescita e dell'ingestione alimentare. Dal momento che la metionina è l'aminoacido

che più frequentemente viene aggiunto alle diete commerciali, il suo accidentale eccesso può verificarsi con maggior frequenza rispetto ad altri aminoacidi. L'ordine di tossicità da eccesso di aminoacidi nel pollo in accrescimento è : metionina>fenilalanina>triptofano=istidina=lisina>tirosina=treonina>isoleucina>arginina>valina=leucina.

Gli aminoacidi non essenziali sono considerati meno tossici degli essenziali. L'ossidazione di metionina e cisteina in eccesso determina la produzione di solfati. L'ossidazione di aminoacidi forforilati e bibasici contribuisce all'acidosi metabolica. Di conseguenza elevati livelli di proteina alimentare possono causare acidosi metabolica e possono contribuire a varie disfunzioni quali la scarsa mineralizzazione ossea, la riduzione dello spessore del guscio e una riduzione della crescita (Schiavone, 2008).

2.1.2. Carboidrati

Sono sostanze organiche ternarie composte da carbonio, ossigeno ed idrogeno, che dominano l'intero metabolismo intermedio nel quale rappresentano l'apporto energetico più attivo ed immediato (Asdrubali *et al.*, 1967).

I carboidrati alimentari sono generalmente suddivisi in due categorie: carboidrati che possono essere digeriti attraverso digestione auto enzimatica (carboidrati non strutturali) con produzione di monosaccaridi assorbibili dall'intestino e carboidrati che necessitano di digestione alloenzimatica e produzione di acidi grassi volatili, generalmente ad opera di microrganismi simbiotici (carboidrati strutturali o fibre alimentari). Nel pollo la digestione alloenzimatica è di scarsa importanza (Schiavone, 2008).

Le materie prime ad alto contenuto in carboidrati costituiscono la parte predominante della dieta per il pollame e rappresentano la risorsa primaria di energia per questa categoria di animali (Asdrubali *et al.*, 1967).

2.1.3. Grassi

Sono composti organici formati da carbonio, ossigeno e idrogeno e si differenziano dai carboidrati per la maggiore presenza del carbonio che spiega l'elevato potere calorico di tali sostanze rispetto a questi ultimi. Il loro apporto energetico è infatti 2,25 volte superiore a quello dei carboidrati. Vengono addizionati al mangime non soltanto per il loro contenuto energetico, ma anche perché apportano acidi grassi insaturi che i volatili non sono in grado di sintetizzare, quali l'acido linoleico ed arachidonico. La mancanza di questi acidi grassi nella dieta, ad esempio, influisce negativamente sulla crescita dei giovani volatili, mentre

nelle ovaiole determina una riduzione nella produzione delle uova, del peso e della schiudibilità delle stesse. Va ricordato inoltre che essi rappresentano il veicolo per le vitamine liposolubili (A, D, E, K); pertanto emerge la necessità di ricorrere all'integrazione di sostanze antiossidanti per evitare l'irrancidimento con la conseguente inattivazione vitaminica. I grassi inoltre sono in grado di migliorare l'appetibilità delle miscele di mangimi e ne riducono la polverosità (Asdrubali *et al.*, 1996)

2.1.4. Vitamine

Il termine "vitamine" comprende un eterogeneo gruppo di composti chimici idrosolubili e liposolubili essenziali per la nutrizione, che non presentano alcuna relazione reciproca, funzionale o strutturale, l'una con l'altra. Tutte le vitamine note, ad eccezione della vitamina C, sono essenziali nella dieta del pollame. La marcata deficienza di una singola vitamina nella dieta del pulcino si traduce nel crollo del processo metabolico in cui quella particolare vitamina è interessata. Questo provoca una patologia carenziale che in alcuni casi si manifesta con caratteristiche lesioni macroscopiche e microscopiche. In parecchi casi, dalla deficienza di diverse vitamine, può esitare una singola malattia (Austic, 1997 *et al.*, 1997).

Molte vitamine sono instabili potendo venire distrutte più o meno rapidamente dal calore, dalla luce, dagli acidi, dagli alcali, ecc. Questa loro instabilità può essere facilmente causa di carenza nelle razioni con conseguenti disturbi di diversa gravità; da ciò la necessità di ricorrere ad integrazioni con vitamine sintetiche. Naturalmente l'integrazione va effettuata con cognizione di causa poiché se sono pericolose le carenze altrettanto dannosi sono gli eccessi. (Asdrubali *et al.*, 1996)

Fra le vitamine liposolubili :

- **Vitamina A**

Con il termine di vitamina A vengono indicati sia il retinolo che i suoi analoghi (retinoidi), di cui se ne conoscono almeno 1500 tipi diversi, tra naturali e sintetici. Anche i carotenoidi posseggono l'attività biologica della vitamina A in quanto possono fungere da provitamine (se ne conoscono almeno 600 tipi diversi di cui solo il 10% possiede una simile attività).

La vitamina A possiede due funzioni metaboliche distinte: azione regolatrice ormono-sensibile dell'acido retinico e azione di regolazione della visione crepuscolare del retinale. L'azione ormono-sensibile regola la replicazione e differenziazione cellulare, oltre che

l'apoptosi. La carenza di acido retinico induce cheratinizzazione dell'epitelio di congiuntiva, vie respiratorie, cavità orale, esofago, cloaca, ureteri, borsa di Fabrizio e tratto vaginale dell'ovidutto (Schiavone, 2008). Pulcini nati da uova deposte da galline che hanno ricevuto adeguati livelli nutrizionali di vitamina A, sono in grado di sopportare carenze alimentari per un periodo di 2-3 mesi. Pulcini nati da uova dotate di scarso contenuto di Vitamina A sviluppano una sindrome carenziale nel giro di pochi giorni dalla schiusa. Tale sindrome è caratterizzata da anoressia, stentato accrescimento, piumaggio arruffato, debolezza e atassia. I pulcini sono maggiormente esposti alle infezioni a causa della cheratinizzazione della Borsa di Fabrizio e relativa scarsa differenziazione dei linfociti B; anche la risposta dei linfociti T risulta alterata. Il contenuto di vitamina A dell'uovo dipende dalla relativa concentrazione nell'alimentazione della gallina (Schiavone, 2008).

Quando i polli e i tacchini adulti vengono alimentati con diete gravemente carenti in vitamina A, sintomi e lesioni generalmente si sviluppano in 2-5 mesi. La comparsa della sintomatologia carenziale dipende dalla quantità di Vitamina A immagazzinata nel fegato ed in altri distretti dell'organismo. Man mano che la malattia avanza, gli animali appaiono emaciati, deboli, e presentano il piumaggio arruffato. L'ovodeposizione cala repentinamente, si osserva un allungamento della durata del periodo di incubazione e la schiudibilità delle uova è ridotta (Austic *et al.*,1997).

E' da tener presente a tale proposito che un uovo che contiene meno di 80-100 U.I. di vitamina A non schiude (Asdrubali *et al.*, 1996).

La malattia provoca un aumento dell'incidenza e delle dimensioni delle macchie di sangue all'interno delle uova. La quantità di vitamina A richiesta per ridurre questo difetto, può essere leggermente superiore a quella necessaria per assicurare alle ovaiole buona salute e produttività.

In riproduttori alimentati con diete carenti in Vitamina A per 5-8 mesi, si è osservato un aumento del numero dei follicoli atresici e di quelli con emorragie diffuse. Queste interessano l'intero spessore del follicolo o si localizzano tra la teca interna e lo strato granuloso (Austic *et al.*,1997).

La sindrome da eccessi alimentari ricorda la sindrome carenziale. L'elevato contenuto tessutale di acido retinico impedisce la differenziazione delle cellule epiteliali delle mucose con conseguente iperplasia, necrosi e suppurazione a livello di cavità orale, narici e occhi. L'alterata differenziazione degli osteoblasti si ripercuote sull'integrità delle placche di accrescimento delle ossa lunghe. La risposta dei linfociti T risulta ridotta (Schiavone, 2008).

- **Vitamina D**

Per vitamina D si intende un gruppo di steroli rappresentato dal colecalciferolo (D₃), ergocalciferolo (D₂) e rispettivi metaboliti..

La sintesi endogena di questa vitamina inizia dal colesterolo, da cui origina, a livello cutaneo, il 7-deidrocolesterolo. Tale provitamina subisce un processo di fotoisomerizzazione indotto dai raggi ultravioletti (nell'intervallo di lunghezza d'onda di 285-315 nm), da cui si ottiene il colecalciferolo. Il colecalciferolo, sia di origine endogena sia alimentare, subisce due idrossilazioni successive, la prima a livello epatico (25-idrossicolecalciferolo; 25(OH)D₃) e la seconda a livello renale (1,25-diidrossicolecalciferolo; 1,25(OH)₂D₃). L'attività di 1,25(OH)₂D₃ è superiore di 500-1000 volte rispetto al suo precursore.

Per quanto riguarda invece il colecalciferolo, esso deriva dall'ergosterolo, sintetizzato da piante, funghi, licheni e alcuni invertebrati. L'ergosterolo non possiede attività vitaminica se non viene convertito in ergocalciferolo prima di essere ingerito. Nei vegetali tale conversione avviene grazie all'azione dei raggi ultravioletti, analogamente a quanto accade negli animali per il colecalciferolo. Per essere in forma attiva, l'ergocalciferolo deve subire le stesse idrossilazioni del colecalciferolo attraverso i medesimi sistemi enzimatici (Schiavone, 2008).

La vitamina D, detta anche antirachitica, regola l'assorbimento enterico e il riassorbimento renale del calcio, la fissazione di questo minerale nel tessuto osseo ed in altri tessuti; inoltre in misura minore regola il metabolismo del fosforo. Essa è richiesta dal pollame per la formazione della normale struttura scheletrica, della consistenza del becco, delle unghie e del guscio dell'uovo (Asdrubali *et al.*, 1996).

Una carenza di vitamina D provoca gravi disturbi che conducono a malattie specifiche come il rachitismo nei giovani e l'osteomalacia negli adulti (Asdrubali *et al.*, 1996).

Nelle ovaiole i sintomi della carenza cominciano a manifestarsi 2 settimane dopo che gli animali sono stati privati della Vitamina D. Il primo sintomo consiste in un marcato aumento della deposizione di uova a guscio sottile e molle; subito dopo si osserva un consistente calo della deposizione. A livello ematico si evidenzia un abbassamento dei livelli di 25-idrossicolecalciferolo e di 1,25-diidrossicolecalciferolo, seguito subito dopo da una riduzione della calcemia. La produzione delle uova e la robustezza del guscio variano in maniera ciclica. Infatti a fasi in cui si osserva una riduzione del numero delle uova deposte e della consistenza del guscio si alternano periodi in cui la produzione appare normale.

A volte alcune ovaiole possono perdere temporaneamente l'uso delle zampe. Questi animali tornano normali dopo aver deposto l'uovo, che generalmente è senza guscio. Durante questo periodo le galline assumono un atteggiamento caratteristico definito "a pinguino". Successivamente il becco, le unghie e la carena diventano molto molli e pieghevoli. Lo sterno normalmente è curvo e le coste perdono la loro normale rigidità e si piegano verso l'interno in corrispondenza delle giunzioni con lo sterno e le vertebre. Si produce in tal modo una caratteristica curvatura delle coste lungo i lati del torace. Anche la schiudibilità delle uova viene negativamente influenzata dalla deficienza di Vitamina D. Nei pulcini e nei tacchinotti che non schiudono si evidenzia frequentemente una grave condrodistrofia. La mandibola o la mascella possono essere di dimensioni diverse, con conseguente alterazione nella chiusura del becco. Gli analoghi sintetici della vitamina D, 25-idrossicolecalciferolo, 1 α -idrossicolecalciferolo e 1,25-idrossicolecalciferolo influenzano positivamente la produzione delle uova e la robustezza del guscio, ma solo il 25-idrossicolecalciferolo è efficace nel supportare la schiudibilità delle stesse. Appare evidente che l'1 α -idrossicolecalciferolo e l'1,25-idrossicolecalciferolo vengono trasportati in scarsa quantità all'interno delle uova (Austic *et al.*, 1997).

Un moderato eccesso di vitamina D aumenta l'incidenza della deposizione di depositi calcarei sulla superficie o nella trama del guscio dell'uovo. L'asportazione di detti aggregati calcarei mette a nudo spesso la sottostante membrana testacea (Austic *et al.*, 1997).

- **Vitamina E**

La vitamina E è rappresentata da un gruppo di composti organici liposolubili, strettamente correlati, noti con il nome di tocoferoli, di cui il più attivo di questi è l' α -tocoferolo. La vitamina E è richiesta sia per la normale fertilità dei galli che per la normale riproduzione nelle galline, ma per le sue diverse e complesse attività metaboliche la sua presenza è indispensabile per il funzionamento della maggior parte dei tessuti animali. In modo particolare la vitamina E agisce come antiossidante biologico, prevenendo l'ossidazione dei lipidi insaturi delle cellule; inoltre interviene nella respirazione tissutale, nelle reazioni di fosforilazione, nel metabolismo degli acidi nucleici, nella sintesi dell'acido ascorbico, nel metabolismo degli aminoacidi solforati, assicurando inoltre l'integrità della parete dei capillari. Svolge, inoltre, un ruolo importante nello sviluppo del sistema immunitario potenziando la produzione di linfociti B e T (Asdrubali *et al.*, 1996).

La maggior parte dei sintomi da carenza è dovuta a manifestazione delle alterazioni delle membrane cellulari, dovute al danno ossidativo degli acidi grassi polinsaturi che compongono i fosfolipidi di membrana.

I sintomi da carenza includono encefalomalacia (con conseguente atassia e torsione del collo), diatesi essudativa, distrofia muscolare, miopatia del ventriglio e aumentata fragilità degli eritrociti. Nei galli in riproduzione si riduce la fertilità a causa della produzione di spermatozoi quantitativamente ridotta e qualitativamente scarsa. Nelle galline in deposizione non si osservano alterazioni apparenti della produzione di uova, ma lo scarso contenuto in vitamina E riduce notevolmente la schiudibilità. La morte embrionale avviene durante i primi giorni di incubazione a causa dei meccanismi di alterazione della struttura delle membrane cellulari (Schiavone, 2008).

La vitamina E ha un basso livello di tossicità per le specie avicole e livelli alimentari fino a 100 volte superiori ai fabbisogni sono ben tollerati. Eccessi alimentari di vitamina E possono indurre carenze di altre vitamine liposolubili, così che i sintomi da eccessi si sovrappongono ai sintomi da carenza principalmente di vitamina A e K (Schiavone, 2008).

Fra le vitamine idrosolubili :

- **Riboflavina (vitamina B₂)**

La riboflavina presente negli alimenti è normalmente complessata a proteine in forma di flavin-mononucleotide (FMN) e flavin-adenin-dinucleotide (FAD). Questi complessi vengono scissi nel corso della digestione. Nelle cellule la riboflavina è in forma di FMN e in misura minore in forma di FAD. FMN e FAD sono cofattori di moltissime reazioni di ossidazione e riduzione. La riboflavina è di colore giallo ed è responsabile della colorazione debolmente gialla dell'albume; per tale ragione uova con albume molto chiaro provengono da animali che presumibilmente hanno una carenza di questa vitamina (Schiavone, 2008).

Nei soggetti colpiti si osserva all'inizio andatura incerta e successivamente incapacità a camminare; se forzati a muoversi, si trascinano sui metatarsi, mantenendo le dita ripiegate verso l'interno. Da questo caratteristico atteggiamento deriva appunto il nome di *curled toe paralysis* dato dagli autori anglosassoni. Con il progredire della malattia i soggetti sono costretti al suolo, con le zampe divaricate, impotenti a muoversi. La paralisi è causata da gravi alterazioni degenerative a carico dei nervi sciatici e brachiali e delle placche neuromuscolari. Nei soggetti adulti si osserva una diminuzione dell'ovodeposizione. La percentuale di schiusa subisce anch'essa un abbassamento, conseguenza della mortalità

embrionale. I pulcini schiusi possono essere più piccoli ed edematosi, con il piumino conglomerato (clubbed down), aspetto causato dall'incapacità delle penne di rompere la loro guaina (Asdrubali *et al.*, 1996).

Eccessi alimentari di riboflavina saturano le proteine di trasporto a livello intestinale, per cui non sono noti fenomeni di tossicità. Allo stesso modo, non si verificano eccessi nell'uovo a causa della saturazione delle proteine di trasporto per tuorlo e albume (Schiavone, 2008).

- **Piridossina (vitamina B₆)**

La vitamina B₆ include l'attività di piridossina, piridossale, piridossamina e le rispettive forme fosforilate; l'attività delle diverse forme di vitamina B₆ è simile fra loro sia nei Mammiferi sia negli Uccelli (Schiavone, 2008).

Le cellule utilizzano piridossale e piridossalfosfato come cofattori di numerose reazioni di transaminazione, deaminazione, fosforilazione, carbossilazione, solforilazione. La vitamina B₆ è cofattore di numerose reazioni di sintesi, catabolismo e interconversione degli aminoacidi, inoltre ha azione regolatrice degli enzimi del metabolismo lipidico. Il funzionamento dell'enzima glicogeno fosforilasi, responsabile della mobilizzazione del glucosio dalle scorte di glicogeno, dipende dalla vitamina B₆ (Schiavone, 2008).

La carenza di piridossina può determinare: crescita ritardata, anemia, debolezza, paresi, paralisi, condrodistrofia e negli adulti cali di deposizione e di schiudibilità (Asdrubali *et al.*, 1996). Il fabbisogno per ottenere un'ottimale schiudibilità è doppio rispetto a quello necessario per garantire la normale ovodeposizione (Schiavone, 2008).

Non sono noti fenomeni di tossicità da eccesso di vitamina B₆ (Schiavone, 2008).

- **Acido Nicotinico (Niacina)**

L'acido nicotinico è il componente vitaminico di due importanti coenzimi, la nicotinamide adenin dinucleotide (NAD) e la nicotinamide adenin dinucleotide fosfato (NADP). Questi coenzimi sono coinvolti nel metabolismo dei carboidrati, dei grassi e delle proteine. In particolare sono importanti nelle reazioni metaboliche che forniscono energia. Uno o entrambi i coenzimi prendono parte ai processi di ossidazione aerobica ed anaerobica del glucosio, alla sintesi ed al catabolismo del glicerolo, alla sintesi ed alla ossidazione degli acidi grassi ed alla ossidazione dell'acetil coenzima A attraverso il ciclo di Krebs (Austic *et al.*, 1997).

Il triptofano, quando in eccesso rispetto al fabbisogno, può essere usato come substrato per la sintesi endogena di niacina (Schiavone, 2008).

Nel pollo la carenza si manifesta con anoressia, lento accrescimento, infiammazioni della cavità orale, dermatiti, scarso impennamento, rigonfiamento e incurvatura dell'articolazione tibio-tarsica (perosi). La perosi indotta da carenza di niacina è meno pronunciata rispetto alla perosi indotta da carenza di manganese e normalmente non si verifica lo slittamento del tendine d'Achille. La lingua può essere molto scura a causa di fenomeni necrotici. Nelle femmine in deposizione, la carenza di niacina, se associata a carenza di triptofano, determina calo dell'ovodeposizione (Schiavone, 2008)

2.1.5. Minerali

I minerali sono necessari per una vasta gamma di funzioni strutturali e funzionali. Il tessuto osseo e il guscio delle uova devono la loro rigidità ai sali di calcio. Gli elettroliti (sodio, potassio e cloro) regolano l'equilibrio osmotico e partecipano all'omeostasi del pH. Alcuni minerali regolano le funzioni metaboliche della cellula, altri sono catalizzatori di enzimi e altri ancora sono componenti dell'acido desossiribonucleico (DNA) e ribonucleico (RNA). I minerali che hanno funzioni strutturali o osmotiche sono richiesti in grande quantità e vengono definiti macroelementi. I macroelementi includono calcio, fosforo, sodio, potassio, cloro e magnesio. I minerali il cui fabbisogno è relativamente limitato vengono definiti oligoelementi. Gli oligoelementi comprendono rame, iodio, ferro, manganese, selenio e zinco.

Per ciò che riguarda la richiesta di sali nella dieta si può affermare si può affermare che il loro fabbisogno è piuttosto modesto (Asdrubali *et al.*, 1996).

Fra i macroelementi:

- **Calcio e fosforo.** Il calcio e il fosforo hanno un posto preponderante tra le sostanze minerali indispensabili all'organismo, sia da un punto di vista quantitativo che qualitativo. E' impossibile separare il calcio dal fosforo perchè i loro metabolismi sono strettamente associati, soprattutto nella formazione dell'osso (Asdrubali *et al.*, 1996). Lo scheletro contiene circa il 98% del calcio corporeo totale, di cui la maggior parte è in forma di cristalli di idrossiapatite, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$, mentre una piccola quantità è in forma non cristallina come fosfato di calcio e carbonato di calcio. Dal punto di vista metabolico, il tessuto osseo rappresenta la più importante riserva di calcio. Nella femmina, circa il 25% di

calcio circolante è in forma libera (Ca^{2+}), mentre la restante parte è legata alle proteine plasmatiche (principalmente albumina) o complessata con citrato, fosfato o solfato (Schiavone, 2008). Il calcio, tessutale e umorale, interviene, dal punto di vista biologico e dinamico, nella maggior parte dei processi vitali. Esso è essenziale per la coagulazione del sangue, per il normale funzionamento del cuore, per il mantenimento dell'equilibrio acido-basico ed inoltre esercita un'azione inibitrice sull'eccitabilità del sistema neuromuscolare. Nei pulcini in accrescimento, la maggior parte del calcio della razione è utilizzata per la formazione del tessuto osseo, mentre nelle galline adulte per la formazione del guscio dell'uovo. Dopo il suo assorbimento, il calcio è fissato nell'organismo grazie ad un meccanismo regolatore nel quale intervengono la vitamina D e l'ormone paratiroideo. L'utilizzazione del calcio e del fosforo dipende dalla presenza di un'adeguata quantità di vitamina D nella dieta. In carenza di vitamina D, il deposito dei due elementi nelle ossa di pulcini in accrescimento è ridotto e la quantità di calcio nel guscio dell'uovo diminuisce. Oltre al ruolo rivestito nella formazione delle ossa, il fosforo esercita importanti funzioni nel metabolismo dei carboidrati e dei grassi ed entra nella composizione di tutte le cellule dell'organismo. Il rapporto Ca/P nella razione del pollame può subire delle variazioni abbastanza ampie legate all'età e all'indirizzo produttivo. Nel pulcino in accrescimento esso oscilla tra 1,5: 1 e 2:1, mentre nella gallina in deposizione il rapporto è considerevolmente più ampio a causa dell'aumentato fabbisogno di calcio necessario per la formazione del guscio d'uovo (Asdrubali *et al.*, 1996). La carenza di calcio può instaurarsi a causa di un insufficiente apporto alimentare, di un eccesso di fosforo o a seguito di una carenza di vitamina D che ne limita l'assorbimento. Nel caso di deficit di vitamina D, la somministrazione di dosi eccessive di calcio compensa solo in parte tale carenza. Gli Uccelli adulti che ricevono diete carenti mobilizzano il calcio dal tessuto osseo più rapidamente di quanto vi venga depositato. Le ossa diventano fragili e porose e si ha inappetenza. Le ossa lunghe si deformano e vanno incontro a fratture dovute al peso al peso corporeo, alla contrazione dei muscoli o a lievi traumi. Tale sindrome di tipo osteoporotico nelle ovaiole è definita "sindrome da affaticamento da gabbia", poiché è più frequente negli animali con limitate possibilità di deambulazione, come le ovaiole in gabbia. Nelle femmine in deposizione, la carenza di calcio determina, se moderata, un minor grado di calcificazione del guscio dell'uovo e si può arrivare fino alla riduzione o all'arresto

dell'ovodeposizione in caso di carenze gravi. Nei pulcini in accrescimento, la carenza di calcio determina anomalie scheletriche quali rachitismo, discondroplasia, gonfiori articolari associati a dolore diffuso agli arti. La cartilagine di accrescimento delle ossa lunghe può risultare ampliata e poco calcificata. Nel caso di un rapporto calcio:fosforo al di sotto di 1:1 si può verificare il così detto iperparatiroidismo nutrizionale secondario, dove l'ipertrofia delle paratiroidi è la risposta fisiologica dovuta all'esigenza di aumentare la produzione di paratormone, nel tentativo di correggere l'ipocalcemia di natura alimentare. In stadi avanzati di ipocalcemia si verificano crampi muscolari che arrivano a sfociare in contrazioni di tipo tetanico (Schiavone, 2008). Gli eccessi di calcio vengono corretti, in prima battuta, tramite un ridotto assorbimento e un'aumentata escrezione. Eccessi prolungati inducono ipercalcemia, gotta per precipitazione di urati di calcio nei vari tessuti, nefrosi per precipitazione dei sali di calcio a livello renale. L'eccesso di calcio determina carenze secondarie per la riduzione della digeribilità di altri minerali quali fosforo, manganese e zinco. Gli eccessi di calcio possono essere tollerati se il rapporto calcio:fosforo è mantenuto ottimale (Schiavone, 2008). Nei polli in accrescimento, la carenza di fosforo o un rapporto calcio:fosforo sbilanciato determina anoressia, riduzione della crescita e scarsa mineralizzazione ossea. Carenze gravi determinano rachitismo, debolezza e talora morte. Nelle femmine in deposizione, la carenza di fosforo riduce l'ingestione alimentare e la produzione di uova. Contrariamente a quanto accade per la carenza di calcio e vitamina D non si verifica ipertrofia della paratiroide, che al contrario può andare incontro ad atrofia (Schiavone, 2008). Gli eccessi di fosforo possono indurre carenza di calcio. Nelle femmine in deposizione si può verificare assottigliamento del guscio, anche in presenza di adeguati livelli di calcio (Schiavone, 2008).

- **Magnesio.** Il magnesio è strettamente associato al calcio ed al fosforo nell'organismo degli uccelli. Esso si trova in quantità relativamente elevata nei tessuti ed è essenziale per la formazione del tessuto osseo, ove si trova sotto forma di fosfato trimagnesiaco e di carbonato. E' necessario al metabolismo degli idrati di carbonio; i sali di magnesio inoltre permettono l'azione dell'enzima fosfatasi. Il guscio dell'uovo contiene circa 1,4% di magnesio (Asdrubali *et al.*, 1996). Quando un alimento è carente di questo elemento i polli crescono lentamente, hanno disturbi locomotori e convulsioni. Deficienze di magnesio nella dieta delle ovaiole comportano una rapida caduta della produzione, anche per scarsa utilizzazione del

calcio in assenza di magnesio (Asdrubali *et al.*, 1996). Gli eccessi di magnesio interferiscono con l'assorbimento del calcio per cui la sintomatologia è sovrapponibile a quella della carenza da calcio con scarsa mineralizzazione ossea e riduzione dello spessore del guscio dell'uovo. Eccessi di magnesio hanno altresì effetto lassativo. Elevati livelli di calcio e fosforo riducono gli effetti da eccessi di magnesio (Schiavone, 2008).

- **Sodio, Cloro e Potassio:** il sodio come cloruro, carbonato e fosfato si trova soprattutto nel sangue e nei liquidi organici. Il cloruro di sodio è il principale costituente inorganico del plasma sanguigno ed è presumibilmente la fonte di cloro per l'acido cloridrico del succo gastrico. Il sodio è intimamente connesso con la regolazione della concentrazione idrogenionica del sangue ed insieme al potassio ed al calcio, in giuste proporzioni, è essenziale per l'attività cardiaca (Asdrubali *et al.*, 1996). I fenomeni carenziali sono caratterizzati da crescita ritardata, tremori, cannibalismo, diminuita produzione delle uova e ridotta schiudibilità. Nella carenza di cloro si osservano inoltre sintomi nervosi eccitativi (spasmi di tipo tetanico) (Asdrubali *et al.*, 1996). Il potassio è necessario in particolare per la normale attività del cuore. Una carenza di tale elemento è caratterizzata da debolezza muscolare generalizzata, con disturbi cardio-respiratori. Nei pulcini può essere presente atassia, mentre negli adulti si osservano calo di deposizione e produzione di uova con guscio sottile (Asdrubali *et al.*, 1996). Gli Uccelli marini, dotati della ghiandola del sale ben sviluppata e funzionante hanno una maggiore resistenza agli eccessi alimentari di sodio o cloro. Gli Uccelli con ghiandola del sale assente o poco funzionante, tollerano elevati livelli (fino al 5% della dieta) di sodio, potassio e cloro quando non vi sono limitazioni all'assunzione di acqua. L'aumento dell'ingestione idrica consente l'eliminazione renale di tali eccessi di elettroliti e la produzione di deiezioni acquose. Quando gli eccessi di elettroliti non possono più essere compensati, si manifestano diarrea, disidratazione, atassia ed edema diffusi. Pulcini e anatroccoli sono più sensibili all'intossicazione rispetto agli adulti. Per gli avicoli domestici, gli elettroliti disciolti in acqua, a parità di concentrazione, sono dieci volte più tossici dei corrispondenti presenti nell'alimento (Schiavone, 2008).

Fra gli oligoelementi:

- **Rame:** il rame è essenziale per la sintesi dell'emoglobina (Asdrubali *et al.*, 1996). In assenza di tale elemento, il ferro dietetico viene assorbito e depositato

principalmente nel fegato senza che avvenga la sintesi dell'emoglobina, per cui ne risulta anemia e scolorimento del piumaggio. La carenza di rame può essere responsabile di rotture dell'aorta e della malattia del cuore tondo (*round heart disease*) (Asdrubali et al., 1996). La carenza di Cu nelle ovaiole determina un calo dell'ovodeposizione, un aumento delle dimensioni delle uova ed alterazione nella calcificazione del guscio. Le uova possono essere prive di guscio, deformi, rugose e con guscio di spessore ridotto. All'esame istologico lo strato a palizzata del guscio appare normale, lo strato mammillare denuncia invece la presenza di pomelli mammillari ingrossati e maggior spazio tra i pomelli. Ciò può essere correlato ad una struttura anormale delle membrane del guscio causata da una diminuzione del legame della lisina (Austic et al., 1997). Gli eccessi di rame sono generalmente ben tollerati dalle specie avicole domestiche. L'ingestione cronica di rame (livelli superiori a 250 mg/kg) produce accumuli epatici di rame, rallentamento della crescita, gastroenteriti e anemia. La gastroenterite può essere più grave a livello del ventriglio con erosioni della coilina (Schiavone, 2008).

- **Zinco:** questo oligoelemento entra nella costituzione di vari enzimi come l'anidrasi carbonica, la L-glutammico-deidrogenasi, la carbossipeptidasi ed altri (Asdrubali et al., 1996). In carenza di zinco si può osservare ritardata crescita, cattiva impiumazione, anormalità scheletriche e dermatite necrotica agli arti (Asdrubali et al., 1996). Nelle femmine in deposizione si osserva la riduzione del numero di uova prodotte ed effetti sullo sviluppo embrionale quali scarsa vitalità alla schiusa in caso di carenza moderata; effetti teratogeni e mortalità embrionale precoce con deformità scheletriche in caso di carenza più grave (Schiavone, 2008). I sintomi da tossicità includono anemia, riduzione della crescita nei giovani e perdita di peso negli adulti (Schiavone, 2008). Determina anche un brusco calo della deposizione delle uova, che ritorna rapidamente su livelli normali se il mangime viene integrato con giuste quantità di questo micro-elemento (Austic et al., 1997).
- **Manganese:** il manganese è uno dei più importanti oligo-elementi, necessario per la crescita, l'ossificazione e la riproduzione. Il manganese interviene inoltre come biocatalizzatore nei processi enzimatici, nell'elaborazione e azione degli ormoni e gioca un ruolo importante nella sintesi dell'acido ascorbico o vitamina C (Asdrubali et al., 1996). La deficienza di manganese, soprattutto se associata ad un eccesso di Ca e P nella dieta, determina nei giovani soggetti perosi, che interessa

prevalentemente le ossa degli arti dei giovani polli, tacchini, fagiani, pernici e quaglie. Questa alterazione che può essere definita una osteocondrodistrofia, si verifica perché il manganese, come ricordato, attiva diversi importanti sistemi enzimatici per cui esso è richiesto, tra l'altro, per la sintesi dei mucopolisaccaridi acidi come il condroitin-solfato, necessario per formare la matrice delle ossa e dei gusci delle uova. Di conseguenza, nella carenza di manganese possono verificarsi deformità allo scheletro e difetti della qualità del guscio (Asdrubali *et al.*, 1996). Nelle ovaiole e nei riproduttori la carenza di manganese determina un calo di deposizione; in questi ultimi si ha una diminuzione della schiusa con mortalità tardiva degli embrioni che presentano alterazioni quali condrodistrofia, micromelia, becco a pappagallo, edema della regione cervico-toracica (Asdrubali *et al.*, 1996). Nella maggior parte dei casi, gli eccessi di manganese inducono carenze secondarie indotte di altri minerali, in particolare di ferro (Schiavone, 2008).

2.1.6. Acqua

L'acqua è il principale costituente inorganico di tutti gli organismi viventi; è presente in quantità rilevante nel sangue e nei liquidi extra ed intracellulari e svolge un ruolo fisiologico di preminente importanza.

Come bevanda garantisce anche l'apporto di ioni e di minerali in essa contenuti, indispensabili per l'organismo; è inoltre considerata un alimento a tutti gli effetti.

Come solvente viene utilizzata per integrazioni alimentari e per la somministrazione di vaccini e farmaci, nonché per lavaggi, pulizie e disinfezioni.

Circa l'85% del peso corporeo totale di un pulcino, il 55% di un pollo adulto ed il 65% del peso dell'uovo sono costituiti da acqua. Per equilibrare le perdite che si verificano attraverso

l'urina (50%), la respirazione, la pelle, le feci (30%), le produzioni (uova) ed i processi metabolici, è necessaria un'uguale assunzione che si verifica prevalentemente attraverso la bevanda (73%), essendo bassa la percentuale derivante dai processi metabolici, mentre quella introdotta con l'alimento varia in funzione della dieta, ma mediamente è compresa tra il 12-15%.

Nei volatili il bilancio idrico è regolato da sistemi che controllano sia l'assunzione di acqua, legata alla sensazione di sete (di cui l'ipotalamo è il centro coordinatore), sia il riassorbimento dal rene, per azione di un ormone, l'arginina-vasotocina. Si ricorda che gli

uccelli hanno la particolarità fisiologica di riassorbire l'acqua delle urine anche a livello dell'ultimo tratto dell'intestino (ciechi e retto), attraverso meccanismi retrogradi.

Gli uccelli, notoriamente, consumano molta acqua; il fabbisogno medio giornaliero di un pollo è infatti di circa 100 ml/kg di peso vivo, mentre nell'uomo è di circa 15 ml/kg di peso vivo.

Tale quantità, tuttavia, varia con l'età, il sesso ed il momento produttivo dei volatili. In particolare per quelli allevati con il sistema di tipo intensivo altri fattori incidono sul consumo giornaliero; tra questi sono da ricordare il tipo e la quantità di alimento, l'indirizzo, la fase produttiva, la genetica, il tipo di abbeveratoio, la temperatura dell'acqua di bevanda, nonché le condizioni ambientali come la temperatura e l'umidità. La temperatura ambientale è, comunque, il parametro che più di tutti determina variazioni significative nel consumo di acqua; in condizioni normali (a temperatura ambiente di 21 C) nel pollo il rapporto tra acqua ed alimento ingeriti è di circa 2:1. Tale rapporto può aumentare anche fino a 5: 1 quando la temperatura ambiente sale a 35°C.

Nell'arco di una giornata l'assunzione di acqua nel pollo aumenta considerevolmente nel pomeriggio rispetto alla mattina e ridiscende la sera per essere scarsa o nulla durante la notte. In ogni caso non devono essere previste limitazioni. Una riduzione dell'assunzione di acqua del 20% provoca scarsa conversione, diminuzione dell'accrescimento e calo di deposizione. La privazione di acqua per alcune ore determina un rallentamento del ritmo di digestione degli alimenti; se prolungata ulteriormente nei pulcini si osserva nefrosi, policitemia, raggrinzimento della cute degli arti ed altri gravi sintomi di disidratazione. Negli adulti si osservano atrofia dell'ovaio, proventricolite e nefrosi, uova piccole, senza guscio e infine interruzione della deposizione.

Per quanto riguarda la qualità dell'acqua di bevanda è necessario che essa risponda a determinati requisiti organolettici, chimico-fisici e microbiologici. I principali requisiti che ne attestano la potabilità sono rappresentati da (Asdrubali *et al.*, 1996):

- colore: l'acqua deve essere trasparente e priva di colore, a indicare l'assenza macroscopica di contaminanti;
- torbidità: la presenza di eventuali particelle in sospensione (sabbia, argilla, alghe, materiale organico, ecc.) conferiscono torbidità all'acqua;
- durezza: è legata alla presenza di sali di calcio e di magnesio; questi sali provocano la formazione di depositi alterando talvolta il gusto dell'acqua. La eccessiva durezza determina un ridotto assorbimento intestinale degli oligoelementi della razione, con compromissione dei caratteri zoeconomici come l'accrescimento e la produzione di

uova, nonché una significativa diminuzione dell'efficacia di vaccini, medicinali e disinfettanti impiegati in soluzione. La formazione di depositi calcarei può inoltre creare problemi al sistema di distribuzione dell'acqua stessa. Al contrario, un'acqua poco dura è aggressiva e può corrodere materiali e metalli e creare inconvenienti in presenza di quantità rilevanti di sodio, di magnesio e di cloro (Asdrubali *et al.*, 1996).

- contenuto in ferro: eccessi di ferro superiori a 2ppm favoriscono la crescita batterica (Schiavone, 2008);
- pH: indica l'acidità o l'alcalinità di un'acqua (Asdrubali *et al.*, 1996). Il pH dell'acqua è normalmente di 7,0-7,2. Valori compresi nell'intervallo 6,5-8,0 sono considerati accettabili per le specie avicole. Valori di pH eccessivamente acidi riducono l'appetibilità dell'acqua, riducono l'efficacia dei vaccini somministrati con l'acqua e possono compromettere le prestazioni produttive degli animali. Valori di pH eccessivamente alcalini possono indurre una riduzione nel consumo di alimento (Schiavone, 2008);
- solidi sospesi totali: rappresentano l'insieme delle sostanze indissolte che vengono trattenute da un filtro a membrana a porosità nota (0,45 µm)(Schiavone, 2008);
- contenuto di azoto: il contenuto di azoto dell'acqua può essere associato a contaminazione da materiale organico (Schiavone,2008)
- presenza di metalli: eccessi di alcuni metalli (esempio piombo, arsenico e selenio) sono causa di sindromi tossiche (Schiavone, 2008);
- carica batterica: batteri quali coliformi e *Escherichia coli* sono indice di contaminazione fecale; pertanto la loro presenza risulta inaccettabile per la qualità dell'acqua di bevanda (Asdrubali *et al.*, 1996);
- ossigeno disciolto: tale parametro può indirettamente fornire indicazioni sulla qualità dell'acqua ed eventuali contaminazioni. Si tenga presente che a livelli inferiori a 3ppm i pesci muoiono e livelli superiori a 14 ppm possono essere associati a sviluppo di alghe inquinamento. I valori ottimali sono dell'ordine 7-14 ppm (Schiavone, 2008).

Non è da sottovalutare, infine, negli allevamenti a terra, l'alterazione della qualità dell'acqua di bevanda dovuta a particelle di polvere, di lettiera, a residui di alimento che inevitabilmente finiscono dentro gli abbeveratoi. In questo caso una pulizia razionale e costante sarà sufficiente ad evitare tale tipo di contaminazione.

Quando uno o in ogni caso pochi parametri presentano alterazioni di lieve entità è possibile intervenire con sistemi di correzione per ripristinarne la qualità; diversamente è preferibile cambiare la fonte di approvvigionamento (Asdrubali *et al.*, 1996).

Soprattutto quando l'acqua proviene direttamente da falde acquifere e non dall'acquedotto, può essere prudente predisporre dei sistemi di sanificazione dell'acqua di abbeverata che includono apparati di filtrazione e aggiunta di cloro (Schiavone, 2008).

2.2. MICOTOSSINE E MICOTOSSICOSI

Negli uccelli è frequente la comparsa di stati morbosi, con problemi di ordine sanitario ed economico di rilevante importanza, conseguenti all'ingestione di alimenti che contengono metaboliti fungini tossici (Asdrubali *et al.*, 1996).

Le micotossine hanno attirato a sé attenzione all'inizio degli anni '60 quando l'aflatossina, prodotta dall'*Aspergillus spp*, fu scoperta come causa di malattia nel pollame e nel pesce. L'importanza dell'aflatossina è aumentata notevolmente quando fu accertato il suo potere cancerogeno. Nell'uomo e negli animali, tuttavia, le micotossicosi legate al consumo di alimenti ammuffiti, sono state riconosciute tali molto prima della scoperta dell'aflatossina. L'ergotismo, l'avvelenamento dei cavalli per consumo di granturco ammuffito, la stachibotriotossicosi, l'aleuchia alimentare tossica, varie sindromi emorragiche, l'avvelenamento da riso giallo ed altre intossicazioni alimentari acute sono solo alcune delle micotossicosi dell'uomo e degli animali che hanno un significato storico. Attualmente si conoscono centinaia di micotossine, che presentano una notevole variabilità per tossicità, capacità di determinare malattia ed organi bersaglio (Hoerr, 1997).

La contaminazione da parte di questi funghi può avvenire sia prima che durante la conservazione e lo stoccaggio degli alimenti; nelle condizioni naturali può accadere di rinvenire i metaboliti tossici senza che siano più presenti i miceti tossigeni che li avevano elaborati in precedenza. La produzione di tossine da parte dei miceti dipende da vari fattori, tra i quali sono da ricordare la temperatura e l'umidità. La gravità delle manifestazioni cliniche e delle lesioni anatomo-istopatologiche è correlata alla specie, all'età degli animali, alla quantità di tossina ingerita ed al periodo di tempo durante il quale i volatili sono stati alimentati con il mangime tossico, per cui spesso i sintomi non sono specifici e sono rappresentati da peggioramento degli indici di conversione e aumento della mortalità per una maggiore sensibilità alle malattie infettive. Infatti le micotossine, in

genere, agiscono sul sistema immunocompetente diminuendone l'efficienza (Asdrubali *et al.*, 1996).

2.2.1. Aflatossicosi

Le aflatossine sono elaborate soprattutto da ceppi tossigeni di *Aspergillus flavus* e *parasiticus* anche se in vitro altri miceti possono produrle. Il precursore delle aflatossine è la cumarina, sostanza non tossica, mentre risultano molto tossici alcuni dei suoi derivati. In particolar modo possono essere contaminate le granaglie sia prima della raccolta, sia durante la conservazione nei magazzini e nei silos.

Nelle galline ovaiole la micotossina viene sospettata essere una delle cause della sindrome del fegato grasso (Asdrubali *et al.*, 1996).

Nelle ovaiole pesanti la schiudibilità delle uova cala prima della produzione e rappresenta il sintomo più importante di aflatossicosi. La perdita di schiudibilità è dovuta a mortalità embrionale. Nelle galline leggere l'aflatossina blocca la maturazione dei follicoli e riduce la conversione del mangime e la produttività. Come per i riproduttori pesanti anche in questo caso si osserva un abbassamento della schiudibilità che precede il calo della deposizione. La produzione delle uova viene risparmiata inizialmente nonostante le lesioni tossiche agli epatociti; si sottolinea, tuttavia, che sia pure con ritardo il calo si osserva e richiede molte settimane per scomparire. Le aflatossine riducono la sintesi ed il trasporto dei precursori del tuorlo nel fegato. Questo determina una diminuzione delle dimensioni dell'uovo, del peso del tuorlo ed una alterazione nel rapporto tuorlo/dimensioni dell'uovo (Hoerr, 1997).

2.2.2. Ocratossicosi

Le ocratossine, distinte dalle lettere A, B e C, di cui la più pericolosa è l'ocratossina A, sono derivati della diidroisocumarina. Essa è prodotta soprattutto da ceppi di *Aspergillus ochraceus* e *Penicillium viridicatum*, che contaminano in particolare cereali e legumi; poiché le condizioni di crescita di questi funghi sono simili a quelle che producono le aflatossine, è comune la contaminazione simultanea dell'alimento da parte di queste micotossine (Asdrubali *et al.*, 1996).

L'ocratossicosi nelle pollastre leggere ritarda la maturità sessuale o addirittura può inibirla completamente. La riluttanza degli animali ad assumere il mangime contaminato porta ad una riduzione del peso corporeo, dell'ovodeposizione e del peso delle uova. La somministrazione di ocratossina a dosi così basse da non influenzare la curva di

deposizione, induce riduzione delle dimensioni delle uova, altera le qualità di albume e tuorlo, e riduce il peso specifico del guscio (questo è un parametro di qualità delle uova).

Nelle quaglie giapponesi si osserva una riduzione della fertilità e della schiudibilità delle uova legata a mortalità precoce degli embrioni. Anche nei polli si osserva un calo della schiudibilità; gli embrioni però manifestano gotta viscerale, mentre i pulcini schiusi manifestano crescita ridotta. L'ocratossina A è teratogena per gli embrioni di pollo (Hoerr, 1997).

2.2.3. Zearalenone

Questa tossina, conosciuta anche come F-2, è prodotta da ceppi di *Fusarium graminearum* e *Fusarium roseum*. Possono essere contaminati da zearalenone semi di granturco, riso, avena, miglio, orzo, segale e girasole. Questo ha azione estrogena e produce i suoi effetti nei volatili soltanto a dosi elevate.

Nei tacchinotti determina prolasso della cloaca, mentre nelle pollastrelle provoca cisti a carico dell'ovidutto, in quanto induce una proliferazione delle cellule epiteliali e secrezione delle ghiandole negli ovidutti immaturi. Nelle galline ovaiole lo zearalenone sembra causare una deposizione di uova di calibro inferiore e con guscio fragile (Asdrubali *et al.*, 1996).

2.2.4. Tricoteceni

I tricoteceni sono tossine prodotte dal genere *Fusarium* ed hanno un'azione di tipo mutante a carico dei tessuti. Sono la tossina T-2, la vomitotossina e il diacetossiscirpenolo, quelli che più frequentemente contaminano gli alimenti (Asdrubali *et al.*, 1996).

La contaminazione dei mangimi contenenti tossina T-2 e HT-2 provoca un calo della deposizione a partire dal giorno successivo l'inizio del trattamento. Gli animali sono abbattuti, rifiutano il cibo, giacciono supini e presentano cianosi dei bargigli e della cresta. L'ovaio e l'ovidutto si atrofizzano. La sintomatologia scompare quando viene fornito mangime privo di tossine. La somministrazione con l'alimento di tossina T-2 (3 mg/kg di mangime) provoca calo del consumo di mangime e della produzione di uova; queste ultime presentano il guscio sottile. La presenza di croste giallastre e di ulcere sulla mucosa orale rendono difficoltosa la chiusura della bocca; il piumaggio è irregolare e scarsamente sviluppato. Le lesioni alla cavità orale ed alle penne scompaiono se gli animali vengono allontanati dalle gabbie. Gli animali con lesioni alla cavità orale presentano inoltre cute giallastra, fegato friabile, reni ingrossati, depositi di urati negli ureteri, ulcere focali ed

infiammazioni sulla mucosa del gozzo, ispessimento e raggrinzimento della coilina nello stomaco muscolare.

La contaminazione dei grani di sorgo con desossinivalenolo (0,3 mg/kg) e zearalenone (1,1 mg/kg) determina calo della ovodeposizione. Le ulcere nella cavità orale si osservano insieme a metaplasia squamosa delle ghiandole salivari e delle ghiandole mucose. Le croste e le ulcere boccali, nelle galline commerciali, forniscono un'indicazione presuntiva di intossicazione da tricotheceni se associate con diminuzione del peso delle uova e riduzione dello spessore del guscio. La frequenza dell'infezione viene influenzata dal ceppo genetico ed è più comune nelle ovaiole di età avanzata (Hoerr, 1997).

2.2.5. Altre micotossicosi

- **Sterigmatocistina:** la sterigmatocistina è un precursore biogeno dell'aflatossina B1 ed ha un'azione tossica e cancerogena per il fegato. Si riscontra meno frequentemente dell'aflatossina e si associa spesso a prodotti visibilmente ammuffiti. La sterigmatocistina si trova sui piccoli semi, sui chicchi di caffè, e sui formaggi; viene prodotta dall'*Aspergillus versicolor*, da altre *Aspergillus* spp., da *Chaetomium* spp. e da altri funghi dei cereali. E' stata segnalata in Nord America, in Europa ed in Giappone. La sterigmatocistina è meno tossica dell'aflatossina, ma viene prodotta in concentrazioni maggiori. L'intossicazione da sterigmatocistina si osserva nelle ovaiole in deposizione alimentate con mangimi sbriciolati, contaminati con l'*A. glaucus* che produce e libera la tossina. Gli animali intossicati rifiutano di alimentarsi; l'ovodeposizione cala. Si osserva decolorazione del guscio. Alla necropsopia, il fegato appare chiaro, grasso e contiene emorragie. La malattia sperimentale, nelle galline ovaiole si presenta con lesioni al fegato, al pancreas, agli organi linfoidi e al rene (Hoerr, 1997).
- **Patulina:** la patulina è una tossina prodotta da molte specie di *Aspergillus*, *Penicillium* e *Byssochlamys* (Hoerr, 1997). Le ovaiole alimentate con mangimi contenenti patulina producono uova di forma alterata e con il guscio sottile (Hoerr, 1997).

La diagnosi di micotossicosi non è facile, in quanto i sintomi e lesioni non sono patognomonici e spesso sono sovrapponibili a quelli indotti da malattie infettive e parassitarie. La conferma può avvenire solo dagli esami chimici, dalla prova biologica ed eventualmente dagli esami micologici eseguiti sul mangime utilizzato. Per alcune

micotossine (aflatossine, T-2, ocratossine, zearalenone) sono disponibili kits con anticorpi monoclonali per svelarne la presenza.

Nel caso delle aflatossicosi può risultare utile l'esame istologico del fegato, dove è possibile, soprattutto nelle anatre, mettere in evidenza un'iperplasia dell'epitelio dei dotti biliari.

In caso di micotossicosi la sostituzione del mangime contaminato con un altro indenne è senz'altro la prima misura da adottare.

Per quanto riguarda il controllo, è doveroso impiegare materie prime di buona qualità ed impedire l'ammuffimento del prodotto finito con l'uso di fungistatici e di fungicidi, quali il sorbato di sodio e potassio e l'acido propionico. L'uso di tali sostanze, tuttavia, può riuscire a bloccare lo sviluppo fungino, ma non a distruggere le micotossine eventualmente già formatesi. Le micotossicosi più difficili da controllare sono quelle a decorso subacuto e cronico, perché difficilmente sospettabili e causa non di mortalità elevata, come può verificarsi nelle forme a decorso acuto, bensì di perdite economiche notevoli per la ridotta produttività dei soggetti intossicati.

Le zeoliti e i composti con silice, aggiunti nel mangime, sembrano avere un effetto positivo nei confronti di alcune micotossine (Asdrubali *et al.*, 1996).

2.3. La luce

L'illuminazione, intesa come intensità luminosa e durata di esposizione (fotoperiodo), svolge il doppio ruolo di influenzare la crescita corporea dell'animale e di modulare lo sviluppo e l'attività dell'apparato riproduttore (Meluzzi, 2008).

In generale, lo sviluppo dell'apparato riproduttore e la sua funzionalità sono favoriti da un fotoperiodo crescente, come quello che naturalmente alla nostra latitudine si verifica nel periodo primaverile. La luce favorisce l'inizio dell'attività riproduttiva grazie alla presenza nell'ipotalamo di fotorecettori in grado di percepire direttamente lo stimolo luminoso, il quale viene integrato e tradotto in uno stimolo ormonale dalle cellule neurosecernenti preposte alla produzione di GnRH, con conseguente aumento di gonadotropine ipofisarie (Cerolini *et al.*, 2008).

Un'intensità luminosa elevata, come pure un fotoperiodo lungo, sono indispensabili affinché i pulcini appena accasati possano trovare il mangime e l'acqua. In seguito, durante lo svezzamento, l'assunzione di alimento aumenta in modo curvilineo all'aumentare della durata di esposizione delle pollastre alla luce. Il fotoperiodo può quindi stimolare, nel caso di fotoperiodo lungo, o ritardare, nel caso di fotoperiodo breve, la maturazione

dell'apparato riproduttore. Inoltre, per ottenere una deposizione regolare di uova è necessario che si assicuri alle galline un'esposizione prolungata alla luce. L'età e il peso corporeo della gallina al momento della deposizione del primo uovo influenzano fortemente il numero e il peso delle uova, pertanto si ribadisce l'importanza dei programmi luminosi per l'ottenimento di una pollastra che raggiunga la maturità sessuale all'età corretta e al giusto peso e che garantisca una produzione di uova della taglia richiesta dal mercato.

Quando si diminuisce la durata di illuminazione giornaliera, aumenta l'età di raggiungimento della maturità sessuale.

Con un fotoperiodo costante inferiore a 10 ore si pospone l'età di deposizione del primo uovo di 1,7 giorni per ogni ora in meno, mentre si anticipa di soli 0,3 giorni per ogni ora in più delle 10 ore. Tuttavia con i nuovi ceppi di ovaiole l'effetto ritardante della maturità sessuale è di 4 giorni per ogni ora di riduzione del fotoperiodo al di sotto delle 10 ore. Le pollastre sono più sensibili alle variazioni del fotoperiodo (fotoperiodo decrescente oppure crescente) rispetto ai programmi luminosi con fotoperiodo costante. Riducendo settimanalmente la durata di illuminazione giornaliera da 13 ore a 8 ore (fotoperiodo decrescente) la maturità sessuale verrà ritardata di ben 22 giorni rispetto a quanto si verifica adottando un fotoperiodo decrescente da 18 a 13 ore di luce. Si ritiene che la riduzione nell'assunzione di alimento e la riduzione della crescita, che avvengono quando le galline sono allevate con brevi periodi brevi, potrebbero essere responsabili del ritardo della maturità sessuale (Meluzzi, 2008).

Per le pollastre si utilizzano programmi di illuminazione diversificati in relazione alla tipologia di ricovero impiegata, ovvero a seconda che il ricovero sia chiuso, completamente condizionato e senza finestre, oppure sia aperto e con finestre. In questo secondo caso, si deve tenere conto anche del periodo di nascita delle pollastre. La regola generale per le pollastre è che la lunghezza del periodo luminoso non deve mai aumentare. Tuttavia in tutti i programmi per pollastre distinguiamo due fasi, una prima fase caratterizzata da programmi con fotoperiodo costante o decrescente, con la finalità di ritardare la maturità sessuale, e una seconda fase caratterizzata da fotoperiodo crescente con la finalità di stimolare una rapida maturazione dell'apparato riproduttore (Meluzzi, 2008).

Nei pollai oscuri si fornisce un'illuminazione continua per i primi giorni di vita e poi si riduce gradualmente il periodo di illuminazione giornaliera a 8-10 ore (consigliate dopo le 7 settimane di età) e si mantengono questi valori fino all'inizio della stimolazione della

maturazione dell'apparato riproduttore. In passato era una prassi comune allevare le pollastre a 8 ore di luce giornaliera, mentre oggi la tendenza delle ditte selezionatrici è di raccomandare 9-10 ore di luce perché gli ibridi moderni raggiungono più precocemente dei loro predecessori la maturità sessuale e l'uso di fotoperiodi più lunghi stimola l'assunzione di alimento e consente di raggiungere più facilmente l'obiettivo del peso ideale raccomandato dalle aziende selezionatrici. Fornendo più di 10 ore di illuminazione al giorno non si hanno ulteriori vantaggi. La stimolazione della maturità (seconda fase) inizia fra la 14a e la 17a settimana e consiste in un incremento della luce giornaliera di 1-2 ore ogni settimana. (Meluzzi, 2008).

Quando gli animali sono accasati in pollai con finestre sono influenzati dal fotoperiodo naturale e i suoi effetti sulla maturità sessuale dipendono dal periodo dell'anno e dalla latitudine. Come è noto, il fotoperiodo naturale decresce dal 21 giugno al 21 dicembre e cresce negli altri sei mesi dell'anno. Pollastre allevate impiegando solo la luce solare presentano un anticipo nel raggiungimento della maturità sessuale di ben 33 giorni se nate in dicembre rispetto a quelle nate in giugno. Pertanto in questi capannoni occorre organizzare programmi luminosi che prevedano l'integrazione della luce naturale con la luce artificiale con modalità diverse in relazione al periodo di nascita delle pollastre. Nel caso di pollastre nate in periodi dell'anno con fotoperiodo naturale decrescente si fornisce un'illuminazione continua, integrando la luce naturale con luce artificiale nei primi giorni di vita, e poi si diminuiscono gradualmente le ore di luce fino a raggiungere il numero di ore di illuminazione corrispondente al fotoperiodo naturale. In seguito, si mantiene la luce naturale fino al momento della stimolazione della maturità sessuale che si attua attorno alla 14a settimana. La stimolazione si induce aggiungendo 2 ore di luce artificiale la prima settimana e successivamente aumentando la durata di illuminazione di 30-60 minuti/settimana, facendo sempre ricorso a luce artificiale. Se le pollastre sono nate durante il fotoperiodo naturale crescente, ci si trova in una situazione sfavorevole in quanto si va incontro a un'ovodeposizione anticipata. In tal caso, dopo i primi giorni di luce continua, si fornisce una durata costante di illuminazione corrispondente al fotoperiodo naturale più lungo al quale sarà esposta la pollastra da 8 a 14-17 settimane integrando la luce naturale con la luce artificiale. La stimolazione dell'ovario verrà fatta a 14-17 settimane aggiungendo un'ora di luce e, nelle settimane successive, 15-20 minuti/settimana (Meluzzi, 2008).

Per molti anni si è ritenuto che durante la fase di deposizione si dovesse aumentare il fotoperiodo fino a 16-17 ore di luce giornaliera. Tuttavia l'uso di fotoperiodi così lunghi si

riferiva al tempo in cui i pollai senza finestre non erano sufficientemente oscurati e ci si conformava a un'altra regola dell'illuminazione: “ non diminuire mai la durata dell'illuminazione durante la deposizione”. Gli standard dei pollai oscuri sono attualmente assai migliorati e ora, per massimizzare la produzione di uova, non c'è necessità di fotoperiodi più lunghi di 13-14 ore per i ceppi che producono uova a guscio colorato e 10-11 per quelli che producono uova a guscio bianco. Fotoperiodi più lunghi inducono un maggiore consumo di mangime per soddisfare la maggior richiesta di energia poiché la gallina produce più calore durante le ore di luce che durante le ore di buio. Infatti, il consumo di mangime cresce di 1 g/capo/giorno per ogni ora in più di luce e questo è in accordo con l'incremento dell'1% della produzione di calore. Le conseguenze negative del fotoperiodo lungo sono, oltre al maggior consumo di energia, la produzione di uova con gusci più sottili, la maggiore incidenza di uova con difetti di calcificazione del guscio e il maggior tasso di mortalità. L'assottigliamento del guscio è dovuto più al periodo di buio breve che al periodo di luce lungo, infatti, il picco delle concentrazioni di calcitonina e di paratormone, gli ormoni responsabili della mobilizzazione del calcio per la formazione del guscio, avviene durante il buio. Periodi di luce brevi e di buio lunghi consentono agli ormoni coinvolti nella mineralizzazione di influenzare il rilascio del calcio dallo scheletro e di produrre uova con guscio più robusto. La produzione di uova con la tipica protuberanza equatoriale sembra sia causata da una produzione massiccia di adrenalina indotta dallo stress che provoca una grossa contrazione muscolare quando il guscio dell'uovo che staziona nell'ovidutto è ancora fragile. Il guscio si rompe nella zona equatoriale e viene riparato con altro calcio determinando la tipica formazione. Sembra che la scarica di adrenalina coincida con il momento di spegnimento della luce dopo un fotoperiodo lungo. Nonostante un fotoperiodo breve riduca in condizioni sperimentali l'incidenza di queste uova anormali, questi rimedi non sono consigliati a livello pratico. Le ditte selezionatrici di ceppi di ovaiole consigliano, infatti, per i pollai oscuri 14-16 ore di luce al giorno, a partire dal 50% di produzione di uova, mentre per i pollai con finestre il fotoperiodo deve essere uguale al fotoperiodo naturale più lungo che si avrà durante il ciclo di deposizione. In quest'ultima situazione è importante infatti che la durata di illuminazione dopo il giorno più lungo non diminuisca mai. Poiché il fotoperiodo naturale varia nel corso dell'anno, ai periodi di luce naturale si sommano periodi di luce artificiale fornita al mattino, prima dell'inizio della luce naturale, e alla sera, prima del buio, in modo che la durata totale di illuminazione giornaliera sia sempre uguale e costante. A tale proposito, si ritiene utile sottolineare che, per il calcolo del fotoperiodo naturale, il periodo

di illuminazione percepito dalla retina e dall'asse ipotalamo-ipofisario comincia circa 25 minuti prima del sorgere del sole e termina 25 minuti dopo il tramonto, quando il sole è circa 6° sotto l'orizzonte (Meluzzi, 2008).

L'intensità della luce è importante: un livello minimo di intensità è infatti necessario per stimolare la maturità sessuale e il mantenimento della deposizione. Poiché la risposta della gallina all'intensità è curvilinea, non c'è un livello di intensità chiaramente definito al di sopra del quale non si ha un ulteriore incremento del numero di uova deposte. Con i ceppi di galline di 40 anni fa, la riduzione dell'intensità luminosa da 5 a 0,5 lux induceva una riduzione di 13 uova per ciclo di deposizione, mentre con i ceppi moderni la riduzione si limita a 3 uova. Una luce intensa non induce un maggiore consumo di alimento, spesso comporta invece una produzione di uova più piccole. Con intensità troppo elevate aumenta l'attività e l'aggressività delle galline che può portare alla plumofagia, e, nei casi più gravi, al cannibalismo. Dal punto di vista economico non sembra vantaggioso tenere intensità superiori a 5-10lux, tuttavia, nonostante i regolamenti sul benessere animale dell'UE indichino che queste sono le intensità minime da tenersi negli allevamenti, è una buona pratica manageriale tenere un'intensità di 10 lux che consente un'adeguata ispezione e controllo degli animali e delle attrezzature. L'intensità della luce deve essere uniforme nell'area frequentata dagli uccelli. Nell'allevamento a terra le lampade devono essere posizionate in modo tale che non vi siano zone oscure o eccessivamente illuminate. Nell'allevamento in gabbia, le lampade devono essere collocate in modo tale che i raggi cadano sulle mangiatoie e sugli animali. Nei ricoveri attrezzati con numerosi piani di gabbie la distribuzione della luce risulta più difficoltosa, infatti le galline dei piani più alti ricevono una maggior intensità luminosa di quelle accasate nei piani inferiori. Se un minimo di intensità è assicurata ai piani più bassi, non c'è alcun problema relativamente alla produzione di uova derivante dalla maggiore intensità nella parte più alta del ricovero, tuttavia un'elevata luminosità è correlata a certi comportamenti come il becchettare, il cannibalismo, il nervosismo e anche il prolasso dell'utero. Per ridurre l'incidenza di questi inconvenienti le lampade sono montate lungo i corridoi di servizio e ad altezze diverse. In alcuni casi, come nelle batterie formate da numerosi piani, può essere vantaggioso fare ricorso a piccole lampade posizionate a livello della mangiatoia per illuminare le gabbie dei piani più bassi (Meluzzi, 2008).

2.4. Temperatura e ventilazione

La zona di termoneutralità per le galline si trova nell'intervallo fra 20°C e 35°C. Al di fuori di tale intervallo non vi è una necessità diretta per il controllo della temperatura, tranne che in condizioni estreme. Utilizzando una dieta adeguata, la produzione di uova rimane relativamente costante all'interno di un intervallo di temperatura abbastanza ampio:

secondo alcuni autori pari a 15-27°C mentre, secondo altri, intorno a 10-30°C. Il controllo della temperatura non è legato alla produttività delle galline, quanto piuttosto al consumo di mangime. Con basse temperature si ha un maggiore consumo di mangime per il corretto mantenimento della temperatura corporea dell'animale, per cui risulta economicamente più vantaggioso mantenere la temperatura del ricovero della zona di termoneutralità. Per le galline si consiglia una temperatura del ricovero compresa tra 21 e 24°C. Al di sopra di questi valori la conversione alimentare può migliorare ulteriormente ma peggiora il peso e la qualità delle uova, a meno che non si aumenti la concentrazione dei nutrienti della dieta. Nei Paesi temperati come l'Italia, le caratteristiche costruttive dei ricoveri utilizzati e le condizioni climatiche consentono di allevare animali adulti, come le galline, senza la necessità del riscaldamento. Ciò dipende sostanzialmente dalle elevate densità di allevamento adottate, particolarmente nell'allevamento in gabbia.

Il numero di animali accasati influenza direttamente la temperatura attraverso il calore che essi producono e, indirettamente, attraverso il grado di ventilazione necessario. A basse densità di allevamento, come avviene nell'allevamento a terra, la produzione di calore è limitata e nei periodi freddi, per mantenere un'adeguata temperatura ambientale, gli allevatori sono soliti ridurre la portata di ventilazione. Questo modo di operare risulta economicamente più vantaggioso in quanto la gallina se fosse allevata a temperature inferiori a 20°C consumerebbe più mangime per la termoregolazione corporea; tuttavia riducendo la portata di ventilazione peggiora la qualità dell'ambiente in quanto aumenta la concentrazione dei gas nocivi, in particolare di ammoniaca, e la lettiera risulta più umida. Per contro, densità di allevamento molto elevate richiedono un notevole aumento della ventilazione e il controllo della temperatura nei periodi estivi risulta difficoltoso. Per ridurre gli inconvenienti legati alle alte temperature (scarso appetito delle galline, uova piccole, gusci fragili, stress da calore, ecc.) la quasi totalità degli allevamenti in gabbia è dotata di sistemi di raffreddamento costituiti dai pannelli evaporativi, che sono molto efficaci nell'abbassare la temperatura dell'aria in entrata nel ricovero.

L'umidità relativa dovrebbe essere compresa fra 40 e 80%, in quanto le infezioni respiratorie sono molto più frequenti al di fuori di questo intervallo. Un'elevata umidità

rende difficile il mantenimento della temperatura corporea perché, in condizioni di elevate temperature ambientali, il calore corporeo è disperso principalmente attraverso il raffreddamento evaporativo e la polipnea (*panting*), ovvero l'aumentata frequenza respiratoria.

I contaminanti dell'aria, come le polveri, i batteri e l'ammoniaca, fanno aumentare le infezioni respiratorie che nei casi più gravi determinano lesioni ai sacchi aerei.

L'esposizione continua ad alte concentrazioni di ammoniaca riduce l'attività delle ciglia vibratili dell'apparato respiratorio. Concentrazioni di ammoniaca pari a 30 ppm sono lievemente nocive per animali adulti, tuttavia influenzano la produzione di uova e lo stato di salute in generale. Anche se possono essere tollerate per brevi periodi concentrazioni di ammoniaca elevate, si consiglia di non superare valori di 20 ppm. I sistemi più moderni di allevamento dell'ovaiola in gabbia, attraverso l'essiccazione della pollina all'interno o all'esterno del ricovero, consentono di mantenere la concentrazione di ammoniaca a livelli relativamente bassi.

I problemi legati alla qualità dell'aria sono più frequenti nei sistemi di allevamento a terra che in gabbia, in quanto il tasso di ventilazione è più basso.

La ventilazione è una tecnologia indispensabile per la creazione di un microambiente ottimale per la gallina in quanto consente una diluizione degli agenti patogeni e dei gas nocivi e interviene nella regolazione della temperatura e dell'umidità. I sistemi di ventilazione variano in relazione ai sistemi di allevamento delle galline. Nei sistemi in gabbia si adotta una ventilazione forzata in depressione con flusso trasversale a C o con soffiaggio d'aria sotto la gabbia. Nei sistemi a terra, la ventilazione è naturale sfruttando le finestre e i cupolini ed è integrata con ventilatori posizionati sui lati più lunghi del ricovero. Durante l'inverno i ventilatori lavorano a velocità molto più basse, in relazione alla temperatura esterna. Ogni ventilatore è dotato di termostato regolato a diverse temperature in modo da fornire regolarmente aria fresca minimizzando le perdite di calore (Meluzzi, 2008).

3. MALATTIE VIRALI

Le più importanti malattie di origine virale, anche in ordine di provata frequenza e importanza economica, sono:

- Bronchite infettiva (IB);
- Pseudopeste Aviare (Malattia di Newcastle (ND));
- Influenza Aviare (AI);
- Encefalomielite Aviare(AE);
- Sindrome da calo della deposizione (EDS 76);
- Laringotracheite infettiva (LTI);
- Rinotracheite infettiva (TRT) o Malattia della testa gonfia (SHS);

3.1. BRONCHITE INFETTIVA

La Bronchite Infettiva (IB) è una malattia a decorso per lo più acuto, altamente contagiosa; sostenuta da un *Coronavirus* che ha tropismo per gli epitelii dell'apparato respiratorio, del rene e dell'ovidutto. Il virus colpisce solo il pollo, in forma più o meno grave a seconda della virulenza dei ceppi virali, dello stato immunitario dell'animale e dell'igiene dei ricoveri, predisponenti per l'insorgenza di complicanze batteriche. Anche la genetica svolge un ruolo non secondario come confermato dalla Nefrite Nefrosi nei polli da carne di razza pesante. Sostanzialmente si riconoscono tre forme di malattia: la forma respiratoria "classica" in pulcini e pollastri, il calo della deposizione in ovaiole e riproduttori e la forma renale appunto nel broiler.

- **Storia.** La Bronchite Infettiva è stata riscontrata per la prima volta nel Nord Dakota, USA, nel 1930.
- La descrizione da parte di Schalk e Hown nel 1931 dei sintomi clinici e delle indagini di laboratorio, relativi a quei casi, è stata considerata il primo lavoro sulla IB. La malattia è stata inizialmente osservata nei pulcini; tuttavia, è stata in seguito riscontrata frequentemente sia nei soggetti più grandi sia nelle galline in deposizione.

- Altre fasi importanti da ricordare riguardano l'attribuzione, da parte di Beach e Schalm nel 1936, della eziologia ad un virus, la coltivazione del virus della Bronchite Infettiva (IBV) per la prima volta su uova embrionate di pollo, da parte di Beaudette e Hudson nel 1937 e la osservazione da parte di Jungher e coll. della capacità degli stipiti Connecticut, isolato nel 1951, e Massachussets, isolato nel 1941, a determinare malattie simili, ma senza fornire una protezione crociata né una neutralizzazione crociata. Questo ultimo lavoro ha dimostrato per la prima volta che l'agente eziologico della IB era caratterizzato da numerosi sierotipi.
- Negli anni '40 altre manifestazioni quali il calo della deposizione nelle galline, osservato nel corso di una forma respiratoria, riportano al virus IB. Negli anni '60 anche da lesioni renali viene frequentemente isolato il Coronavirus della IB.
- La prevalenza della IB e la sua importanza economica determinarono l'attuazione di numerosi tentativi volti a limitare i danni nelle ovaiole, cercando di prevenire l'insorgenza della malattia con l'esposizione delle pollastre ad infezioni controllate nella fase che precede l'inizio della deposizione. Van Roekel ha ottenuto buoni risultati inoculando in alcuni uccelli il virus uovo-propagato e liberandoli nella moltitudine per esporre naturalmente il resto della massa. Questi sono considerati il primo passo nella profilassi vaccinale che tanta importanza ha avuto nella prevenzione della malattia (Cavanagh et al., 1997) (Fabricant, 1998)
- La situazione epidemiologica negli Stati Uniti si è notevolmente evoluta, con l'isolamento e la tipizzazione di numerosi sierotipi o varianti quali, ad esempio: Mass, Conn, Ark, Ca var, DE072, Ga98, Florida, JMK, Iowa, Gray, Holte, Se17, Main209, Clark333.
- Indagini condotte negli ultimi anni, hanno rilevato che i sierotipi più frequenti sono Ark, in particolare Ark DPI, Mass e Conn che tra l'altro, sono i sierotipi presenti nei vaccini più comunemente usati. I sierotipi Florida, JMK, Iowa, Gray, Holte, che avevano importanza nel passato, non sono stati più isolati in quest'ultimo periodo.
- Altri sierotipi caratterizzati recentemente sono il DE072, isolato per la prima volta nella regione del Delmarva nel 1990 da broilers con forme respiratorie, che era geneticamente correlato alla variante olandese D1466. Questo sierotipo è risultato molto diffuso nel Sud Est negli anni 1990-1993.
- L'introduzione di un vaccino DE072, ha determinato una diminuzione degli isolamenti fino al 1996 quando si è iniziato a registrare un nuovo incremento. Tuttavia, indagini molecolari eseguite su ceppi DE072-like isolati nella Georgia tra il

1997 e il 2000, hanno permesso di rilevare la presenza di un nuovo sierotipo il GA98 probabilmente derivato dal DE072. La percentuale degli isolamenti tipo GA98 è in diminuzione dal 2001. Le prove di sicurezza ed efficacia di un nuovo vaccino con il sierotipo GA98 sono state pubblicate recentemente.

- Le forme renali, rispetto alle forme respiratorie o riproduttive, sono poco frequenti, anche se periodicamente si segnalano isolamenti di ceppi nefropatogeni. I primi casi furono segnalati nel 1962 in Wisconsin (Holte) e nel Delmarva (Gray), nel 1987 in Georgia, nel 1989 in Florida e nel 1991 in California. Uno degli episodi più gravi si registrò in Pennsylvania negli anni 1997-2000 dove furono identificati 2 nuovi genotipi PA/Wolgenmuth/98 e PA/171/99.
- In California sono state identificate delle varianti denominate “californiane” che esibiscono notevoli differenze antigeniche con gli altri sierotipi presenti negli USA e che risultano presenti solo in questa regione dal 1988 fino ad oggi; sono classificate in due gruppi distinti 1 e 2.
- Non è mai stata segnalata la presenza di sierotipi circolanti in altri continenti.
- In Europa ci sono segnalazioni della presenza del sierotipo Mass già dagli anni '40. Da allora, come è accaduto in altri continenti, è stato identificato e caratterizzato un elevato numero di sierotipi, quali: Mass, D207, D212, D274, D3896, D1466, PL-84084France, AZ23/74It, B1648, UK6/82, UK142/86, 793B, 624-I, IT02. Fra questi è opportuno ricordare, in particolare:
- Il sierotipo Mass presente praticamente in tutta Europa, e tutt'ora molto diffuso in alcuni Paesi. Indagini eseguite in Gran Bretagna su ceppi isolati dal 2002 lo riportano come uno dei più frequenti. In Svezia, è stato osservato che i ceppi Mass-type isolati dal 1° focolaio di IBV nel 1994, fino all'introduzione del vaccino nel '97, presentavano una sequenza nucleotidica che differiva leggermente dal ceppo vaccinale; stranamente, dal 1998 la maggior parte dei ceppi isolati presentavano invece una omologia del 100% con il ceppo vaccinale, indicando che l'uso del vaccino potrebbe aver contribuito alla diffusione di IBV.
- Le varianti olandesi (D274, D1466), isolate per la prima volta nella fine degli anni 70, presentano un tropismo fondamentalmente respiratorio. Il sierotipo D274 era molto diffuso negli anni 80 e inizio dei 90 in molti paesi dell'ovest Europa. In Belgio era, ad esempio, il più frequente nella prima metà degli anni 90, superando anche il sierotipo Mass e la variante B1648.

- La variante nefropatogena belga B1648 è stata isolata per la prima volta nel 1984. Conosciuta anche come D8880 è attualmente responsabile di sporadici casi di forme renali di IBV. In passato in Belgio, negli anni 1986-1995, la percentuale di isolamenti di questa variante si aggirava attorno al 8-10%, anche se nella maggior parte dei casi (70%) l'infezione determinava sintomatologia respiratoria mentre solo in una piccola percentuale (4%) veniva isolato da forme renali.
- Il sierotipo 793B o 4/91 è stato segnalato per la prima volta nel 1991 in Gran Bretagna in riproduttori con miopatia dei muscoli pettorali superficiali e profondi. Studi retrospettivi dimostrarono la presenza di questo sierotipo in Francia già nel 1985 (CR88), ed è attualmente molto diffuso in diverse nazioni. Nel Regno Unito, ad esempio, è il secondo sierotipo in quanto a frequenza. La sua presenza è stata segnalata anche in Thailandia (positività virologica e sierologiche) ed in Mexico (solo positività sierologiche), anche se in quest'ultimo caso non è mai stato isolato nessun ceppo tipizzato come 4/91.
- Genotipo IT02. Isolato per la prima volta in Italia nel 1999 (FO4582/99) da broilers in età compresa fra 20-45 giorni con mortalità improvvisa e con un tropismo variabile tra apparato respiratorio e forme miste con presenza costante di enterite e nefrite. E' presente in diversi paesi dell'ovest Europa (Francia, Spagna, Germania, Olanda, Regno Unito) ed in quest'ultimo Paese è il 3° genotipo per frequenza di isolamento dal 2002.
- Ceppo D388. E' stata segnalata in Olanda l'identificazione di un potenziale nuovo sierotipo, che è ancora in corso di caratterizzazione, osservato in 6 casi di forme nefropatogene di IBV, caratterizzate da sintomi respiratori, lettiera umida ed incremento della mortalità.
- La prima segnalazione di un nuovo serotipo in Italia (e quindi anche in Europa) risale al 1965 con il ceppo nefropatogeno 1731PV. Da allora alla fine degli anni 80 si sono moltiplicati gli isolamenti di ceppi differenti, tra i quali da segnalare in particolare il 3794/Fo/83 molto studiato e caratterizzato in quegli anni ed utilizzato nei prodotti vaccinali. L'analisi del sequenziamento nucleotidico della regione ipervariabile (HVR) della S1 eseguito su 7 ceppi di collezione isolati nella Sezione di Forlì dell' Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell' Emilia Romagna (IZSLER), compresi anche i ceppi 1731PV e 3794/Fo/83, ha rivelato sorprendentemente che appartengono al sierotipo 624I segnalato per la prima volta in Italia nel 1994. Ciò sta ad indicare che detto sierotipo era già molto

diffuso negli anni 60-80 ed ha continuato ad essere presente fino agli anni 90. Negli ultimi anni si è ridotta considerevolmente la frequenza degli isolamenti.

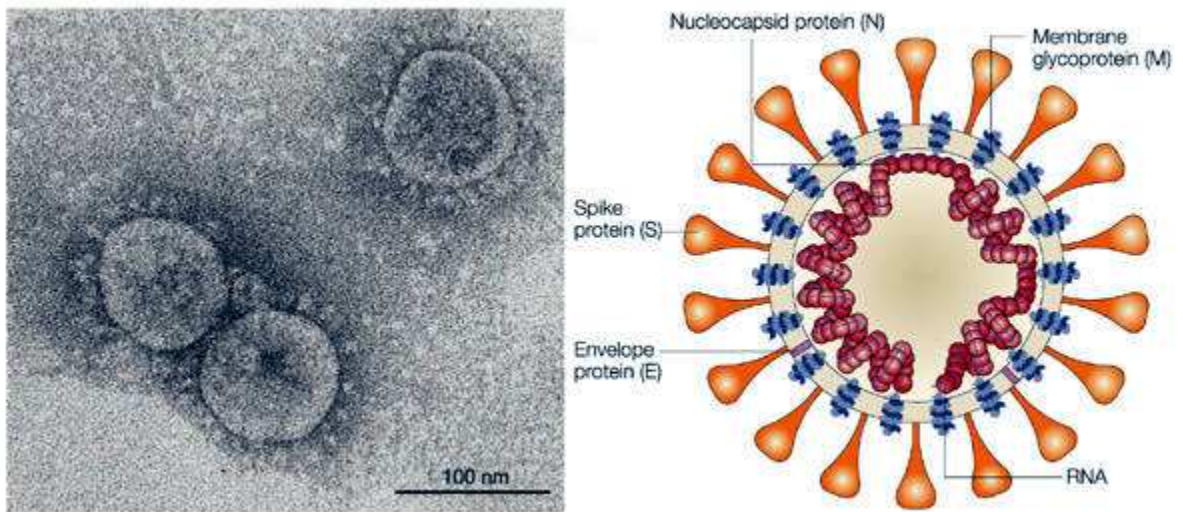
- La situazione in Italia viene rispecchiata dall'indagine condotta dall'IZSLER, che riguarda la caratterizzazione molecolare di 99 ceppi isolati soprattutto nelle regioni settentrionali dal 1999 al 2005. Considerando che oltre il 70% della produzione di carni avicole e di uova è concentrata in tre regioni del Nord Italia (Lombardia, Veneto ed Emilia Romagna) è possibile considerare questa indagine come rappresentativa della situazione nazionale nel suo complesso.
- I risultati della amplificazione e del successivo sequenziamento della HVR della S1 hanno evidenziato che i più frequenti sono il sierotipo 793B (52% dei casi) ed il genotipo IT-02 (32%).
- Il sierotipo Mass risulta presente solo nei 6% dei ceppi isolati e soltanto un isolamento nel 2004 ha evidenziato il sierotipo 624I. Un dato interessante è la caratterizzazione di due isolati come ceppo D274 e di altri due ceppi B1648; quest'ultimo già segnalato in Italia nel 1999. Va sottolineato che i ceppi caratterizzati genotipicamente come 793B possono essere ulteriormente divisi in due gruppi: il primo (23%) corrisponderebbe al sierotipo 793B propriamente detto, il secondo (77%) sarebbero ceppi che presentano una maggior percentuale di omologia con il ceppo Fa/6881/97 che con il 793B. Il ceppo Fa6881 genotipicamente non presenta con il sierotipo 793B una percentuale di differenza tale da poterlo considerare un genotipo diverso. Utilizzando la virusneutralizzazione (VN) i risultati sono alquanto diversi: il ceppo Fa6881 non viene neutralizzato dall'antisiero CR88121 (il ceppo CR88121 è identico al ceppo 793B); il ceppo CR88121 però viene neutralizzato debolmente dall'antisiero Fa6881. In questi ultimi anni diversi ceppi sono stati tipizzati sia con VN che con l'inibizione dell'emoagglutinazione (HI) come appartenenti al sierotipo Fa6881, quindi si può ipotizzare che questo sierotipo sia abbastanza diffuso in Italia.
- Infine, un altro dato degno di attenzione è l'isolamento di 5 ceppi isolati da allevamenti industriali, con forme renali gravi ed aumento della mortalità, tra il 2004 e il 2005, il cui sequenziamento nucleotidico rivela una percentuale di analogia del 99% con il ceppo cinese QXIBV. La circolazione di ceppi simili a questa variante è già stato riportato in Italia nel 2005 da 2 episodi di IBV in allevamenti rurali (Martin, 2006).

- **Eziologia.** Il virus della Bronchite Infettiva (IBV) appartiene all'ordine *Nidovirales*, famiglia *Coronaviridae*, genere *Coronavirus*, con genoma a RNA, con envelope e diametro di circa 120 nm, ma pleomorfo. Il virus è stato scoperto nel 1936; a tutt'oggi sono stati riportati oltre 60 sierotipi sparsi in tutto il mondo, ma soprattutto in Nord America ed in Europa. Fatta eccezione per il ceppo Massachusetts, diffuso quasi in tutto il mondo, i vari sierotipi non sembrano essersi sostanzialmente diffusi da un continente ad altri; solo talvolta tra Paesi o zone limitrofe (Zanella, 2005) (Cavanagh *et al.*, 1997). Numerose rassegne bibliografiche riferiscono sulla composizione chimica dei Coronavirus della IB. Il virione dell'IBV contiene tre proteine virus-specifiche; la proteina associata rispettivamente alle glicoproteine delle proiezioni (S) e della membrana (M) e la proteina interna (N) associata al nucleocapside. Inoltre una quarta proteina (una piccola proteina di membrana MS) si ritiene che sia associata con l'envelope del virione. La proteina S comprende due o tre copie di ciascuno dei due glicopolipeptidi, S1 e S2, approssimativamente di 520-625 aminoacidi, rispettivamente (Cavanagh *et al.*, 1997). Il virus della Bronchite Infettiva è considerato uno dei virus antigenicamente più variabili, suscettibile di ricombinazione, in funzione del modo di replicazione (trascrizione discontinua di RNA) e di variazioni di sequenze aminoacidiche negli "spikes" S1. Gli "spikes", a forma di petalo, permettono l'adsorbimento e la penetrazione del virus nella cellula ospite; inducono, inoltre, la produzione di anticorpi neutralizzanti tipo-specifico e inibenti l'emoagglutinazione (HI), meno specifici. Il nucleocapside induce, invece, la produzione di anticorpi gruppo-specifici, che non permettono, pertanto, la distinzione tra i vari sierotipi (anticorpi ELISA) (Zanella, 2005).

Tabella 2-Principali sierotipi di IBV riportati nel mondo (fonte: Zootecnica International, 2005)

USA		EUROPA		ALTRI CONTINENTI	
Ceppo	Anno	Ceppo	Anno	Ceppo	Anno
Massachusetts 41	1941	Massachusetts 41	Anni '40	Australia t (n)	1962
Connecticut 46	1951	1731/65-pv (n)	1965 i	Massey/new zealand	1967
Iowa 97	1958	Az-446/66 (n)	1966 i	Menendez/arg.	1970
Iowa 609	1958	Az693/66 (n)	1966 i	Kita 1/ japan	1981
Gray (n)	1962	Az-529/67 (n)	1967 i	Morocco g.	1986
Holte (n)	1962	Cuxhaven 10	1969 g	Tm-86/japan (n)	1996
Jmk	1964	k-4	1969 g	St/china (n)	1996
Se-17	1969	37/69 fo	1969 i	7483/98 mexico	1998
Florida	?	Az-857/72 (n)	1972 i	1765/99 mexico	1999
Clarke 333	1971	Az-23/74 (n)	1974 i	Br 8/brasil	2000
Arkansas 99	1973	D-274	Fine anni 70 nl	Br 13/brasil	2000
Arkansas 155	1973	D-1466	Fine anni 70 nl	T3/china	2001
California 1	1988	Az-156/81	1981 i	Beno-seaf/03 egypt	2001
California 2	1988	Hv-6/81	1982 uk	Qx china (n)	2004
Maine 209	1976	3794/fo/83	1983 i		
Maine 212	1976	B1648	1984 b		
California-cal(n)	1991	Az-266/86	1986 i		
DE-072	1990	793/b	1991 uk		
GA 98	1998	D-3128	1991 nl		
PA/Wolgenmuth/98	1998	624I	1994 i		
PA/171/99	1999	Az-27/983	1998 i		
		IT02	1999 i		
		Bs 216/01	2001 i		
		Az 40/053 (n)	2005 i		

Figura 5-Coronavirus (Fonte: education.vetmed.vt.edu)



La maggior parte degli stipiti di IBV subiscono inattivazione termica dopo esposizione per 15' a 56°C e per 90' a 45°C.

Nell'ambiente la sua sopravvivenza è stata mantenuta fino a 12 giorni in primavera e a 56 giorni in inverno.

Esiste invece una variabilità tra gli stipiti di IBV per quanto riguarda la stabilità al pH3.

Il virus della Bronchite Infettiva è sensibile all'azione dell'etere, tutta la capacità infettante viene distrutta dal cloroformio al 50%, a temperatura ambiente, per 10' e dallo 0,1% di sodio desossicolato a 4°C per 18h. Il virus è inoltre sensibile ai comuni disinfettanti (Cavanagh *et al.*, 1997).

Esso cresce bene negli embrioni di pollo. L'arresto della crescita di alcuni embrioni con la sopravvivenza del 90% fino al diciannovesimo giorno di incubazione sono i sintomi prodotti dal materiale contenente un ceppo di campo di IBV, dopo essere stato per la prima volta inoculato in uova di pollo embrionate di 10-11 giorni. La mortalità embrionale e l'arresto della crescita aumentano con l'aumentare del numero dei passaggi seriali, così che dal decimo passaggio molti degli embrioni presentano crescita stentata e più dell'80% può morire dal ventesimo giorno di incubazione. Le lesioni caratteristiche degli embrioni si vedono diversi giorni dopo la inoculazione del virus. Durante la speratura si può osservare solo un leggero movimento dell'embrione poco sviluppato. Attraverso una apertura del polo della camera d'aria dell'uovo, si vede l'embrione a forma sferica e l'amnios ispessito e

strettamente aderente ad esso. Il sacco vitellino appare raggrinzito, la membrana si rompe facilmente ed è presente una quantità superiore di liquido allantoideo, generalmente chiaro. Una grave lesione interna dell'embrione, infettato da IB, è rappresentata dalla persistenza del mesonefro contenente urati. Questa lesione sembra essere associata alla crescita stentata degli embrioni, ma non è specifica dell'infezione da IB. Un'altra lesione che si riscontra nelle uova embrionate, inoculate con ceppi non letali di IBV, è data dall'amnios ispessito e dall'adiacente membrana allantoidea che riveste l'embrione con crescita stentata. La comparsa di questa lesione può essere normalmente osservata il terzo giorno dopo la inoculazione. Questa, parimenti non è una lesione patognomica, pochè può essere riscontrata anche dopo la inoculazione di uova con ceppi lentogeni del virus della malattia di Newcastle (Cavanagh *et al.*, 1997).

Lo studio del comportamento dell'IBV in colture cellulari è stato possibile impiegando monostrati cellulari di rene di embrione di pollo (CEK) e di rene di pollo (CK). L'adattamento dell'IBV alle colture di CEK è stato valutato e documentato da Gillette. Il numero di passaggi richiesti in colture CEK per produrre un forte effetto citopatico (CPE), evidente nelle colture non colorate, e il massimo titolo virale, variavano tra stipite e stipite, sebbene le placche, rilevabili con la colorazione, potevano essere osservate dopo il primo passaggio. Per molti di questi le placche presentavano dimensioni maggiori ad una temperatura di 40°C rispetto a quelle formate a 37°C.

La replicazione dell'IBV in frammenti di trachea e di altri tessuti è stata esaminata e la documentazione raccolta da Darbyshire. Gli anelli tracheali vengono preparati a partire da embrioni di pollo di 20 giorni e mantenuti singolarmente in tubi ruotanti. In seguito all'infezione con IBV la ciliostasi, facilmente osservata al microscopio, si verifica entro 3-4 giorni. Le colture di anelli tracheali sono risultate molto adatte per l'isolamento, la titolazione e la sierotipizzazione dell'IBV, perché non richiedono l'adattamento dei ceppi di IBV di campo per la replicazione e la induzione della ciliostasi (Cavanagh *et al.*, 1997).

- **Epizootologia.** Il pollo è la specie aviare naturalmente più sensibile all'IBV; l'infezione è stata più volte riportata anche nel fagiano. Coronavirus dello stesso gruppo 3° dell'IBV sono stati isolati da altri uccelli domestici e selvatici. Gli animali sono sensibili a tutte le età, ma il danno è maggiore in quelli molto giovani o in deposizione (Zanella, 2005). La Bronchite Infettiva si trasmette in genere per

via aerogena. Il contagio avviene principalmente per coabitazione, specie negli allevamenti intensivi ove migliaia di soggetti vivono nello stesso ambiente e si verifica in genere entro 18-36 ore dalla immissione di pulcini infetti di recente acquisto. La malattia può svilupparsi rapidamente anche in allevamenti vicini, senza che ci sia stato contatto diretto o indiretto, per la facilità con cui il virus può essere veicolato attraverso l'aria. E' stata dimostrata anche la trasmissione verticale della malattia (Asdrubali *et al.*, 1996).

Sintomi e lesioni. Il virus si moltiplica dapprima nell'apparato respiratorio e poi entra nel circolo sanguigno. La replicazione, successivamente, può avvenire anche nei reni, nell'ovidotto e nella borsa di Fabrizio (Asdrubali *et al.*, 1996). Oltre ai classici sintomi respiratori a rapida diffusione, più o meno intensi, accompagnati da lesioni più o meno gravi all'apparato medesimo e a quello renale (nefrite interstiziale), IBV colpisce anche l'apparato genitale:

a) in femmine di età inferiore a 2 settimane, il virus patogeno può causare un danno permanente in un variabile numero di animali, anche in funzione della precocità dell'infezione e della patogenicità del ceppo virale. Il virus replica abbondantemente nell'epitelio dell'ovidotto, con aree di ipoplasia, infiltrazione linfoide, edema della parete e formazione di cisti, soprattutto in *magnum* e *isthmus*; le lesioni, a volte numerose e permanenti, portano alla creazione delle cosiddette "false layers" ovvero a soggetti che presentano le caratteristiche di una ovaiole in produzione, che si comportano come una ovaiole normale, ma non depongono uova. Essi presentano ovaio e ovidotto normali, ma l'infundibolo non riesce a captare l'ovulo dopo che questo ha subito l'ovulazione (Riddel, 1997). Esempi significativi, in proposito, sono quelli recentemente descritti in Olanda, dovuti al ceppo IBV D388 nefropatogeno, isolato da polli di poche settimane di età e che ha provocato una elevata stagnazione dell'ovodeposizione ed incidenza di anomalie, anche grave, nell'ovidotto in vari allevamenti. L'inoculazione di virus, debitamente attenuato (vaccino), non produrrebbe, invece, alcuna patologia in pulcini, soprattutto se in presenza di anticorpi materni;

b) in femmine di età compresa tra le 2 e 18 settimane, la gravità delle lesioni all'ovidotto è inferiore o piuttosto variabile e reversibile, sempre in funzione della patogenicità del virus e dello stato immunitario più o meno tipo-specifico. Ne è un esempio quanto riscontrato recentemente in un gruppo di ovaiole infettatesi a 6 settimane con un ceppo nefropatogeno di IBV, AZ- 40/05, molecolarmente simile

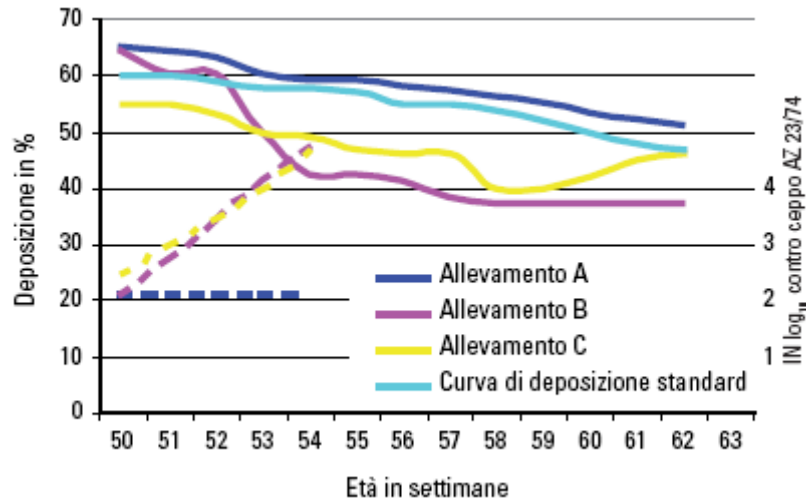
ai ceppi QX cinese e D388 olandese: la deposizione ha raggiunto il 94% a 26 settimane d'età, con incremento normale;

c) in femmine infettatesi durante la deposizione si osserva un calo più o meno elevato (2-40%) della produzione di uova, variabile con il periodo di deposizione, virulenza e caratteristiche antigeniche del virus, stato immunitario più o meno tipo-specifico e genetica. Da 4 a 8 settimane trascorrono prima che la produzione ritorni al livello pre-infezione, ma spesso ciò non avviene completamente. La qualità del guscio è più o meno scadente: sottile, rugoso, malformato, assente, più o meno decolorato in uova a guscio scuro. Un significativo esempio di IB in riproduttori pesanti, verificatasi nel corso della deposizione e dovuta ad un sierotipo di virus diverso dal Massachusetts, che, a sua volta, era stato usato come vaccino, viene riportato in Grafico 1 (Zanella, 2005).

Tabella 3-*Alterazioni di ovidotto osservate in polli sessualmente maturi a seguito di esposizione a IBV a 1 giorno d'età (Fonte: Zootecnica International, 2005)*

	Numero Incidenza/totale	Percentuale
Ovidotto attivo	16/70	22
Ovidotti ipoghiandolari	15/70	21
Non in deposizione	18/70	26
In deposizione ma scarsa qualità dell'uovo	14/70	20
In deposizione normale	38/70	54
Non in produzione: ovidotto attivo	3/18	17
Non in produzione: ovidotto inattivo	15/18	83
Totale del gruppo considerato	70	–

Grafico 1-Curva di deposizione (—) e titolo IN (----) in riproduttori pesanti regolarmente vaccinati con ceppo Mass, infettatisi (All. B e C) a 51 settimane di età con il sierotipo AZ 23/74. (Fonte: Zootecnica International, 2005)



Il danno al sistema riproduttivo può essere permanente, ma inferiore a quello rilevato nella infezione precoce: scomparsa ciglia, disepitelizzazione con incompleta riepitelizzazione, infiltrazione linfocitaria nella parete, dilatazione delle ghiandole tubolari, fibroplasia della lamina propria; sono presenti aree di ipoplasia ghiandolare con disturbi nella sintesi delle proteine dell'albume, che appare più fluido. L'antigene è dimostrabile nell'epitelio tra 6° e 9° giorno dopo l'infezione. Spesso il virus dell'IB è stato isolato da tamponi cloacali e dalle tonsille cecali di animali con lieve calo di ovodeposizione, in presenza di uova più o meno decolorate e con guscio fragile, pur in presenza di scarse o nulle manifestazioni respiratorie, come ad esempio nel caso del ceppo BS-216/01, isolato in Italia (Zanella, 2005).

Tutti i soggetti dell'allevamento si infettano, ma la mortalità è variabile in rapporto alla virulenza dello stipite infettante, all'età, allo stato di immunità, alla presenza o assenza di anticorpi materni oppure di quelli attivi e agli stress provocati dal freddo o da infezioni batteriche secondarie. Una mortalità da moderata a più elevata è stata osservata con alcuni stipiti respiratori e nefropatogeni quali ad es. Delaware 072 e T australiano rispettivamente. Il sesso, le condizioni di allevamento e lo stato di nutrizione sono fattori aggiuntivi che possono far aumentare la gravità della forma renale. La mortalità può raggiungere il 25%, ma può anche superare tale valore nei polli di età inferiore a 6 settimane, mentre è solitamente trascurabile in quelli di

maggiore età. La morbilità nei casi di urolitiasi è risultata variare tra 0,5-1%, per settimana (Cavanagh *et al.*, 1997).

- **Diagnosi.** È basata sull'isolamento del virus, per lo più da trachea, reni e intestino, in uovo embrionato di 9-11 giorni; sono spesso necessari più passaggi in ovo, soprattutto se si tratta di virus selvaggio; anelli tracheali (TOC). Gli anticorpi vengono rilevati a distanza di almeno 3-4 settimane dall'infezione con i test di virus neutralizzazione (VN), inibizione dell'emoagglutinazione (HI), Agar gel precipitazione (AGP) ed ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) (Zanella, 2005). La Diagnosi differenziale deve considerare altre malattie respiratorie acute come la Pseudopeste Aviaria (ND), la Laringotracheite Infettiva (LT), la Corizza Infettiva (IC). La Pseudopeste aviaria si caratterizza clinicamente per i sintomi nervosi che seguono quelli respiratori e/o enterici e dal fatto che nelle galline in produzione la caduta della deposizione si accompagna a tassi di mortalità elevati. La Laringotracheite Infettiva tende a diffondersi più lentamente in un allevamento, ma i sintomi respiratori sono in alcuni casi più gravi rispetto a quelli indotti dalla IB. La Corizza Infettiva si distingue sulla base dell'edema facciale, che solo raramente si osserva nel caso della IB. La produzione diminuisce ed i problemi della qualità del guscio negli allevamenti infetti con la EDS, da *Adenovirus*, sono simili a quelli osservati con la IB, tranne che per la qualità interna dell'uovo, che non è interessata dalle alterazioni nel caso della EDS (Cavanagh *et al.*, 1997).
- **Profilassi.** La profilassi igienico sanitaria prevede lo stretto isolamento degli animali e la formazione dei gruppi con soggetti di 1 giorno d'età, dopo aver pulito e disinfettato l'allevamento. La corretta ventilazione del locale d'allevamento con filtrazione dell'aria secondo un sistema a pressione positiva assicura condizioni ambientali idonee e impedisce la diffusione di agenti patogeni per via aerogena. Ogni forma di promiscuità per età e peso costituiscono fattori di rischio che limitano l'efficacia degli impianti, infatti sistemi attuali di produzione, che prevedono anche l'allevamento di soggetti di età diversa e con densità più elevate, rendono il controllo della IB più difficile come dimostrato dalle perdite economiche più elevate. Il tutto vuoto sanitario a fine ciclo permette l'effettuazione delle operazioni di sanificazione e disinfezione indispensabili e la nuova lettiera devono precedere la nuova introduzione di pulcini di 1 giorno. La vaccinazione precoce con ceppi debitamente attenuati non produce alcun danno all'ovidotto. La prima vaccinazione, in linea di massima, va eseguita nei primi giorni di vita con il ceppo

Mass. (ad es. H120), ripetuta dopo circa 20-25 gg. e verso la nona settimana di età con lo stesso ceppo o con altri sierotipi attenuati-stabilizzati. Prima dell'entrata in deposizione (15-18 sett.) viene spesso inoculato un vaccino inattivato mono o polivalente, che innalza ed amplia di molto l'immunità umorale. Durante la deposizione è consigliabile la vaccinazione con ceppo H120 ogni 3 mesi, soprattutto per mantenere buona l'immunità mucosale (Zanella, 2005).

3.2. PSEUDOPESTE AVIARE

La Pseudopeste aviare o Malattia di Newcastle è sostenuta da un virus appartenente alla famiglia *Paramyxoviridae* virus a RNA monocatenario non segmentato. La famiglia comprende sette generi raggruppati in due sottofamiglie.

La sottofamiglia *Paramyxovirinae* è suddivisa in cinque generi: *Avulavirus* che comprende il virus della Malattia di Newcastle (NDV) ed altri Paramyxovirus Aviari: *Respirovirus Henipavirus*, *Morbillivirus* e *Rubulavirus*.

La sottofamiglia *Pneumovirinae* comprende due generi: *Metapneumovirus*, che include i Pneumovirus Aviari (*Avian metapneumovirus*) e *Pneumovirus*. (ICTV 2009)

I Paramyxovirus Aviari sono stati suddivisi in 9 siero-gruppi, contrassegnati da PMV-1 a PMV-9. Di questi NDV (PMV-1) resta il più importante agente patogeno per il pollame; PMV-2 e PMV-3 possono tuttavia essere responsabili di gravi malattie (Alexander, 1997).

Il termine malattia di Newcastle fu coniato da Doyle temporaneamente, in attesa di disporre di un termine che ne permettesse una chiara distinzione dalle altre forme (Alexander, 1997). Successivamente è stato evidenziato che altre forme meno gravi erano causate da virus indistinguibili dal virus della Malattia di Newcastle (NDV).

Storia.

- Si ritiene che il primo episodio di Pseudopeste si sia verificato nel 1926, a Java, in Indonesia e a Newcastle sul Tyne, in Inghilterra (Alexander, 1997).
- Segnalazioni della malattia simili alle forme attualmente descritte come Pseudopeste, che risalgono a periodi precedenti al 1926, sono state rintracciate in Europa Centrale ed è stata ipotizzata la presenza della malattia in Corea anche prima del 1924 (Alexander, 1997).
- Una moderata forma respiratoria, relativamente lieve, spesso accompagnata da sintomi nervosi, è stata inizialmente descritta negli USA nel 1930 e denominata,

successivamente, *Pneumoencefalite*; questa forma risultò sostenuta, in base ai tests sierologici, da un virus indistinguibile dall'NDV.

- Nel corso di pochi anni sono stati segnalati, in varie parti del mondo, numerosi isolamenti di NDV da polli con forme di malattia estremamente moderate o asintomatiche (Alexander, 1997).
- Nel nostro Paese la Pseudopeste è comparsa intorno al 1940 (Asdrubali *et al.*, 1996).
- Varie epizootie si sono verificate negli ultimi 50 anni nei vari continenti; l'ultima, molto grave, in ordine di tempo si è avuta in Europa negli anni '70 (Zanella, 2005).
- **Eziologia.** Le paricelle virali, appartenenti al genere *Paramyxovirus*, sono pleomorfe, anche se spesso si presentano arrotondate con un diametro di 100-500 nm. Esse sono provviste di envelope dalla cui superficie si dipartono delle proiezioni o aculei. Le più lunghe di queste, di circa 8 nm, sono costituite da una singola glicoproteina (HN) alla quale sono associate sia l'attività neuroaminidasica che emoagglutinante. Anche le proiezioni più corte sono di natura glicoproteica (F); ad esse è legata la capacità dell'envelope del virus a fondersi con le membrane cellulari e a determinare la fusione delle cellule infette, per cui ne consegue il caratteristico effetto citopatico rappresentato da sincizi.

Figura 6-*Paramyxovirus* (Fonte: pathmicro.med.sc.edu)

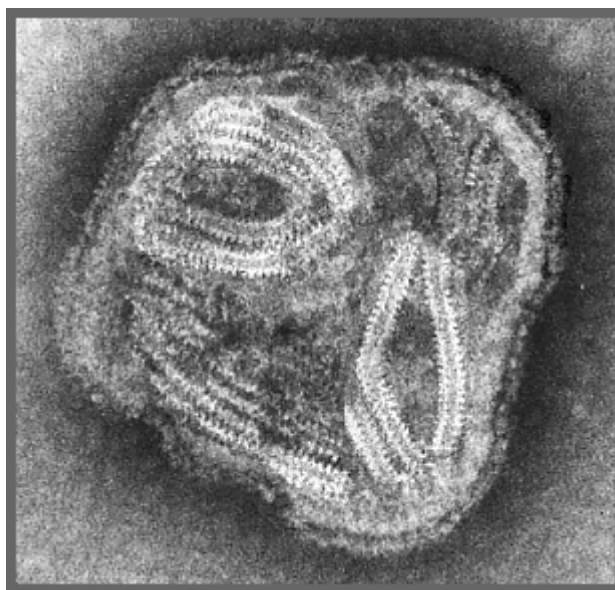
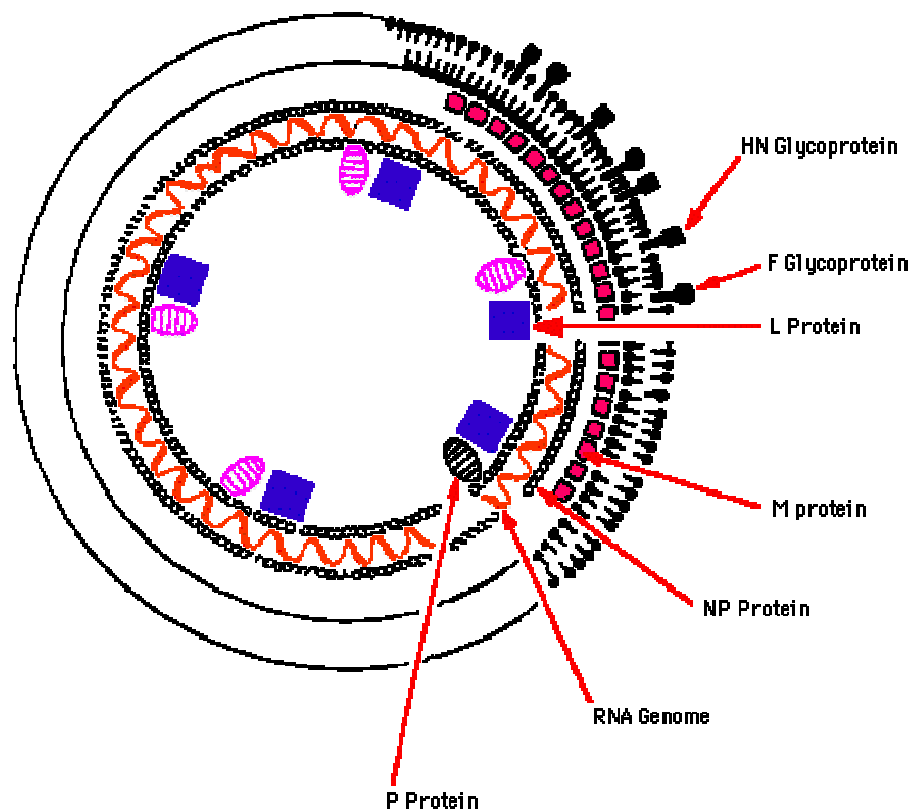


Figura 7-Struttura Paramyxovirus (Fonte:www.microbiologybytes.com)



È stata riscontrata una variabilità sierologica nell'ambito di vari ceppi di virus della pseudopeste, questi possono, a seconda della loro patogenicità, essere raggruppati nei seguenti patotipi: **velogeni**, **mesogeni** e **lentogeni**. I polli che si infettano con i ceppi velogeni contraggono una grave forma di malattia che spesso culmina con la morte qualunque sia il tropismo dei virus (viscerotropi, neurotropi). Gli embrioni, infettati con una dose minima letale di tali virus, vengono a morte entro 50 ore. I ceppi mesogeni sono responsabili di forme respiratorie e a volte nervose, con bassa mortalità. Essi provocano la morte dell'embrione tra le 50 e 60 ore dall'inoculazione di una dose minima letale, solamente se inoculati per via cerebrale. I ceppi lentogeni determinano una malattia breve e inapparente, qualunque sia la via di infezione, mentre gli embrioni muoiono dopo 100 ore da quando hanno ricevuto una dose minima letale.

Il virus pseudopestoso cresce bene su embrione di pollo e su colture primarie di origine aviare, particolarmente su fibroblasti di embrione di pollo, ove produce la formazione di placche. Queste sono aree circoscritte in cui il virus si moltiplica e

distrugge o altera le cellule in modo tale che la modificazione si apprezza ad occhio nudo. I ceppi velogeni e mesogeni sono citopatici e producono placche su fibroblasti di embrione di pollo entro 96 ore. Anche i ceppi lentogeni sono citopatici, ma producono placche entro 96 ore solo se al terreno è aggiunto magnesio e diethylaminoetil (DEAE) (Asdrubali *et al.* 1996).

Sperimentalmente il virus della Malattia di Newcastle può infettare e moltiplicarsi in numerose specie di animali, diverse dalle specie aviari, con la stessa facilità riscontrata nei volatili. Tuttavia il pollo, essendo il più importante ospite naturale della malattia e più facilmente disponibile, è perciò anche quello più frequentemente utilizzato come animale da laboratorio (Alexander, 1997).

Il virus della malattia di Newcastle resiste notevolmente nell'ambiente, trascurando la pulizia e le disinfezioni, i locali d'allevamento possono rimanere infetti anche per più di due mesi. Esso resiste diverse ore a valori di pH compresi tra 2 e 10, che risultano invece letali per la maggior parte dei virus (Asdrubali *et al.*, 1996).

La infettività dei Paramixovirus Aviari può essere distrutta da trattamenti fisici e chimici quali calore, luce, raggi ultravioletti, raggi X, processi di ossidazione, variazioni di pH e composti chimici. Nessun trattamento può garantire la distruzione di tutte le particelle virali ma può verificarsi la probabilità che rimanga infettante solo una scarsa quantità di virus (Alexander, 1997) (Asdrubali *et al.*, 1996).

- **Epizootologia.** Il virus della Malattia di Newcastle colpisce molte specie aviarie (oltre 250). La trasmissione dell'infezione avviene per via orizzontale diretta o indiretta: per via digerente, con alimenti ed acqua inquinati, o per via respiratoria. Frequente è inoltre anche la trasmissione per contatto diretto attraverso le mucose oculari e cloacali. Il virus non si trasmette per via verticale (una sola segnalazione?). I principali prodotti morbosi sono rappresentati da essudati, escreti e residui dei volatili infetti o morti. La diffusione della malattia è molto rapida sia sul territorio che all'interno di un allevamento (Asdrubali *et al.*, 1996) (Zanella, 2005). Le specie più resistenti sembrano gli uccelli acquatici, mentre i più sensibili sono gli uccelli gregari che formano gruppi temporanei o permanenti (Alexander., 1997). Il virus può essere patogeno anche per l'uomo, nel quale determina una congiuntivite accompagnata da interessamento dei linfonodi regionali (Asdrubali *et al.*, 1996).
- **Sintomi e lesioni.** Il periodo di incubazione della Malattia di Newcastle dopo una naturale infezione varia da 2 a 15 giorni (in media 5-6). La rapidità con cui

compaiono i sintomi varia in funzione di diversi fattori quali: ceppo di virus, specie, età, stato immunitario dell'ospite, infezioni concomitanti, condizioni ambientali, via di infezione e dose infettante (Alexander, 1997). I sintomi e le lesioni a carico dell'apparato digerente, respiratorio, nervoso possono essere più o meno gravi, con una mortalità variabile che può arrivare fino al 100% in animali non vaccinati. Si assiste anche ad un marcato o drammatico calo nell'ovodeposizione, naturale conseguenza della gravità della malattia e del grado di immunità pregressa. Un calo variabile (20-80%) della ovodeposizione può verificarsi senza elevata mortalità in galline con incompleta immunità od in caso di comparsa di nuovi ceppi molto virulenti del virus. Molte uova a guscio pigmentato si decolorano, fino a diventare bianche, per varie settimane. La regressione dell'ovaio, con follicoli flaccidi e degenerati, è la caratteristica più saliente. Si tratta però di un effetto indiretto, conseguente alle manifestazioni generali più o meno gravi, anche in relazione al grado di immunità da vaccino. Poco è stato riportato sulle lesioni istologiche: sia a livello dei follicoli che dell'utero, soprattutto nella zona di formazione del guscio, si ha infiltrazione di cellule infiammatorie con aggregati linfoidi (Zanella, 2005)

- **Diagnosi.** Oltre che sui sintomi e sulle lesioni, la diagnosi è basata sull'isolamento del virus su uova embrionate. Le due principali sedi di replicazione dell'NDV nei polli infettati sembrano essere gli organi del tratto respiratorio ed intestinale, così i campioni prelevati devono includere sempre sia le feci, il contenuto intestinale o i tamponi cloacali, a seconda delle circostanze. Per una caratterizzazione dei virus isolati in ceppi velogeni, mesogeni e lentogeni si può ricorrere all'inoculazione di embrioni di pollo, alla valutazione dell'indice di patogenicità intracerebrale in pulcini di 1 giorno e alla valutazione dell'indice di patogenicità intravenosa in polli di 6 settimane di età (Asdrubali et al., 1996). Nella fase di convalescenza la diagnosi sierologica può essere fatta con test HI ed ELISA (Zanella, 2005) (Alexander, 1997). La diagnosi differenziale si pone con le seguenti malattie: Influenza Aviaria, Colera Aviaria, Laringotracheite Infettiva, Bronchite Infettiva, Malattia di Marek, Encefalomielite Aviaria, Encefalomalacia, Singamosi (Asdrubali *et al.*, 1996).
- **Profilassi.** E' basata, oltre che sull'applicazione di strette misure di biosicurezza, soprattutto sulla profilassi vaccinale. Vengono utilizzati vaccini vivi nel broiler, mentre nelle ovaiole e nei tacchini all'applicazione di vaccini vivi fa seguito l'inoculazione di vaccino inattivato prima dell'entrata in deposizione. Nella prima

vaccinazione sono da preferire i cosiddetti ceppi vivi, naturalmente apatogeni, termoresistenti e non stressanti (genotipo I°). L'intensità della vaccinazione è legata anche alla diffusione dell'infezione in una determinata area o Paese (Zanella, 2005).

3.3. INFEZIONI DA ALTRI PARAMYXOVIRUS AVIARI

- **Paramyxovirus Aviari di Tipo 2.** I virus del gruppo PMV-2 sono stati associati con la forma respiratoria lieve o in apparente, che si osserva in polli e tacchini. Diversamente dall'NDV, le infezioni da PMV-2 sono state descritte come forme più gravi nel tacchino rispetto al pollo; a questo proposito è stata riscontrata, negli allevamenti di tacchini colpiti da infezioni da PMV-2, una grave forma respiratoria, con sinusiti, mortalità elevata e bassa produzione di uova; inoltre spesso tali infezioni sono risultate complicate dalla presenza di altri microrganismi. Anche in Israele infezioni da virus del gruppo PMV-2 sono state riscontrate diffusamente negli allevamenti di tacchini; queste erano caratterizzate da gravi forme respiratorie, complicate da infezioni di altro tipo. Da infezioni sperimentali, effettuate in tacchine ovaiole con virus del gruppo PMV-2, è stato evidenziato che tali virus determinano perdite nella produzione di uova ed una ridotta schiudibilità, tuttavia nei pulcini nati regolarmente la fertilità non risulta compromessa (Alexander, 1997).
- **Paramyxovirus Aviari di Tipo 3.** Le infezioni da virus del gruppo PMV-3 nei polli domestici sembrano essere limitate ai tacchini. I sintomi clinici sono di solito correlabili a problemi di produzione di uova, quantunque sia risultato che questi occasionalmente, siano preceduti da lievi forme respiratorie. La produzione di uova in genere si abbassava rapidamente, con presenza di un elevato numero di uova a guscio bianco sebbene la schiudibilità e la fertilità raramente sono compromesse (Alexander, 1997).
- **Paramyxovirus Aviari di Tipo 6.** I virus del gruppo PMV-6 sono stati spesso isolati anche da tacchini colpiti da lievi forme respiratorie e con problemi di produzione di uova. Inoltre virus di questo sierotipo sono stati isolati frequentemente da anatre domestiche in cui il virus sembrava essere apatogeno (Alexander, 1997).

3.4. INFLUENZA AVIARE

L'influenza (AI) è da qualche tempo considerata come una delle più diffuse e spesso devastanti malattie infettive, soprattutto del tacchino, pollo, faraona e quaglia; anatre e altri acquatici risultano per lo più portatori di virus, ma talvolta possono ammalarsi e morire, come nel caso del subtipo H5N1 isolato in estremo oriente già dal 1997 (Zanella, 2005). I virus dell'Influenza Aviare sono altamente specie-specifici, ma hanno, in rare occasioni, attraversato la barriera di specie per infettare gli esseri umani. La trasmissione è avvenuta stando a stretto contatto con gli uccelli infetti o con gli ambienti molto contaminati (OIE 2009).

Storia

- La Peste Aviare, Fowl Plague (FP), causata da ceppi di virus dell'Influenza (AIV), altamente patogeni, è stata descritta in Italia nel 1878 da Perroncito come una grave malattia dei polli, mentre la filtrabilità dell'agente causale è stata descritta da Centanni e Savunozzi nel 1901.
- Risale al 1955 la dimostrazione che il virus della Peste Aviare (FPV) era il virus influenzale attualmente considerato di tipo A. Virus isolati, risultati strettamente correlati allo stipite originale o agente della peste aviare "Fowl plague" e caratterizzati dagli antigeni di superficie H7N1 e H7N7, causavano una elevata mortalità tra polli, tacchini ed altre specie aviari.
- Episodi causati da questi particolari stipiti sono stati segnalati in numerose parti del mondo, compresi il Nord e Sud America, il Nord Africa, il Medio Oriente e l'Estremo Oriente, l'Europa, la Gran Bretagna e l'ex URSS.
- Virus fortemente patogeni appartenenti al sottotipo H5 sono stati isolati da polli in Scozia, pollo/Scot/59 (H5N1) e nelle comuni rondini, rondine/S.A./61 (H5N3); entrambe queste specie di volatili furono colpite da gravi episodi di malattia. Tali isolamenti indussero alla considerazione che tutti i virus H7 ed H5 fossero altamente patogeni, ma questo non risultò vero.
- Un esempio è dato dall'isolamento, effettuato nel 1971 da tacchini nell'Oregon, di un virus avirulento per il pollo con una emagglutinina H7.
- Da allora molti altri virus con le emagglutinine H7 ed H5 sono stati isolati da volatili domestici e selvatici, in molte parti del mondo, e molti di questi sono risultati avirulenti per alcune specie.

- Va ricordato, comunque, che stranamente i problemi più gravi sono stati causati dai virus dei sottotipi H5 ed H7 (Easterday et al., 1997).
- Dal 2003 al 2009 l'Influenza Aviaria H5N1 è stata segnalata nel pollame domestico di 50 Paesi: Afghanistan (22), Albania (3), Azerbaijan (2), Bangladesh (320), Benin (6), Burkina Faso (4), Cambogia (21), Cameroon (1), Cina (97), Costa d'Avorio (4), Repubblica Ceca (4), Danimarca (1), Djibouti (1), Egitto (1084), Francia (1), Germania (8), Ghana (6), Hong Kong (10), Ungheria (9), India (76), Indonesia (261), Iran (1), Iraq (3), Israele (10), Giappone (9), Giordania (1), Kazakistan (1), Corea, (59), Kuwait (20), Laos (18), Malesia (16), Myanmar (93), Nepal (2), Niger (2), Nigeria (65), Pakistan (51), Territori Autonomi Palestinesi (8), Polonia (10), Romania (163), Russia (149), Arabia Saudita (29), Serbia e Montenegro (1), Sudan (18), Svezia (1), Thailandia (1141), Togo (4), Turchia (219), Ucraina (42), Regno Unito (3), Vietnam (2539).
- Il focolaio di Influenza Aviaria di cui fu responsabile il ceppo H5N1, che scoppiò in Asia sudorientale nel 2003, è stato il più grave e il più diffuso a livello mondiale mai riportato prima. Dall'agosto del 2005, l'epizootia, che colpì sia i polli domestici che gli uccelli selvatici (soprattutto gli uccelli acquatici) si è diffusa dall'Asia alla Siberia, Europa, Medio Oriente e Africa. Il virus non si trasmette efficacemente agli umani, ma ha causato 150 decessi nel mondo; le persone infettate sono state in stretto contatto con gli uccelli infetti, soprattutto pollame da cortile, o con un membro della famiglia infettato dal virus. Il virus si è diffuso nell'Unione Europea nel febbraio del 2006 attraverso la migrazione di cigni infetti. Così nel luglio 2006 è stata confermata la presenza del virus in uccelli selvatici in 13 stati membri (in ordine cronologico Grecia, Italia, Slovenia, Ungheria, Austria, Germania, Francia, Slovacchia, Svezia, Polonia, Danimarca, Repubblica Ceca e Regno Unito) ed nel pollame domestico in 5 Stati Membri (nell'ordine cronologico Francia, Svezia, Germania, Danimarca ed Ungheria). Anche se c'è stato un costante declino nel numero dei casi da aprile, un certo numero di aziende di pollame sono state infettate in Ungheria non più tardi di giugno.
- 8 Paesi segnalano l'Influenza Aviaria H5N1 nel pollame domestico/fauna selvatica nel 2009: Bangladesh, Cina, Germania, Hong Kong, India, Laos, Nepal, Vietnam (OIE 2009).
- **Eziologia.** Il virus dell'Influenza Aviaria appartiene al genere *Influenzavirus A*, famiglia *Orthomyxoviridae*. Sono virus dotati di envelope, pleomorfi, di grandezza

compresa fra 80 e 120 nanometri. Contengono RNA monocatenario a polarità negativa con genoma segmentato costituito da 8 geni che codificano per 10 proteine. Tre sono rappresentate da proteine di superficie comprese nell'envelope virale e che, in vario grado, stimolano la principale risposta immunitaria neutralizzante dell'ospite: emoagglutinina (H), neuraminidasi (N) e la proteina di matrice 2 (M2). Le altre proteine, situate internamente, sono rappresentate da tre molecole ad attività polimerasica (PA, PB1 e PB2), una nucleoproteina (NP), una proteina di matrice 1 (M1) ed una proteina non strutturale (NS2). Un'altra proteina virale non strutturale (NS1), prodotta in grande quantità dalle cellule infette, non entra nella costituzione della particella virale matura. A loro volta i virus dell'Influenza Aviare possono essere suddivisi in 16 sottotipi sulla base dell'antigene emoagglutinante (H). Si conoscono inoltre 9 sottotipi di neuraminidasi (N) antigenicamente differenti. Tutte le possibili combinazioni di antigeni H e N possono essere isolate dagli uccelli a testimonianza della estrema variabilità genetica dell'agente responsabile di tale infezione. I virus responsabili dell'Influenza Aviare possono essere classificati sulla base della forma clinica di malattia che essi determinano nelle specie sensibili.

Figura 8-*Influenzavirus* (Fonte: www.esrf.eu)

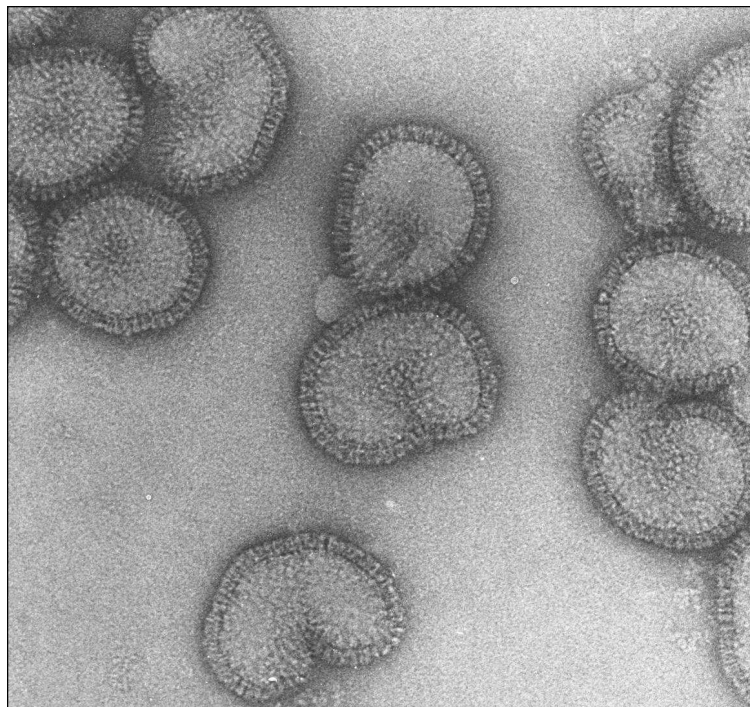
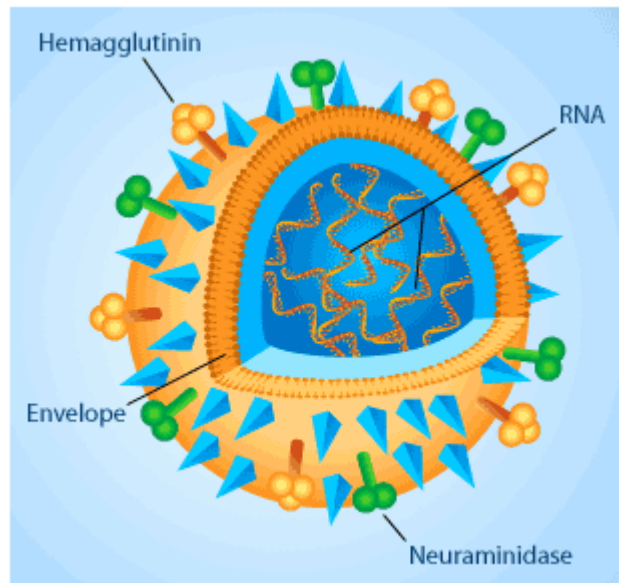


Figura 9-Struttura Influenzavirus (Fonte: www.abc.net.au)



Ceppi virali appartenenti a tutti i sottotipi di emoagglutinina conosciuti (H1-H15) possono determinare la cosiddetta Influenza Aviaria a bassa patogenicità (LPAI), che si manifesta con un quadro sintomatologico aspecifico, caratterizzato da sintomi respiratori ed enterici spesso associati, nei riproduttori e nelle ovaiole commerciali, ad anomalie riproduttive (calo o arresto della deposizione, alterazioni dell'uovo). I virus LPAI vengono anche indicati come virus dell'Influenza Aviaria a moderata patogenicità (MPAI, dall'inglese Mild Pathogenicity Avian Influenza). Per contro, solo ceppi virali appartenenti ai sottotipi H5 ed H7 possono causare l'Influenza Aviaria ad alta patogenicità (HPAI) che, a differenza della LPAI, è una malattia sistemica caratterizzata da replicazione virale negli organi vitali e che può provocare la morte del 100 % dei soggetti colpiti. La forma clinica ad alta patogenicità è causata solo da alcuni ceppi virali del sottotipo H5 e H7 che devono contenere molteplici aminoacidi basici a livello del sito di clivaggio della molecola della emoagglutinina. L'infettività dipende quindi in gran parte dai meccanismi biochimici legati alla scissione della molecola emoagglutinina da parte delle proteasi endocellulari dell'ospite. La sensibilità delle emoagglutinine a tale processo dipende essenzialmente dal numero e dal tipo di aminoacidi essenziali nel punto di scissione. I virus che non hanno numerosi aminoacidi basici nel sito di clivaggio sono generalmente costretti a moltiplicarsi in organi e tessuti in cui si trovano enzimi tripsino-simili come l'apparato respiratorio e digerente, per contro i virus

con numerosi aminoacidi basici possono essere attivati da varie proteasi con la possibilità di diffondersi e replicarsi in molti organi e tessuti con conseguente malattia generalizzata e morte dell'ospite. L'infettività è inoltre influenzata da una serie di ulteriori fattori quali la presenza di catene di carboidrati in prossimità del sito di clivaggio, dalle caratteristiche dagli aminoacidi a monte e a valle di questo punto, dalla composizione aminoacidica di alcune proteine interne (PB2), dalle caratteristiche delle nucleoproteine virali e della neuroaminidasi. Le moderne tecniche di biologia molecolare hanno dimostrato che in alcuni casi i virus altamente patogeni originano da progenitori a bassa patogenicità del sottotipo H5 e H7 (IZSVE, 2009). Essendo dotati di envelope, i virus influenzali di tipo A sono relativamente sensibili all'inattivazione con i solventi dei lipidi come i detergenti. Anche la infettività è facilmente distrutta dalla formalina, dal β -propiolattone, dagli agenti ossidanti, dagli acidi diluiti, dall'etere, dal sodio-desossicolato, dall'idrossilamina, dal sodio dodecilsolfato e dagli ioni ammonio. I virus della Influenza Aviaria non risultano essere dotati di una insolita stabilità così che la loro inattivazione si ottiene facilmente dal calore, da valori estremi di pH, da condizioni non isotoniche e in mezzi secchi (Easterday et al., 1997). Tutti gli stadi dei virus dell'Influenza Aviaria replicano facilmente su uova embrionate di pollo di 9-11 giorni di età; questo rende il test uno dei più usati a livello universale. I virus influenzali dei volatili crescono in un numero limitato di colture di cellule; CEF (Chick Embryo Fibroblast) sono quelle più comunemente usate come colture primarie mentre la MDCK (Madin-Darby canine kidney) è la linea continua più utilizzata. Pochi virus influenzali replicano e producono placche in colture cellulari senza l'aggiunta di tripsina nello strato di agar, per separare la H per la produzione di virus infettante. L'uso della tripsina nel terreno di coltura consente il saggio delle placche per molti ceppi di virus sia in CEF che in MDCK. Polli, tacchini e anatre sono stati generalmente utilizzati per studi di laboratorio, perché sono le specie che più comunemente contraggono l'infezione in condizioni naturali. A causa della considerevole variazione fra le specie, per ricerche di laboratorio è consigliabile usare ospiti aviari, preferibilmente della stessa specie e della stessa età. I virus aviari replicano, quando inoculati sperimentalmente, anche in alcune specie di animali come furetti, gatti, criceti, topi, scimmie, visoni e suini (Easterday *et al.*, 1997).

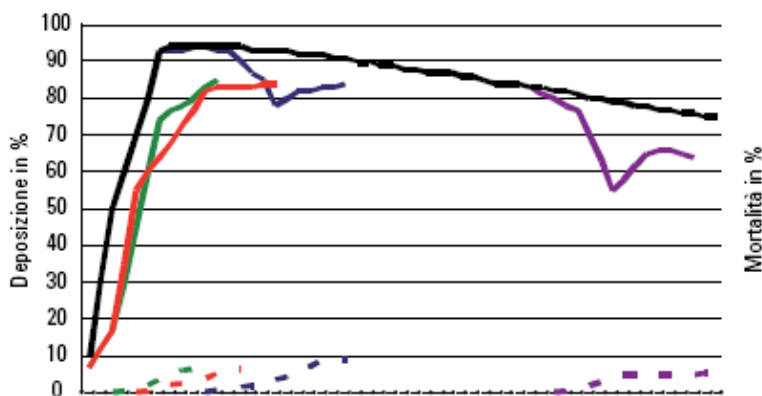
- **Epizootologia.** L'Influenza Aviaria è diffusa in tutto il mondo, le più gravi epizootie si sono verificate particolarmente in aree ad alta concentrazione avicola. Tali epizootie si sono verificate, nelle due ultime decadi, in Pennsylvania (H5N2), Messico (H5N2), Pakistan (H7N3), Italia (H7N1 e H7N3), Olanda (H7N7) e più recentemente nell'Est asiatico (H5N1), causando la morte o soppressione di oltre 200 milioni di capi. I subtipi H5 e H7 hanno spesso mutato da LPAI a HPAI, provocando la morte fino al 100% degli animali in breve tempo; ciò è dovuto all'instabilità del sito di clivaggio della H, con conseguenti mutazioni genetiche. Gli altri subtipi hanno finora mantenuto le caratteristiche di LPAI, provocando mortalità lieve o variabile, tuttavia con calo di deposizione (Zanella, 2005). Numerose specie aviarie, domestiche e selvatiche, possono essere infettate con i virus influenzali capaci o no di causare la malattia. Molti sono i virus influenzali isolati dalle anatre rispetto alle altre specie aviarie come la faraona, l'oca domestica, la quaglia; il fagiano, la pernice, lo storno, i passeracei, gli psittacidi, il pioviero e gli uccelli marini. I tacchini sono la specie domestica più frequentemente colpita da episodi influenzali, mentre il pollo è risultato meno frequentemente interessato (Easterday et al., 1997). I volatili infetti eliminano il virus attraverso l'apparato respiratorio, la congiuntiva e le feci; le modalità di trasmissione comprendono sia il contatto diretto, tra uccelli infetti e quelli sensibili, sia il contatto indiretto, compreso quello per via aerosol (goccioline) o l'esposizione a materiali contaminati da virus. Dato che i soggetti infetti possono eliminare forti quantità di virus con le feci, la diffusione è ottenuta facilmente per mezzo di qualsiasi cosa contaminata da materiale fecale, ad es. uccelli e mammiferi, cibo, acqua, equipaggiamenti, fornitori, gabbie, indumenti, mezzi di trasporto, insetti, ecc. In conseguenza di ciò i virus sono facilmente trasportati in altre zone dal personale e dalle attrezzature distribuite nei punti di assistenza e di mercato. Alexander (1982) ha così classificato le fonti primarie di infezione per i polli: 1) altre specie di volatili domestici; 2) uccelli esotici in cattività; 3) uccelli selvatici; 4) altri animali. La prima categoria rappresenta esempi di diffusione da una specie domestica ad un'altra della stessa azienda o di un'azienda adiacente (anatre a polli, tacchini a polli, faraone e fagiani). E' verosimile che la maggior parte di tali esempi sia dovuta alla trasmissione meccanica, descritta sopra. Nella categoria 2, mentre la potenzialità per questa diffusione sembra essere reale, non sono noti esempi di introduzioni in allevamenti di polli da parte di uccelli da gabbia esotici infetti, come

è stato osservato per la Pseudopeste. Nella categoria 3 sono considerate le fonti più comuni di infezione per i polli, da ricondurre agli uccelli liberi, particolarmente quelli migratori acquatici. Non esiste prova decisiva per incriminare gli uccelli liberi nell'introduzione dell'influenza negli allevamenti avicoli. Tuttavia i tacchini e i migratori acquatici sono sovente, dal punto di vista dello spazio, in comunicazione. Da studi compiuti nel Minnesota è emerso che i virus influenzali si ripresentano nei tacchini in concomitanza dell'arrivo degli uccelli migratori. Data la elevata frequenza e la relativa facilità con cui i virus dell'Influenza si rinvenivano nelle feci di anatra, tali fonti dovrebbero rimanere sospette. Inoltre le feci introdotte nei distributori di acqua potrebbero rappresentare una sorgente di infezione per altri volatili attraverso la trasmissione oro-fecale. Nel corso di una epizootia verificatasi in Pennsylvania, studi effettuati per il controllo della malattia hanno dimostrato che molti virus, compresi quelli non patogeni, H5N2, erano presenti nei volatili selvatici di quella zona. Comunque non è stata ancora dimostrata la diffusione di stipiti virali ad elevata patogenicità da parte degli uccelli selvatici. Inoltre studi sperimentali hanno dimostrato che le anatre ed i gabbiani erano ospiti di scarsa importanza per il virus. La possibilità che gli uccelli selvatici fossero coinvolti nella sua iniziale introduzione non può, comunque, essere esclusa. Nel corso di episodi riscontrati nei tacchini in Irlanda e dovuti ad uno stipite virale ad elevata patogenicità, tacchino/Irlanda/1378/83 (H5N8), un virus dello stesso sottotipo fu isolato da anatre domestiche, in un vicino allevamento. Studi genetici hanno indicato che questi virus erano strettamente correlati e replicavano in anatre e polli, ma inducevano la malattia solo nei polli. Controlli di sorveglianza suggerirono che il primo episodio riscontrato nelle anatre domestiche poteva essersi verificato a causa del contatto con gli uccelli selvatici. Sebbene molte delle prove che implicano il ruolo degli uccelli selvatici come fonti di diffusione sono circostanziate, è sufficiente considerare tali volatili come pericolo reale. Gli uccelli selvatici sono anche stati considerati importanti per i problemi dovuti all'influenza nelle foche poiché gli uccelli e le foche frequentemente condividono gli habitat. Nella quarta categoria viene dimostrata la prova che i tacchini possono infettarsi con i virus dei suini; tuttavia la frequenza con cui ciò si verifica è difficile da valutare. I virus di origine suina sono stati isolati dai tacchini in seguito ad una presumibile infezione contratta dai suini stessi, sia meccanicamente sia tramite personale infetto dal virus. Esistono prove che dimostrano la trasmissione

orizzontale dei virus influenzali, mentre mancano quelle che dimostrano la sua trasmissione verticale. Deve essere osservato, comunque, che il virus può essere presente sulla superficie del guscio delle uova quando la gallina è infetta e questo è stato dimostrato dall'isolamento dell'H5N2 da uova di pollo nel corso di un episodio verificatosi in Pennsylvania. In seguito ad infezione sperimentale di galline con lo stipite H5N2, isolato in Pennsylvania, quasi tutte le uova deposte nei 3-4 giorni successivi all'infezione contenevano il virus. Le vie di somministrazione di alcuni virus che hanno prodotto sperimentalmente l'infezione sono: aerosol, intranasale, intrasinusale, intratracheale, orale, intravenosa, cloacale ed intacraniale (Easterday *et al.*, 1997).

- **Sintomi e lesioni.** I periodi di incubazione per le diverse malattie causate da questi virus possono variare da poche ore a tre giorni per i soggetti singoli e fino a 14 giorni per un allevamento e dipendono dalla dose del virus, dalla via di esposizione, dalla specie sottoposta ad infezione e dalla capacità a riconoscere i sintomi clinici (Easterday *et al.*, 1997). Questi come abbiamo già detto sono molto vari e dipendono da numerosi fattori, primo fra tutti la patogenicità del virus (Asdrubali *et al.*, 1996). Nelle forme a decorso molto acuto gli animali presentano brevi e generici sintomi di malattia; la morte è spesso fulminea. Nelle forme a decorso sub-acuto da LPAIV, oltre ai sintomi respiratori ed enterici, con variabile mortalità da 1-10% (o più, per complicanze batteriche, soprattutto in animali giovani), si osserva un calo di ovodeposizione del 5-50% per circa 5-7 settimane; le uova presentano guscio alterato. Le lesioni dell'apparato genitale sono molto simili a quelle osservate nella malattia di Newcastle; il danno è pertanto più indiretto. Nel Grafico 2 viene riportato l'andamento della deposizione in un recente focolaio di LPAI da subtipo H7N1 in un allevamento con 4 gruppi di ovaiole (Zanella, 2005).

Grafico 2-Ovodeposizione (-) e mortalità (----) in quattro gruppi di ovaiole infettatesi con LPAI subripo H7N1 (Fonte: Zootecnica International, 2005)



I tassi di morbilità e mortalità sono variabili, come del resto sono i sintomi, che dipendono dalla specie del virus, ed anche da altri fattori, quali età, ambiente e infezioni concomitanti. Il dato più frequentemente riscontrato è rappresentato dalla elevata morbilità e bassa mortalità. Generalmente i tassi di morbilità sono scarsamente definiti, soprattutto a causa delle grosse dimensioni degli allevamenti coinvolti (migliaia di soggetti) e dei sintomi non ben chiariti di malattia di molti episodi. Nel caso di virus altamente patogeni la morbilità e la mortalità possono raggiungere il 100% (Easterday *et al.*, 1997).

- **Diagnosi.** Anche se i dati anamnestici, clinici e anatomopatologici possono indirizzare verso un sospetto di Influenza, la diagnosi deve essere confermata dall'isolamento del virus su uova embrionate e dalla sua identificazione ricorrendo a varie prove di laboratorio (emoagglutinazione, agar gel precipitazione, test di inibizione della neuraminidasi, ecc.). I tessuti, le secrezioni o le escrezioni del tratto respiratorio e/o intestinale, in particolar modo la trachea e la cloaca, sono i più adatti per l'isolamento del virus. È possibile avvalersi anche di test per la diagnosi sierologica quali: Agar Gel Precipitazione (AGP), HI, ELISA (Asdrubali *et al.*, 1996) (Easterday *et al.*, 1997) (Zanella, 2005). La diagnosi differenziale si pone soprattutto nei confronti della Pseudopeste, delle Micoplasmosi, della Clamidiosi e del Colera Aviare (Asdrubali *et al.*, 1996).
- **Profilassi.** I metodi di controllo della malattia sono molto controversi, ma pressanti. L'abbattimento è sempre stato eseguito nei casi di HPAIV, ma a volte, particolarmente nel Nord America, anche in casi di LPAIV da subtipo H5 e H7. La vaccinazione, con vaccini inattivati, è stata finora applicata solo in alcune circostanze, più intensamente in Messico ed in Pakistan nel pollo; in altri paesi, come Italia e USA, sono stati vaccinati soprattutto i tacchini, che risultano molto sensibili, ma anche le ovaiole, con buoni risultati. Secondo Zanella, la vaccinazione andrebbe eseguita anche, e forse a maggior ragione, in caso di LPAI virus da subtipo H5 e H7, i soli che finora si sono convertiti in HPAI (Zanella, 2005).

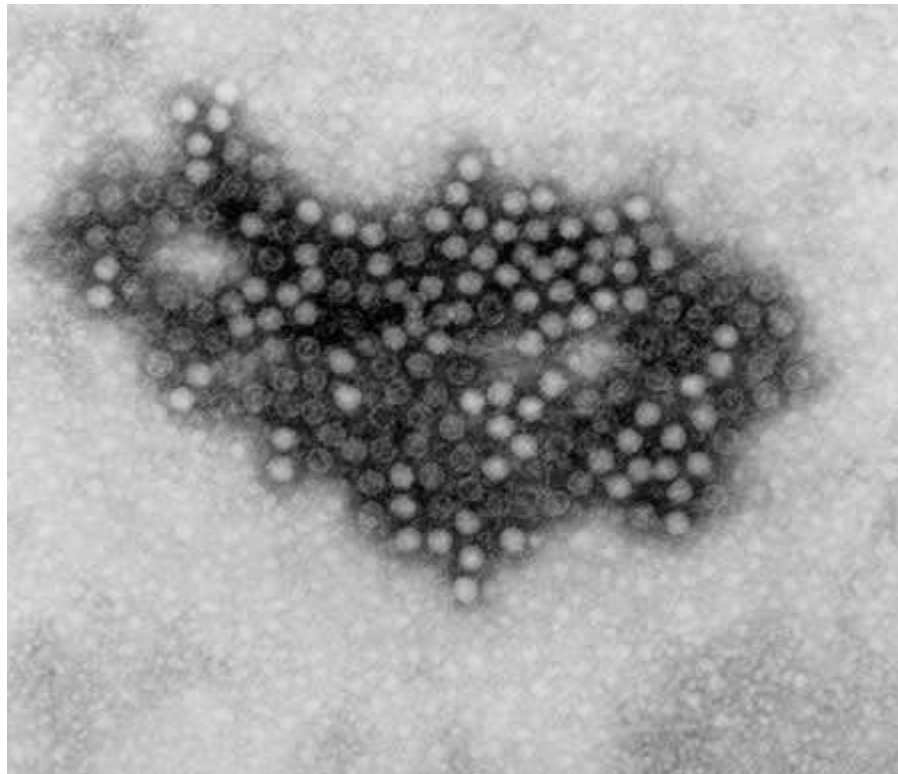
3.5. ENCEFALOMIELITE AVIARE

L'encefalomielite aviare (AE) è una malattia infettiva di natura virale che colpisce principalmente i pulcini, fagiani, quaglie e tacchini e come dimostrato recentemente anche il piccione. E' caratterizzata da atassia e tremore, specialmente a carico della testa e del collo; per questo è chiamata spesso "tremore epidemico". Nessuna importanza per la salute pubblica è stata attribuita a questa malattia. L'Encefalomielite Aviare ha avuto una grande importanza economica per l'industria avicola nei primi anni '60 quando non era ancora diffuso l'uso dei vaccini (Toplu *et al.*, 2004) (Calnek *et al.*, 1997).

Storia.

- Jones ha osservato per primo la AE, nel 1930, in pulcini Rhode Island Red di 2 settimane d'età colpiti da tremore.
- Nel 1931 sono stati osservati altri due episodi in pulcini di 1 e di 4 settimane d'età, allevati in differenti aziende, ma provenienti dallo stesso allevamento di riproduttori; questi soggetti presentavano sia tremori che atassia.
- Durante i successivi 2 anni (1932-33) è stato osservato un crescente numero di episodi in Connecticut, Maine, Massachusetts e New Hampshire che hanno portato AE ad essere qualificata come "malattia della Nuova Inghilterra".
- Nel 1934, Jones ha riprodotto la malattia in pulcini suscettibili mediante inoculazione endocerebrale (IC) di filtrati di materiale cerebrale prelevato da soggetti ammalati spontaneamente. Comunque è stato solo dopo il 1950 che Schaaf ha riportato il primo successo nel controllo della malattia con la vaccinazione.
- La epizootologia di AE è stata chiarita da Calnek e coll. nel 1960. A questo è seguita subito dopo la preparazione di un vaccino orale che ha posto le basi del controllo moderno dell'infezione negli allevamenti commerciali (Calnek *et al.*, 1997).
- Ad oggi AE è diffusa in tutto il mondo.
- **Eziologia.** Il virus dell'Encefalomielite Aviare (AEV) appartiene alla famiglia *Picornaviridae*, la classificazione all'interno della famiglia è ad oggi ancora in fase di studio; precedentemente questo virus apparteneva al genere *Enterovirus*, ma da studi recenti è stata messa in evidenza la somiglianza con virus dell'Epatite A, per cui attualmente AEV si trova nel genere *Hepatovirus*. Questo virus presenta genoma RNA, senza envelope, diametro 20-25 nm (Marvil *et al.*, 1999) (ICTV, 2009) (Zanella, 2005).

Figura 10-*Picornaviridae* (Fonte: www.musee-afrappier.qc.ca)



Il virus è resistente all'etere, al cloroformio, a pH acido (pH3), mentre è sensibile ai più comuni disinfettanti; viene inattivato dal calore a 56° in 6 ore (Asdrubali *et al*, 1996). Nessuna differenza antigenica sostanziale è stata apparentemente rilevata nei vari isolati, ma solo due differenti patotipi (neuro- ed enterotropo) (Zanella, 2005). Uno di questi, rappresentato dai ceppi di campo, è **enterotropo**. Tali ceppi infettano rapidamente il pollo per via orale e si diffondono con le feci; inoltre sono relativamente non patogeni tranne che per i polli sensibili infettati per via verticale o mediante una precoce trasmissione orizzontale, in cui provocano sintomi nervosi. La forma nervosa della malattia può verificarsi nel caso di una infezione sperimentale provocata con inoculazione intracerebrale di polli sensibili. I ceppi adattati agli embrioni costituiscono l'altro patotipo: quello **neurotropo**. Questi virus sono altamente neurotropi e provocano gravi sintomi nervosi in seguito ad inoculazione intracerebrale (incidenza invariabile) o per le vie parenterali come la sottocutanea o la intramuscolare (incidenza variabile). Tali ceppi inoltre non provocano infezione quando sono somministrati per via orale eccetto per le dosi molto alte e non si diffondono per via orizzontale. L'adattamento può essere fatto dopo passaggi multipli in embrioni di pollo privi di anticorpi, probabilmente come

conseguenza di una selezione dei mutanti di laboratorio. Il ceppo adattato più comunemente usato è il ceppo VR, passato ripetutamente nel pollo per inoculazione intracerebrale. Il ceppo VR presenta già il fenotipo dei ceppi adattati quando viene prima inoculato in embrioni dopo 150 passaggi nel pollo.

Entrambi i patotipi possono replicare in embrioni derivati da un allevamento sensibile, ma ceppi naturali non causano segni evidenti o lesioni anatomo-patologiche. Del resto i ceppi adattati sono patogeni per gli embrioni, poiché causano distrofia muscolare ed immobilizzazione dei muscoli dello scheletro. Il virus è stato riscontrato nel cervello di embrioni infettati, 3-4 giorni dopo la inoculazione (PI) ed il picco del titolo fu osservato 6-9 giorni PI. Le lesioni istopatologiche negli embrioni infetti con il ceppo virale adattato all'uovo, erano contraddistinte da encefalomalacia e distrofia muscolare e risultavano uniformi nelle caratteristiche, ma variabili nella intensità ed ubicazione. Le alterazioni muscolari erano rappresentate principalmente da rigonfiamento eosinofilo e necrosi, da frammentazione e perdita della striatura delle fibre interessate, con rara proliferazione del sarcolemma e infiltrazione di eterofili. Le alterazioni neurali erano caratterizzate da grave edema locale, gliosi, proliferazione vascolare e picnosi (Calnek *et al.*, 1997).

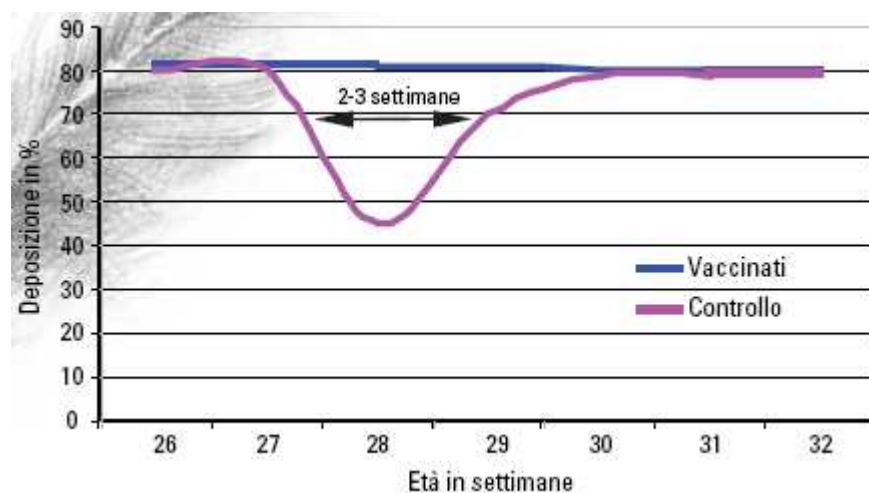
Il virus può essere propagato nel pulcino, nelle uova embrionate di pollo provenienti da allevamenti suscettibili e in differenti colture cellulari. I polli e gli embrioni devono provenire da allevamenti sensibili tranne nel caso in cui è prevista la inoculazione intracerebrale. Numerose vie di somministrazione sono state utilizzate, tuttavia quella considerata la via di elezione è la somministrazione nel sacco del tuorlo. Le lesioni anatomo-patologiche si osservano solo nel caso dei ceppi adattati. Tannok e Shafren hanno riconsiderato numerosi lavori riguardanti la propagazione di AEV su colture cellulari, cominciando con la prima replicazione del ceppo VR di AEV nelle colture di cervello aviare, effettuate nel 1967 da Mancini e Yates. Successivamente i fibroblasti, le cellule renali e le cellule neurogliali da embrioni di pollo e cellule pancreatiche da giovani polli, sono stati utilizzati come substrati per coltivare sia virus adattati che virus di campo. I titoli, particolarmente con i ceppi naturali, erano risultati generalmente bassi e l'effetto citopatico non era stato descritto (Calnek *et al.*, 1997).

- **Epizootologia.** L'Encefalomielite Aviaria è essenzialmente un'infezione enterica. Il virus viene assunto per ingestione ed eliminato con le feci per almeno 1-2 settimane.

Tuttavia, la trasmissione verticale gioca un ruolo molto importante nella diffusione dell'infezione e nel provocare i maggiori danni (Zanella, 2005).

- **Sintomi e lesioni.** Il periodo di incubazione nei pulcini schiusi da uova infette è di 1-7 giorni, mentre nei pulcini infettati per contatto o per somministrazione orale di AEV il periodo minimo di incubazione è di 11 giorni (Calnek *et al.*, 1997). Nei giovani pulcini infettati oralmente con AEV di campo, l'infezione primaria del tratto digerente, specialmente nel duodeno, è seguita rapidamente dalla viremia e dalla successiva infezione del pancreas e degli altri organi (fegato, cuore, rene e milza), nonché del sistema nervoso centrale (SNC) e dei muscoli dello scheletro (Calnek *et al.*, 1997). Il virus dell'Encefalomyelite Aviaria è relativamente non patogeno, eccetto che nei pulcini infettatisi verticalmente, allo stato embrionale, o nei primi 10 giorni di vita; molti embrioni non si sviluppano normalmente e non schiudono; se schiudono, i pulcini presentano sintomi nervosi quali atassia, rapido tremore della testa e paralisi flaccida. Quando un gruppo di femmine, riproduttrici od ovaiole, sensibili sono esposte all'infezione dopo l'entrata in deposizione, esse presentano un rapido e temporaneo calo dell'ovodeposizione. (5-40%), senza manifestare alcun sintomo, in mancanza di alterazioni del guscio, forse con lieve diarrea. L'andamento dell'ovodeposizione in animali vaccinati e di controllo, sperimentalmente infettati con AEV virulento, viene riportato nel Grafico 3 (Zanella, 2005).

Grafico 3-Andamento dell'ovodeposizione in ovaiole vaccinate e di controllo, infettate a 26 settimane con AEV virulento (Fonte: Zootecnica International, 2005)



Una proporzione variabile di uova deposte in un arco di tempo di 15-20 giorni risulta essere infetta; tali uova schiudono al 50-70%. La trasmissione dell'infezione può avvenire anche nell'incubatrice. La mortalità della progenie può variare dal 25 al 50%, per alcune schiuse successive. Le lesioni macroscopiche in embrioni o in pulcini fino a 10 giorni di vita sono: atrofia muscolare e scarsa mobilità. Le lesioni istologiche sono presenti nel SNC (encefalite non purulenta, con infiltrati linfocitari perivascolari). Nessuna lesione è stata finora riportata a livello di ovidotto (Zanella, 2005). La morbilità nel caso della malattia naturale è stata osservata solo nei soggetti giovani. Normalmente colpisce il 40-60% dei pulcini se tutti provengono da allevamenti infetti. Il tasso di mortalità è in media del 25% e può oltrepassare il 50%. Queste percentuali risultano considerevolmente più basse se molti dei pulcini che fanno parte del gruppo in allevamento provengono da riproduttori immuni (Calnek *et al.*, 1997).

- **Diagnosi e diagnosi differenziale.** È basata sulla comparsa di paralisi flaccida e presenza di lesioni istologiche nei pulcini e sul rilievo di particelle virali con test VN e/o ELISA, se il gruppo risultava negativo in test precedenti (Zanella, 2005). Il cervello è la migliore fonte di virus per l'isolamento, benché altri tessuti e organi provochino malattia quando vengono utilizzati per infettare i pulcini. Anche il pancreas e il duodeno sono ottime fonti di virus, facilmente disponibili (Calnek *et al.*, 1997). Negli allevamenti di ovaiole da riproduzione, per valutarne il grado di immunità si può ricorrere al cosiddetto *test dell'uovo* che consiste nell'inoculare un ceppo di virus patogeno per l'embrione al sesto giorno d'incubazione. Le uova dotate di anticorpi specifici (provenienti da galline immuni) si sviluppano normalmente, mentre dalle altre (provenienti da galline non immuni) originano embrioni che presentano immobilità, torsione delle dita, distrofia muscolare e nanismo (Asdrubali *et al.*, 1996). La diagnosi differenziale si pone nei confronti di tutte le malattie infettive e non infettive che possono avere sintomatologia nervosa; tra queste sono da ricordare le carenze del gruppo B (B₁-B₂), le carenze di vitamina E (encefalomalacia), le intossicazioni, la Pseudopeste e, negli adulti, la Bronchite Infettiva e la EDS 76 (Asdrubali *et al.*, 1996).
- **Profilassi.** Si ottiene con la vaccinazione dei riproduttori e, se necessario, anche delle ovaiole, con un vaccino vivo, poco attenuato, somministrato una sola volta a 10-15 settimane d'età, non oltre. Il ceppo di virus vaccinale deve mantenere l'enterotropismo (Zanella, 2005).

3.6. SINDROME DA CALO DELLA DEPOSIZIONE

La Sindrome da Calo della Deposizione (*Egg Drop Syndrome: EDS 76*) è caratterizzata da repentino calo dell'ovodeposizione, con produzione di molte uova a guscio sottile o senza guscio. La malattia, comparsa nel 1976 in Olanda, si è diffusa in tutto il mondo tranne che in Nord America, nonostante la presenza nelle anatre di tale continente di un virus antigenicamente identico o simile (Zanella, 2005).

- **Storia.** Una sindrome delle ovaiole in produzione è stata descritta da Ricercatori Olandesi nel 1976, da cui è stato isolato un *Adenovirus* emagglutinante. Da studi sierologici con uno di questi ceppi e dai dati anamnestici relativi all'allevamento, è stato possibile stabilire la evoluzione della malattia. E' stato riscontrato infatti che il virus veniva trasmesso per via verticale e che la trasmissione orizzontale tra gli allevamenti non era una caratteristica; il virus sovente rimane latente finché i soggetti non raggiungono il picco di deposizione. L'assenza di anticorpi nei confronti del virus in soggetti anteriormente al 1974 e la incapacità del virus a crescere in cellule di mammiferi, così come la sua scarsa crescita in colture di cellule di tacchino e la crescita ottimale in cellule di anatra, suggeriscono che probabilmente si tratta di una *Adenovirus* dell'anatra. Questa ipotesi è stata rapidamente confermata dall'isolamento del virus EDS 76 da anatre normali e dalla dimostrazione degli anticorpi in molti allevamenti di anatre (MacFerran, 1997).
- **Eziologia.** La EDS 76 è causata da un virus appartenente alla famiglia *Adenoviridae*, genere *Atadenovirus*, con genoma DNA, diametro 75-80 nm, senza envelope, emoagglutinante (Zanella, 2005).

Figura 11-Adenovirus (Fonte: first6weeks.blogspot.com)

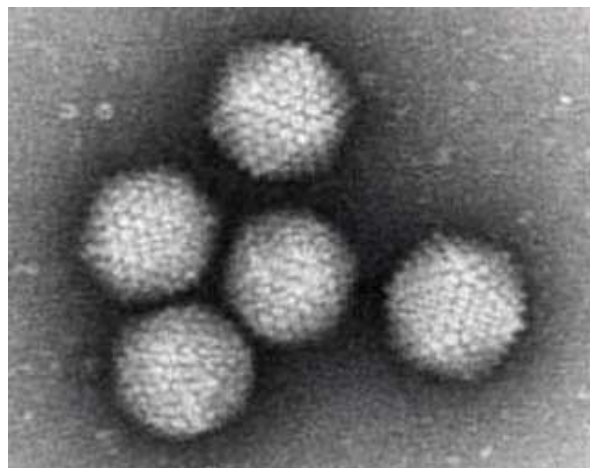
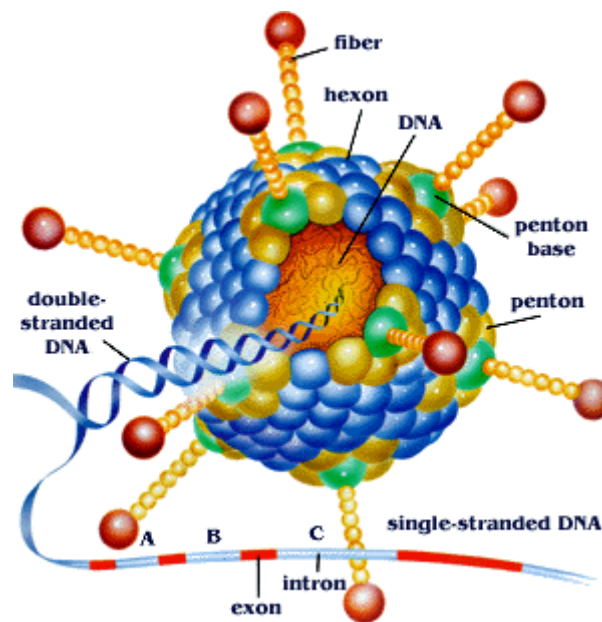


Figura 12-Struttura Adenovirus (Fonte:www.blisstree.com)



Il virus dell'EDS 76 è stabile al trattamento con cloroformio ed a variazioni di pH tra 3 e 10. E' inattivato con il riscaldamento per 30 minuti a 60°C; sopravvive al trattamento per 3 ore a 56°C ed è stabile in presenza di cationi monovalenti, ma non di quelli bivalenti. L'infettività non è stata dimostrata dopo il trattamento con formaldeide allo 0,5% o con glutaraldeide allo 0,5%. Il virus dell'EDS 76 replica ad alti titoli in cellule di rene di anatre, di fegato, di embrione di anatra e in colture di fibroblasti di anatra. Cresce bene anche nelle cellule di fegato di embrione di pollo, meno bene nelle cellule di rene di pollo e piuttosto scarsamente nelle colture di fibroblasti di embrioni di pollo. La sua replicazione è scarsa nelle cellule di tacchino e nulla nei diversi tipi di colture di cellule di mammiferi. Il virus replica a titoli elevati in colture di cellule di oche (MacFerran, 1997). Il virus può essere isolato dall'intestino e dall'ovidotto per oltre 10 giorni dall'infezione (Zanella, 2005).

- **Epizootologia.** La sindrome è stata riscontrata solo in galline, ma è probabile che l'ospite naturale del virus sia l'anatra e l'oca, dove sono stati ampiamente dimostrati i relativi anticorpi in tutti i continenti. Le ipotesi di adattamento al pollo sono la lunga coabitazione di polli con anatidi in Olanda ed il fatto che il vaccino MD (HVT) possa essere stato preparato su tessuto di colture di embrione di anatra contaminate. A tutt'oggi è possibile riconoscere 3 forme di EDS 76. Nella forma inizialmente osservata, quella classica, dove la infezione originava dai riproduttori

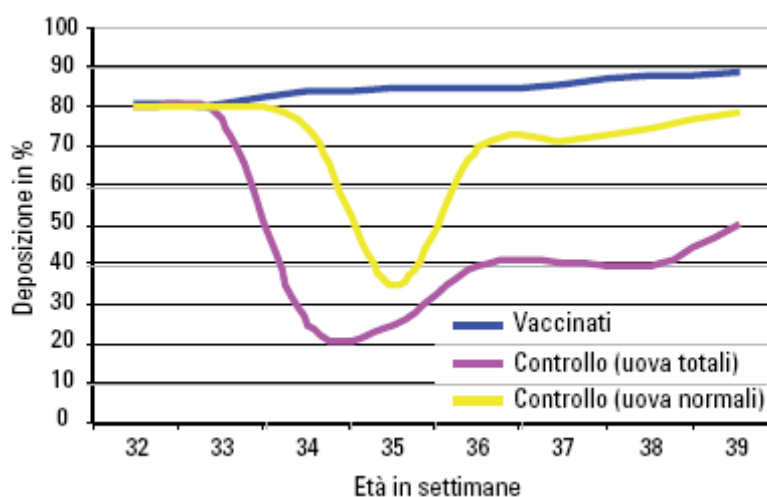
il principale sistema di diffusione era la via verticale, attraverso le uova embrionate. Nonostante il numero di embrioni infetti sia probabilmente basso con questo tipo, la sua diffusione è molto attiva. In molti casi i pulcini infettati in ovo non eliminano il virus né presentano anticorpi HI fino al momento in cui la produttività supera il 50%. A questo stadio della produzione il virus è evidente e viene eliminato, determinando una rapida diffusione. Probabilmente l'aumento della forma classica ha favorito la stabilizzazione del virus negli allevamenti di ovaiole per uova da consumo in alcune Regioni. In India è stato riscontrato infetto il 32,6% degli allevamenti di polli. Questa forma endemica è spesso associata con la presenza di un centro per il confezionamento delle uova. Entrambi i tipi di uova, normali e anomale, deposte durante il periodo in cui il virus replica nel tratto della tasca della ghiandola del guscio, contengono il virus sia internamente che esternamente. La conseguenza è di una contaminazione. Anche le feci contengono il virus, ma la sua escrezione è intermittente e spesso è a basso titolo; nei soggetti adulti la contaminazione delle feci può verificarsi con l'essudato dell'ovidutto. Oltre alla trasmissione diretta fra i soggetti, il virus può essere diffuso anche durante il trasporto in carri non adeguatamente puliti e disinfettati o quando il mangime non consumato viene trasferito da un locale ad un altro. Il virus si trasmette inoltre quando i soggetti, nella fase viremica, vengono sottoposti a prelievo di sangue o a vaccinazioni se aghi e attrezzature non sono propriamente sterilizzati. La diffusione orizzontale, apparentemente bassa e intermittente, richiede fino ad 11 settimane per diffondersi in un capannone dove l'allevamento è in gabbia; è stato riscontrato che la diffusione da un reparto a quello adiacente può essere prevenuta anche da una semplice divisione con la rete metallica. La diffusione fra soggetti allevati su lettiera è normalmente più veloce. Un terzo tipo di trasmissione è caratterizzato dalla diffusione del virus sia dalle anatre domestiche che selvatiche o anche da altri uccelli selvatici alle galline attraverso l'acqua da bere, contaminata dalle feci. Questo tipo di trasmissione è molto importante in alcune aree. Si tratta generalmente di casi sporadici ma è sempre possibile che diano origine a situazioni endemiche (MacFerran, 1997).

- **Sintomi e lesioni.** L'infezione sperimentale di galline ovaiole per via orale è seguita da una limitata replicazione virale sulla mucosa nasale e da viremia. A 3-4 giorni dall'infezione il virus replica nel tessuto di tutti gli organi linfoidi soprattutto nella milza e nel timo. Anche l'infundibulum è interessato in maniera consistente.

A 7-20 giorni dall'infezione si osserva una massiccia replicazione nella ghiandola del guscio, con un interessamento molto minore delle altre parti dell'ovidutto. La replicazione è associata con una risposta infiammatoria pronunciata a carico della ghiandola del guscio e con la produzione di uova a guscio anormale. A differenza degli Adenovirus convenzionali, il virus dell'EDS 76 non replica nella mucosa intestinale e la sua presenza nelle feci è probabilmente dovuta alla contaminazione con l'essudato dell'ovidutto (MacFerran, 1997). Nel corso di ricerche su infezioni sperimentali la maggior parte degli autori ha riscontrato la comparsa dei primi sintomi dopo 7-9 giorni, ma in alcuni esperimenti anche dopo 17 giorni PI. Il primo sintomo consiste nella perdita del colore quando le uova sono a guscio pigmentato. Questo fenomeno è prontamente seguito dalla produzione di uova a guscio sottile, o molle, o senza guscio. Le uova a guscio sottile spesso presentano una struttura ruvida, simile a carta vetrata, o una superficie granulare del guscio in corrispondenza di un polo. Se i soggetti sono infettati ad uno stadio di produzione avanzata, la muta forzata farà ritornare la produzione delle uova alla norma. La caduta della deposizione può essere molto rapida e protrarsi per settimane. L'epidemia dura normalmente 4-10 settimane e la produzione di uova può ridursi fino al 40%; comunque si verifica normalmente una compensazione più tardiva nella deposizione, così che il numero totale di uova perdute è normalmente da 10-16/soggetto. Se la malattia è dovuta alla riattivazione del virus latente, la caduta normalmente si verifica fra il 50% e il picco di produzione. Alcuni ricercatori descrivono la produzione di uova piccole nel corso di episodi naturali, mentre l'infezione sperimentale non ha prodotto alcun effetto sulle dimensioni dell'uovo. E' stata segnalata la presenza di uova con albume di tipo acquoso anche se altri autori non hanno riscontrato alcune influenze sull'albume. Tuttavia l'età dell'infezione può essere importante; i soggetti infetti ad 1 giorno d'età producono uova apparentemente normali, tranne la peggiore qualità dell'albume e la taglia più piccola delle uova. Se alcuni soggetti hanno acquisito anticorpi prima che il virus latente sia evidenziabile, si osserva una sindrome clinica differente. Non viene raggiunta la produzione prevista e l'inizio della deposizione può essere ritardato. Se si esegue un esame accurato, si può normalmente stabilire che si tratta di una serie di piccoli episodi clinici di EDS 76. Presumibilmente i soggetti con anticorpi riducono la diffusione del virus. In entrambe le sindromi i soggetti rimangono peraltro sani. Benchè siano stati descritti diarrea, inappetenza e indifferenza, in

alcuni allevamenti, questi sono reperti non costanti. La diarrea transitoria descritta da alcuni autori è probabilmente dovuta all'essudato dall'ovidutto. Il virus dell'EDS 76 non provoca malattia nei soggetti in accrescimento nelle condizioni di campo. L'infezione orale dei pulcini suscettibili ad 1 giorno d'età provoca un'accresciuta mortalità nella prima settimana di vita, ma non è stato osservato aumento della mortalità in molti allevamenti di polli prodotti da allevamenti di riproduttori infetti. L'andamento dell'ovodeposizione in ovaiole vaccinate o di controllo, infettate con il virus virulento, viene riportato in Grafico 4 (MacFerran, 1997) (Zanella, 2005).

Grafico 4-Andamento della ovodeposizione in ovaiole vaccinate e di controllo, infettate a 32 settimane con un virus virulento dell'EDS' 76 (Fonte: Zootecnica International, 2005)



Non sono state descritte lesioni macroscopiche nelle insorgenze naturali, a parte i reperti relativi alle ovaie improduttive o a ovidutti atrofizzati, che sono spesso le sole lesioni riscontrate, ma non sono presenti con una certa consistenza. L'assenza di lesioni può riflettere la difficoltà nel selezionare i volatili colpiti dalla malattia acuta. In seguito all'infezione sperimentale, la presenza di essudato nella ghiandola del guscio e di edema delle pliche uterine si riscontravano comunemente entro 9-14 giorni PI. E' stata osservata anche una leggera splenomegalia associata alla presenza di ovuli flaccidi ed uova a vari stadi di formazione libere nella cavità addominale (MacFerran, 1997).

La maggior parte delle lesioni si osserva nella ghiandola del guscio. La replicazione del virus nei nuclei delle cellule dell'epitelio superficiale provoca la formazione dei corpi inclusi intranucleari, che si verifica a partire da 7 giorni PI. Molte cellule interessate sono presenti nel lume sotto forma di frammenti ed una risposta infiammatoria grave si verifica rapidamente con la presenza di macrofagi, plasmacellule, linfociti ed eterofili in numero vario, a carico della lamina propria dell'epitelio. I corpi inclusi non si osservano dopo il 3° giorno di produzione anomala di uova, ma l'antigene virale persiste oltre 1 settimana. (MacFerran, 1997)

- **Diagnosi.** È basata sull'isolamento del virus, emoagglutinante, in uovo embrionato di anatra o su epatociti di embrione di pollo. Gli esami sierologici, che possono essere effettuati con test HI e ELISA, risultano positivi dopo 10-15 giorni dalla comparsa dei sintomi (Zanella, 2005). Mancando una sintomatologia clinica evidenti e poiché spesso la diffusione dell'infezione è lenta può risultare difficile la scelta del soggetto più adatto sia per isolare il virus che per le indagini sierologiche. L'osservazione che le uova anomale contengono il virus e che vengono prodotte dopo la comparsa della risposta anticorpale ha fornito un metodo razionale per giungere alla diagnosi. Per isolare il virus le uova interessate possono essere fornite come alimento a ovaiole adulte senza anticorpi; queste saranno sacrificate a partire dal momento che producono uova anormali e l'isolamento del virus fatto dalle ghiandole del guscio. Per la diagnosi sierologica tutti i volatili delle gabbie dove sono prodotte le uova anomale, devono essere salassati per il controllo sierologico. Se i volatili sono allevati a terra allora deve essere prestata attenzione nel selezionare i campioni; di solito non è possibile determinare quale dei volatili ha prodotto uova anomale (MacFerran, 1997). La diagnosi differenziale si pone in particolar modo nei confronti dell'Osteomalacia, della Bronchite Infettiva e dell'Encefalomielite Aviaria (Asdrubali *et al.*, 1996).
- **Profilassi.** Poiché la EDS 76 classica si diffonde principalmente con la trasmissione verticale attraverso l'uovo, il migliore controllo è quello di acquistare pulcini provenienti da allevamenti non infetti. Il carattere endemico della EDS 76 è spesso correlabile con una stazione per il confezionamento delle uova, dove quelle contaminate rappresentano il principale fattore di diffusione. Il virus è anche presente nelle feci e la sua diffusione orizzontale è possibile in virtù della sua resistenza. E' stata dimostrata la implicazione del personale e dei mezzi di trasporto nella diffusione del virus: sono perciò richieste delle particolari precauzioni di

igiene. I volatili infetti presentano viremia; perciò è importante che gli aghi usati per il prelievo di sangue o per inoculare vaccini, come pure altre attrezzature, non vengano adoperati senza prima praticarne la sterilizzazione. Se sono presenti allevamenti infetti e allevamenti non infetti nell'ambito di una stessa azienda, debbono essere utilizzati incubatoi e mezzi di trasporto separati. Se questo programma non può essere attuato, debbono essere usati macchine e reparti di incubazione e di schiusa separati e le schiuse debbono avvenire in giorni diversi della settimana. Esiste la possibilità di usare schiuse separate e sessare, vaccinare e spedire le partite esenti, prima dei pulcini potenzialmente infetti. E' particolarmente importante tenere gli allevamenti infetti separati da quelli non infetti e queste uova non debbono mai essere incubate nello stesso incubatoio. In alcuni Paesi, specialmente dove gli uccelli bevono acqua dei laghi, fiumi, raccolte superficiali, la infezione da EDS 76 è comune. Questi episodi sono stati tenuti sotto controllo usando l'acqua dei pozzi o con la clorazione. Nel caso in cui oltre ai polli sono allevati anche anatre ed oche, queste devono rimanere sempre separate dai polli. E' stato riscontrato che le anatre e le oche selvatiche sono spesso infette ma non è noto come si verifica la diffusione nelle altre specie aviarie (MacFerran, 1997). Per quanto riguarda l'uso dei vaccini, una sola vaccinazione con virus inattivato in emulsione oleosa prima dell'entrata in deposizione si è dimostrata molto efficace nel controllo dell'infezione (Zanella, 2005).

3.7. LARINGOTRACHEITE INFETTIVA

La Laringotracheite Infettiva (LTI) è una malattia infettiva, per lo più acuta, delle prime vie respiratorie del pollo, che può risultare in gravi perdite produttive, dovute a mortalità e, nelle ovaiole, a diminuzione dell'ovodeposizione (Zanella, 2005).

Storia.

- La malattia è stata descritta per la prima volta nel 1925, ma alcuni lavori indicano la sua precedente esistenza. E' stata identificata come Laringotracheite, Laringotracheite Infettiva e Difterite Aviare. Alcuni dei primi ricercatori hanno descritto la malattia definendola Bronchite Infettiva.
- Il termine Laringotracheite era già usato prima del 1930 ed il termine Laringotracheite Infettiva è stato adottato nel 1931 dall'apposito Comitato per le

malattie del pollame in seno all'Associazione Americana di Medicina Veterinaria. Beaudette è stato il primo a dimostrare la natura virale della LT attribuendola ad un virus filtrabile. La Laringotracheite Infettiva è stata anche la prima tra le malattie più importanti per la quale è stato prodotto un vaccino (Bagust *et al.*, 1997).

- In Italia è stata osservata per la prima volta negli anni 1964 e 1965. Da allora, per circa 15 anni, non si sono più avute segnalazioni ufficiali sulla sua presenza nel territorio nazionale.
- A partire dal 1980 essa è ricomparsa in forma grave causando notevoli perdite. Attualmente ha assunto carattere sporadico (Asdrubali *et al.*, 1996).
- Recentemente è stata descritta per la prima volta l'infezione naturale nel tacchino (Portz *et al.*, 2008).
- **Eziologia.** L'agente eziologico appartiene alla famiglia *Herpesviridae*, sottofamiglia *Alphaherpesvirinae* (*Gallid herpes virus 1*). La particella virale matura ha dimensioni di 195-250 nm ed è costituita da un envelope, da un capsido a struttura icosaedrica e da un nucleoide contenente acido desossiribonucleico. Nei nuclei delle cellule infette possono rinvenirsi anche particelle costituite solo da nucleocapside o da nucleoide.

Figura 13-*Alphaherpesvirus* (Fonte:www.pbrc.hawaii.edu)

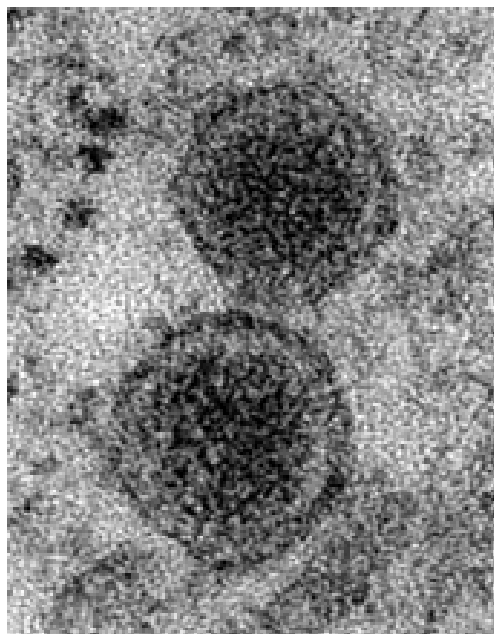
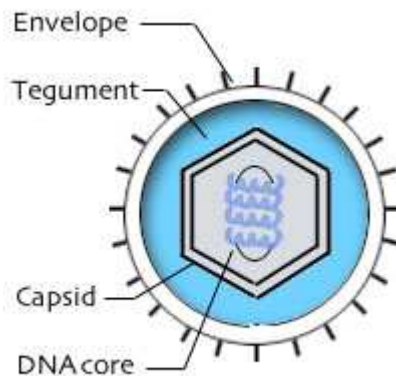


Figura 14-Struttura Herpesvirus (Fonte: www.oralgen.lanl.gov)



Il virus della Laringotracheite Infettiva (LTV) cresce su embrioni di pollo di 9-12 giorni dove induce, a partire dalla 48^a ora di infezione, la formazione di placche sulla membrana corion-allantoidea. L'embrione viene a morte di norma entro 5-6 giorni. Il virus replica anche su colture di cellule renali ed epatiche di embrione di pollo e su cellule renali di pulcino, dove dà luogo ad effetto citopatico con formazione di corpi inclusi nucleari svelabili già dopo 12 ore dall'infezione. Il virus è sensibile al calore, all'etere ed a diversi disinfettanti quali cresolo al 3% e liscivia di soda all'1%. A tutt'oggi non sono state registrate sostanziali variazioni antigeniche tra i ceppi isolati nelle varie parti del mondo (Asdrubali *et al.*, 1996) (ICTV, 2009).

- **Epizootologia.** La Laringotracheite Infettiva è diffusa in molti Paesi o aree ad elevata concentrazione avicola (Zanella, 2005). Il pollo è l'ospite naturale principalmente colpito da LTV. Benchè la malattia colpisca soggetti di tutte le età i sintomi più caratteristici si osservano negli adulti (Bagust *et al.*, 1997). Diversi ricercatori hanno descritto una forma di LTI in fagiani ed in soggetti ibridi ottenuti da incroci fagiani/ pollo, nonché nel pavone e recentemente nel tacchino (Bagust *et al.*, 1997) (Portz *et al.*, 2008). La trasmissione dell'infezione avviene per via orizzontale diretta o indiretta. La porta naturale d'entrata del virus sono le vie respiratorie e la congiuntiva (Zanella, 2005). La via orale potrebbe rappresentare anche un modo di infezione, anche se sembra necessaria la sensibilizzazione dell'epitelio nasale. La trasmissione avviene più facilmente da soggetti infetti in forma acuta, che non attraverso il contatto con soggetti portatori clinicamente guariti. L'infezione da LTV del tratto respiratorio superiore in polli sensibili è

seguita da una intensa replicazione virale. Numerosi studi hanno confermato la presenza di LTV nei tessuti tracheali e nelle secrezioni solo per 6-8 giorni PI. Il virus può rimanere a livelli molto bassi fino a 10 giorni PI; non esiste comunque una prova diretta che attesti la fase viremica dell'infezione. L'infezione di polli con lo stipite virulento Australiano di LTV ha dimostrato la diffusione del virus ai gangli del trigemino 4-7 giorni dopo l'infezione tracheale nel 40% dei polli infettati. La riattivazione del virus rimasto latente nei gangli del trigemino di tali soggetti, 15 mesi dopo la vaccinazione in allevamento, è stata dimostrata in Germania. Con l'impiego della Polymerase Chain Reaction (PCR), è stato inoltre confermato che il ganglio del trigemino è il principale sito di latenza di LTV. L'eliminazione dell'LTV può riprendere, in polli con una infezione latente, in seguito a stress da accasamento e da inizio della deposizione. L'infezione clinicamente inapparente del tratto respiratorio fornisce il principale esempio della persistenza della LT. È stata dimostrata la persistenza dell'infezione latente, per un periodo superiore a 16 mesi dopo un esordio di malattia, nel 50% o più dei polli infetti. Inoltre è stato verificato che l'eliminazione del virus è intermittente, ed apparentemente spontanea, tra la 7^a e 20^a settimana dall'infezione. Il trattamento con sostanze ad effetto immunodepressivo (es. ciclofosfamide, desametasone) non ha dato risultati soddisfacenti nella riattivazione dell'LTV latente. La trasmissione meccanica di LTV può verificarsi con l'uso di attrezzature o per mezzo della lettiera contaminati. Non è stata dimostrata la trasmissione del virus contenuto all'interno dell'uovo o esternamente al guscio. (Bagust *et al.*, 1997)

- **Sintomi e lesioni.** I sintomi clinici generalmente compaiono entro i primi 6-12 giorni dopo la naturale esposizione. Sperimentalmente l'infezione endotracheale è seguita da un periodo di incubazione più breve di 2-4 giorni. Gravi forme epizootiche della malattia causano una elevata morbilità (90-100%) e variabile mortalità. La mortalità varia generalmente dal 5 al 70% (10-20% in media). E' stata osservata in Gran Bretagna, in Australia e in Nuova Zelanda una forma benigna della malattia, caratterizzata da una morbilità bassa o variabile inferiore al 5% e da una mortalità molto bassa (0,1-2%) (Bagust *et al.*, 1997). Oltre ai classici sintomi respiratori (tosse, rantoli, espettorato di muco sanguinolento o coaguli di sangue), tracheite catarrale emorragica, si osserva un calo più o meno elevato dell'ovodeposizione (10-70%) a seconda della gravità della malattia, per un periodo di 3-6 settimane. Le forme lievi sono caratterizzate da congiuntivite, rigonfiamento

dei seni infraorbitali, con calo dell'ovodeposizione dal 3-10%. Non si riscontrano lesioni dell'ovidotto, ma quasi sempre degenerazione dell'ovaio con conseguenti perdite fino a 30 uova per capo (Zanella, 2005).

- **Diagnosi.** La diagnosi è basata, oltre che sulle manifestazioni cliniche e sulle lesioni, sull'isolamento del virus sulla membrana corionallantoidea (MCA) di embrioni di pollo di 10-12 giorni e sull'esame microscopico degli strisci tracheali (inclusi nucleari). Scarso è invece l'uso di tecniche sierologiche (Zanella, 2005). Trachea, laringe, polmoni, congiuntiva o essudato raccolto mediante tampone da tali organi rappresentano i campioni più adatti per l'isolamento del virus (Bagust *et al.*, 1997). Le principali malattie respiratorie che possono essere confuse con la LTI sono la Bronchite Infettiva, la Pseudopeste, il Diftero-Vaiolo, la Corizza Infettiva, la Malattia Cronica Respiratoria e la Singamosi (Asdrubali *et al.*, 1996).
- **Profilassi.** Le infezioni da LTV che sono conseguenza di infezioni di campo o di vaccinazione determinano l'instaurarsi di LTV latente. La possibilità che soggetti guariti dalla LT rimangano portatori deve impedire che polli vaccinati o guariti si mescolino con altri soggetti suscettibili. La precauzione speciale da prendere quando si mescolano soggetti da riproduzione è di conoscere bene la loro storia. L'uso di validi metodi di igiene eviterà che i polli suscettibili siano esposti al contagio che potrebbe verificarsi nei locali di allevamento e attraverso le attrezzature contaminate. L'importanza di attuare la quarantena e di applicare le misure di igiene e prevenire lo spostamento del personale, degli equipaggiamenti, del cibo e degli animali potenzialmente contaminati è fondamentale per realizzare con buoni risultati la prevenzione e/o il controllo della LT. Roditori e cani devono essere controllati sistematicamente. La persistente minaccia della malattia derivante dalle attività commerciali, mostre ed esposizioni dovrebbe essere considerata ed evitata. La collaborazione tra le competenze e l'industria nel controllo della LT è, quanto meno, da auspicare. Se impostata correttamente tale strategia può evitare la necessità di usare diffusamente il vaccino per la LT. Laddove gli episodi sono stati contenuti, negli allevamenti guariti dovrebbero essere adottate le misure di quarantena. A tale proposito da una esperienza effettuata in Pensilvania risulta che questo intervallo può essere non inferiore a 2 settimane dagli ultimi segni clinici osservati. Per il controllo di un episodio di LT, il tentativo più efficace è di ottenere una diagnosi rapida, istituire un programma di vaccinazione e prevenire la ulteriore diffusione del virus. La vaccinazione in queste condizioni limita la diffusione del

virus e riduce la durata della malattia. La diffusione di LTV tra gli allevamenti può essere evitata dall'applicazione di adatte misure di igiene. L'infezione da LTV può essere interrotta fuori dall'ospite con le disinfezioni, le temperature elevate; solo così il passaggio tra gli allevamenti successivi di una azienda mediante i vettori inanimati può essere prevenuto da adatte misure di profilassi diretta (Bagust *et al.*, 1997). Il controllo della malattia è ottenuto mediante l'uso di vaccino vivo più o meno attenuato durante il periodo di pollastra, con 1 o 2 interventi (Zanella, 2005).

3.8. RINOTRACHEITE INFETTIVA DEL TACCHINO O MALATTIA DELLA TESTA GONFIA

L'infezione da *Pneumovirus*, che determina la Rinotracheite del tacchino (TRT) e la Malattia della testa gonfia (SHS), è assai diffusa soprattutto nel tacchino, dove può provocare anche ingenti danni economici, se accompagnata da complicazioni batteriche (*E. coli*, *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT), *Pasteurella spp.*); minori sono i danni nel pollo (Zanella, 2005).

- **Storia.**
- Una forma clinica indistinguibile da quelle attualmente note per essere correlate alle infezioni da *Pneumovirus* aviari, è stata riportata in numerosi Paesi fin dagli anni '60. In alcuni di questi Paesi, negli Stati Uniti, tuttavia è stato stabilito che l'agente causale era riconducibile a *Bordetella avium*. A motivo delle differenze di eziologia e delle difficoltà ad isolare l'agente causale è impossibile stabilire categoricamente quando la condizione fosse stata in precedenza segnalata. I primi lavori attribuiscono alla TRT e alla SHS una eziologia virale in polli provenienti dal Sud Africa, dove entrambe le malattie sono comparse durante gli anni '70.
- La malattia è stata riportata per la prima volta in Sud Africa (1979);
- in seguito è stata segnalata in Europa (1981), dovuta a due diversi sottipi, A e B;
- infine in USA (1997), dovuta ad un sottipo C;
- più recentemente sarebbe stato riscontrato il sottipo D in anatre in Francia (1999);
- (Zanella, 2005) (Alexander, 1997).
- **Eziologia.** Il *Pneumovirus* (APV) della TRT o SHS appartiene alla famiglia *Paramyxoviridae*, genere *Metapneumovirus*, con genoma a RNA, dotato di envelope,

di diametro 80-200 nm, ma molto pleomorfo. Questo virus si distingue dagli altri Paramixovirus per la mancanza dell'attività emoagglutinante e neuroamminidasica. Il virus cresce su embrioni di pollo e di tacchino determinandone la morte dopo 4-5 passaggi. Nelle colture di anelli tracheali provoca ciliostasi entro il 3°-4°giorno dall'inoculazione (Zanella, 2005) (Asdrubali *et al.*, 1996).

Figura 15-*Metapneumovirus* (Fonte:www.avian-pneumovirus.com)

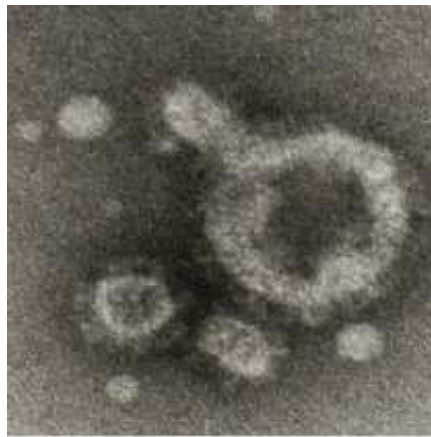
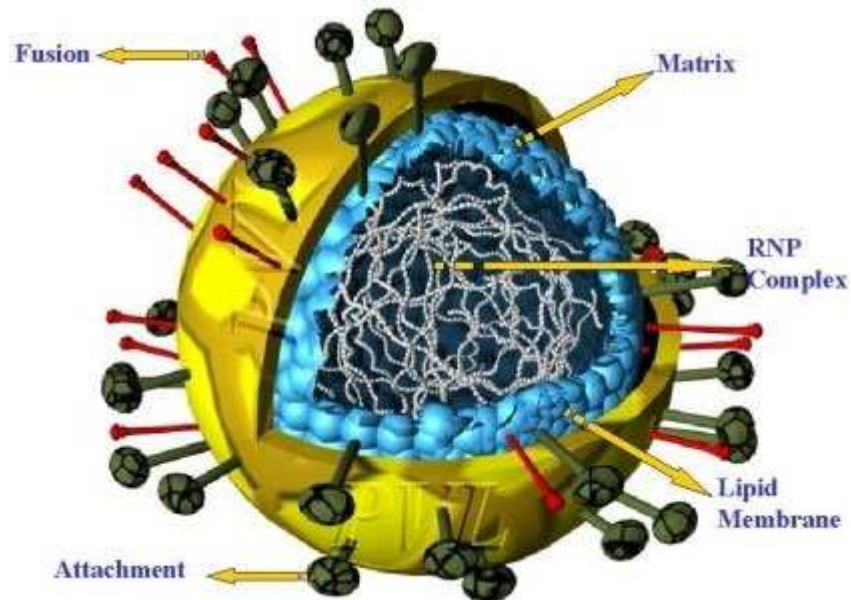


Figura 16-*Struttura Pneumovirus* (Fonte:www.gds18.org)



- **Epizootologia.** Il tacchino e, in minore misura, il pollo sono i volatili più sensibili all'infezione; positività, solo sierologica, è stata riscontrata in faraona ed altri uccelli. L'infezione è trasmessa orizzontalmente per contatto diretto, meno per via

indiretta; nessuna evidenza per trasmissione verticale. I Paesi che hanno riportato l'isolamento di APV non sono molti; ciò è dovuto anche alla difficoltà incontrata nell'isolamento del virus; la sieropositività è, tuttavia, molto diffusa (Zanella, 2005).

- **Sintomi e lesioni.** I tacchini, soprattutto se giovani, presentano starnuti, rantoli, scolo nasale, sinusite più o meno grave, anche in seguito a complicazioni batteriche. Gli animali adulti presentano calo di ovodeposizione, a volte fino al 70% (media 20-30%), con qualità scadente del guscio; la morbilità arriva fino al 100%, la mortalità varia da <1% fino a 30%. Nel pollo l'infezione è di solito meno evidente, a volte caratterizzata da tumefazione dei seni periorbitali, torcicollo e opistotono, dovuti probabilmente ad una infezione auricolare (virus, e forse *E. coli*). In animali in deposizione, questa può essere negativamente influenzata, ma in minore grado che nel tacchino (non più del 5-10%), accompagnata anche da qualità scadente del guscio. Niente si conosce su eventuali lesioni dell'ovidutto (Zanella, 2005).
- **Diagnosi e diagnosi differenziale.** E' basata sui sintomi, ma soprattutto sull'isolamento del virus in fase precoce di infezione su uovo embrionato o anelli tracheali (TOC); successivamente sulla evidenziazione di anticorpi con test sierologici quali VN ed ELISA (Zanella, 2005). Il virus può essere isolato da trachea, polmone e visceri di tacchinotti colpiti, ma la fonte di virus di gran lunga più cospicua è rappresentata dalle secrezioni nasali o dal raschiato dei seni di soggetti colpiti (Alexander, 1997).
- **Profilassi.** È basato, oltre che sulle misure di biosicurezza, soprattutto sulla vaccinazione nelle prime settimane di vita con vaccino vivo attenuato, seguito da un secondo intervento con vaccino vivo o con vaccino inattivato (Zanella, 2005).

4. MALATTIE BATTERICHE

4.1. SALMONELLOSI

I batteri del genere *Salmonella* sono responsabili di un'ampia varietà di patologie del pollame ad andamento acuto e cronico. Principali serbatoi di questi batteri sono gli uccelli domestici i quali possono trasmettere l'infezione all'uomo. L'isolamento delle Salmonelle è segnalato con maggiore prevalenza nel pollame e nei prodotti alimentari di origine avicola rispetto a quanto accade invece in altre specie animali. Questo fenomeno è da ricercare, naturalmente, nell'alto numero di polli e tacchini allevati, oltre che in una oggettiva maggiore presenza del germe nelle specie aviari. Tale situazione epidemiologica induce, di conseguenza, ad applicare programmi di profilassi a carattere nazionale, volti alla ricerca ed identificazione degli animali infetti. Il genere *Salmonella*, (della famiglia Enterobacteriaceae) prende il nome dal noto ricercatore americano Daniel E. Salmon (Gast, 1997). Mediante agglutinazione, le Salmonelle sono state suddivise in 2463 sierotipi secondo lo schema di Kauffmann e White, a tutto il 2000. I vari sierotipi sono stati suddivisi in gruppi, indicati con lettere alfabetiche maiuscole (A,B,C.....) secondo gli antigeni somatici O e in subgeneri in base a prove biochimiche. Secondo i concetti proposti da Kauffmann ogni sierotipo, basato sull'identificazione degli antigeni O (somatici) e H (flagellari) doveva essere considerato una specie separata del genere *Salmonella*. Nel 1973 con l'ibridazione DNA-DNA è stato dimostrato che tutti i sierotipi dei subgeneri I, II, IIIa e IIIb e IV (il subgenere VI non era stato ancora trovato) appartenevano ad una sola specie. Soltanto la *S. bongori*, subgenere V, doveva essere considerata una specie distinta. Il Comitato Internazionale di Sistematica Batteriologica nel 1986 ha stabilito che il nome della specie doveva essere *S. enterica*, non attribuito ancora a nessun sierotipo. La *S. enterica* era poi suddivisa in sei subspecie, in base alle caratteristiche biochimiche e genetiche; le subspecie si sono mostrate perfettamente corrispondenti ai subgeneri, che Kauffmann aveva già individuato. *S. enterica* subsp .*enterica* comprende il maggior numero di sierotipi, patogeni per gli animali a sangue caldo, mentre le altre 5 subspecie di *S. enterica* e la *S. bongori* colpiscono prevalentemente animali a

sangue freddo, in particolare i rettili. Unica eccezione la subspecie *Arizonae* che ha provocato gravi danni nei tacchini (Pascucci, 2005).

Tabella 4-classificazione delle specie *Salmonella*

Specie	Subspecie	Subgenere*	N° sierotipi
enterica	1 <i>enterica</i>	I	1454
	2 <i>salamae</i>	II	489
	3a <i>arizonae</i>	III a	94
	3b <i>diarizonae</i>	III b	324
	4 <i>houtenae</i>	IV	70
	5 <i>indica</i>	VI	12
bongori		V	20

* classific. Kauffmann

Altre proposte tassonomiche riguardavano il ruolo patogeno dei ceppi, distinguendo le *Salmonelle* a patogenicità specifica da quelle a patogenicità aspecifica (vedi Tabella 5).

Tabella 5-Gruppi epidemiologici delle *Salmonelle*

Salmonelle a patogenicità specifica	Per l'uomo	<i>S. typhi</i> <i>S. paratyphi A e C</i>
	Per altre specie animali	<i>S. pullorum, S. gallinarum,</i> <i>S. dublin, S. colera suis,</i> <i>S. abortus equi, S. abortus ovis</i>
Salmonelle a patogenicità aspecifica	Per tutte le specie animali	<i>S. typhimurium, S. enteridis, S. heidelberg, S. anatum, S. infantis, S. hadar, S. Virchow, etc.</i>

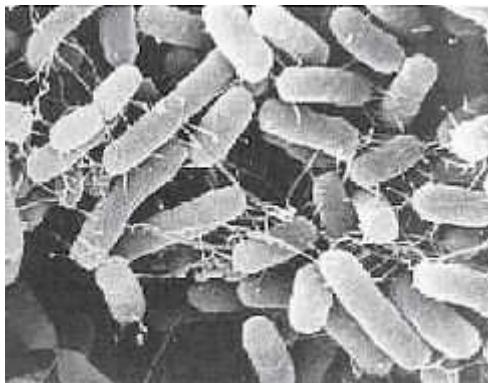
Le *Salmonelle* a patogenicità specifica per le specie aviarie, *S. pullorum* e *S. gallinarum*, sono state considerate biovarianti dello stesso sierotipo, prive d'antigeni flagellari e quindi immobili, a differenza di tutte le altre salmonelle. Gli studi recenti sui profili ribosomiali hanno chiarito che, in effetti, si tratta di due *Salmonelle* diverse, ciascuna delle quali presenta a loro volta distinti profili. Più recentemente è stato dimostrato che anche l'analisi del gene della fase 1 flagellina C permette di differenziare le due *Salmonelle*. La struttura antigenica, inoltre, composta dagli antigeni O 1, 9, 12, caratteristici del gruppo D, si differenzia nelle

due Salmonelle. Essa rimane invariata nei vari ceppi di *S. gallinarum*, ma nella *S. pullorum* l'antigene 12 si scompone in 12₁, 12₂, 12₃. I ceppi standard contengono molto 123 e poco 122, mentre nelle varianti la quantità dei due antigeni è invertita. Di questo si è dovuto tenere conto nella preparazione degli antigeni usati nella profilassi. Dal punto di vista biochimico è stato dimostrato che solo la prova della decarbossilasi dell'ornitina, positiva nella *S. pullorum* e negativa nella *S. gallinarum*, riesce a distinguere con certezza le due Salmonelle (Pascucci, 2005). In particolare, la *S. pullorum* induce nel pulcino e nel tacchinotto una patologia sistemica, ad andamento acuto denominata Pullurosi, mentre la *S. gallinarum*, è causa di una forma morbosa, setticemica, ad andamento acuto e cronico, che più spesso colpisce gli animali adulti e che prende il nome di Tifosi. Entrambe queste forme sono state, nel passato, per gli operatori del settore, causa di gravi perdite economiche, che hanno dato l'impulso alla realizzazione di programmi di eradicazione su scala nazionale (Gast, 1997). Altre patologie sono quelle indotte dalle infezioni da Salmonelle mobili, che vengono denominate Paratifosi. A questo gruppo di Salmonelle appartengono i sierotipi causa di tossinfezioni alimentari nell'uomo. Nonostante che le infezioni indotte dalle Salmonelle mobili siano molto frequenti nel pollame, raramente esse causano una malattia clinicamente apparente, tranne nei giovani animali che si trovano in condizioni di stress. Più spesso, l'infezione nel pollo e nel tacchino è caratterizzata dalla colonizzazione asintomatica dell'intestino che persiste fino alla macellazione e che è causa ultima della contaminazione delle carcasse. Alcuni sierotipi, in particolare *S. enteritidis*, possono ritrovarsi nel contenuto di uova dal guscio intatto e pulito. Una impropria conservazione degli alimenti contaminati, prima del loro consumo, può permettere la moltiplicazione delle Salmonelle fino a titoli in grado di causare nel consumatore gravi gastroenteriti. La necessità di ottenere degli alimenti "sicuri" sotto il profilo microbiologico ha portato alla messa a punto di sistemi che permettessero il riconoscimento delle Salmonelle mobili nel pollame e nei prodotti alimentari di origine avicola. Le problematiche legate alle infezioni da Salmonella nel pollame hanno acquisito negli ultimi anni una importanza notevole. Nel passato, obiettivo principale della lotta alle Salmonelle era quello della riduzione delle perdite legate all'infezione. Attualmente, anche a seguito di pressioni politiche, e delle richieste avanzate dai consumatori, è divenuto prioritario per i produttori avicoli, porre in essere una prevenzione volta ad impedire la trasmissione della malattia all'uomo

tramite gli alimenti. La profilassi della Pullurosi e della Tifosi è stata affrontata con efficacia negli Stati Uniti, dove è stato adottato il monitoraggio dei gruppi di animali, ed ottenuta l'eradicazione dell'infezione. Le Salmonelle mobili, al contrario, non sono ospiti specifiche, ma si possono ritrovare in tutte le specie animali domestiche, selvatiche e nell'uomo. Inoltre, il carattere fortemente multinazionale della moderna industria avicola ha creato nuove e più complesse opportunità per la diffusione di questi germi. Un così ampio spettro di fonti di introduzione delle Salmonelle mobili negli allevamenti avicoli, rende necessaria una strategia di controllo di questi microrganismi di più ampio respiro rispetto a quella da adottare nei confronti della *S. pullorum* e *S. gallinarum*. L'applicazione combinata di una serie di misure che includano programmi di monitoraggio, produzione di alimenti indenni da Salmonella, eliminazione dei vettori biologici (insetti, ratti, topi ed altri roditori, uccelli selvatici), pulizia e disinfezioni accurate dei capannoni, trattamenti profilattici sugli animali che riducano la loro sensibilità all'infezione, può essere necessaria per ottenere dei risultati tangibili nel controllo effettivo delle Salmonelle nel pollame e nei prodotti di origine avicola (Gast, 1997).

- **Eziologia.** Le Salmonelle sono un germi bastoncellari (0,3-1,5 x 1-2,5 µm), Gram-negativi.

Figura 17-Salmonella spp. (Fonte: www.food-info.net)



Crescono bene nei comuni terreni e per il loro isolamento, si utilizzano sia terreni liquidi di arricchimento, come il brodo Selenite ed il Rappaport Vassiliadis, che terreni solidi selettivi, quali l'agar SS (Salmonella-Shigella agar), il Brilliant Green Agar, il Gassner, e l'Hektoen Enteric Agar (Asdrubali *et al.*, 1996).

	Salmonelle immobili	Salmonelle mobili
Patogenicità	specifica	aspecifica
Presenza di ciglia	Assenti	Presenti
Forma colonie	piccole, simili a gocce di rugiada	rotondeggiante
Presenza antigene H	assente	presente
Resistenza agli agenti chimici e fisici	minore	maggiore

Le Salmonelle presentano proprietà biochimiche comuni: non fermentano il lattosio, il saccarosio, la salicina, l'adonitolo; non producono indolo, né idrolizzano l'urea; fermentano il glucosio, il maltosio (*S. pullorum* normalmente non lo fermenta), il dulcitolo (non la *S. pullorum*) e la mannite; decarbossilano la lisina, riducono i nitrati. Esse inoltre sono sensibili al calore (muoiono all'istante alla temperatura di 80°C, in 20 minuti a 58°C) ed alla maggior parte dei comuni disinfettanti. La loro resistenza nell'ambiente è notevole (Asdrubali *et al.*, 1996).

- **Epizootologia.** Le Salmonelle sono notevolmente diffuse in natura. Per prevenire quindi la malattia è necessario prendere in considerazione i modi attraverso cui essa può trasmettersi: trasmissione ovarica diretta.; trasmissione attraverso il guscio. Essa può avvenire nel momento in cui le uova passano attraverso la cloaca, oppure quando vengono a contatto, successivamente, con le feci. La contaminazione può diffondersi da un uovo all'altro per contatto diretto; in seguito i batteri in questione se penetrano all'interno dell'uovo si moltiplicano, infettando gli embrioni durante l'incubazione. trasmissione della malattia tramite portatori intestinali cronici. Animali sopravvissuti ad infezioni acute, possono diventare portatori intestinali cronici (con localizzazione delle Salmonelle preferibilmente nei ciechi, i quali costituiscono il serbatoio del germe) ed i microrganismi essere eliminati con le deiezioni per periodi che a volte raggiungono o addirittura superano i 18 mesi. La contaminazione del terreno, del cibo e dell'acqua con le feci infette favorisce la diffusione dell'infezione ad altri soggetti per via orale; trasmissione della malattia in seguito a contaminazione delle farine animali destinate all'uso zootecnico. E' questo un importante aspetto epizootologico delle Salmonellosi animali sviluppatosi a dismisura in questi ultimi anni a motivo della trasformazione industriale degli allevamenti avicoli, per i quali l'adozione di metodi sempre più razionali di alimentazione ha portato ad un consumo veramente considerevole di farine animali.

Sull'origine primitiva dell'inquinamento le opinioni dei ricercatori che si sono occupati di questo particolare problema sono concordi nel ritenere tale contaminazione di natura ambientale. Solo un numero estremamente limitato di casi di inquinamento può trarre origine diretta da germi naturalmente presenti nelle carcasse in lavorazione, in quanto normalmente le Salmonelle non sopravvivono alle alte temperature impiegate nelle fasi di sgrassamento e di essiccamento. La vera via di contaminazione deve essere quindi considerata di natura secondaria e va identificata col contatto di animali domestici e selvatici (topi, cani, gatti, uccelli, insetti vari, ecc.), che infettano successivamente le farine animali nelle quali le Salmonelle si moltiplicano con estrema facilità determinando in tal modo una contaminazione uniforme negli impianti di lavorazione e quindi una situazione stabile di inquinamento. E' importante inoltre far notare che piccole quantità di farine inquinate, addizionate alle altre sostanze che compongono i mangimi ad uso zootecnico, determinano rapidamente la contaminazione dell'intero prodotto poiché anche molti sfarinati di tipo vegetale si prestano per favorire la diffusione e la moltiplicazione dei microrganismi in questione (Asdrubali *et al.*, 1997).

Grafico 5-Andamento delle frequenze di isolamento dei sierotipi prevalenti nel pollo nel periodo 2004-2006 (Fonte: IZSVE, 2006)

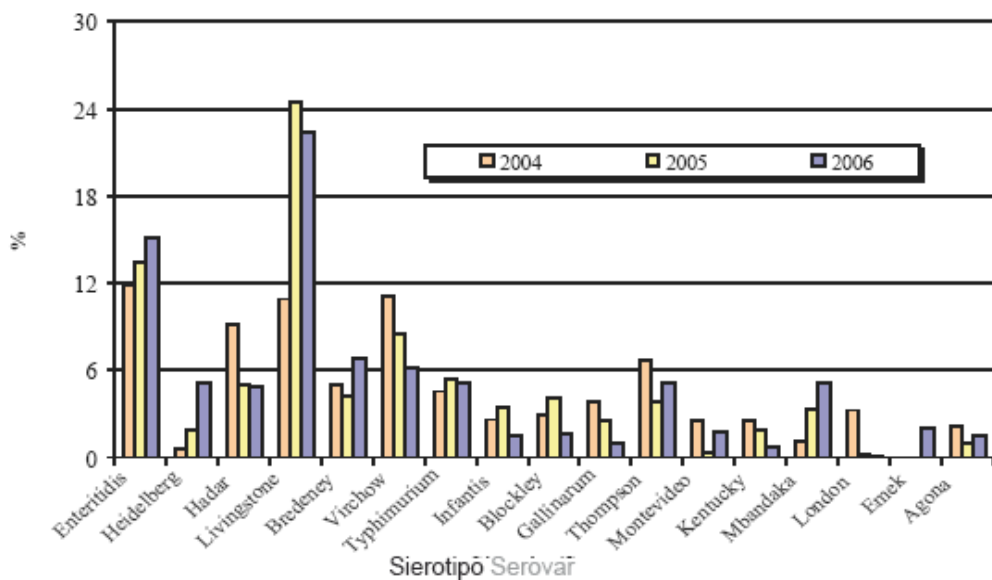


Tabella 6-Distribuzione dei sierotipi più frequentemente isolati da pollo (Fonte:IZSVe, 2006)

Sierotipo, Serovar	N.isolamenti N.reports	%
<i>Livingstone</i>	396	22,37
<i>Enteritidis</i>	268	15,14
<i>Bredeney</i>	121	6,84
<i>Virchow</i>	108	6,10
<i>Thompson</i>	91	5,14
<i>Mbandaka</i>	90	5,08
<i>Typhimurium</i>	90	5,08
<i>Hadar</i>	86	4,86
<i>Heidelberg</i>	64	3,62
<i>Emek</i>	36	2,03
<i>Montevideo</i>	30	1,69
<i>Blockley</i>	29	1,64
<i>Agona</i>	27	1,53
<i>Infantis</i>	26	1,47
<i>Altro</i>	308	17,40
Totale Total	1.770	100

La percentuale dei ceppi isolati dal pollo nei tre anni presi in considerazione è la seguente: 33,71% nel 2006, 25,65% nel 2005, 26,51% nel 2004.

- **Sintomi e lesioni.** I sintomi e le lesioni delle infezioni Paratifoidi sono simili, sia nei giovani che nei soggetti adulti, a quelli osservati nella Pullorosi-Tifosi, nelle infezioni da Arizona ed in diverse altre malattie. Nei giovani in genere si ha una evoluzione iperacuta e acuta, raramente subacuta. La forma iperacuta si osserva nei pulcini da poco nati; essa è rapidamente mortale e si manifesta con sintomi vaghi di depressione e sonnolenza. La forma acuta, nella grande maggioranza dei casi, compare nei pulcini di età compresa tra 5 e 21 giorni. I soggetti sono prostrati e presentano la testa abbassata, gli occhi chiusi, le ali cadenti e le piume arruffate. Si osservano inoltre anoressia, sete intensa, diarrea acquosa con imbrattamento della regione pericloacale e tendenza degli uccelli ad accalcarsi vicino alle sorgenti di calore. Una congiuntivite ed una cheratite sono talvolta presenti. Nella forma

iperacuta l'esame necroscopico mette in evidenza delle alterazioni setticemiche: congestione poliviscerale, tumefazione della milza, del fegato e dei reni, qualche petecchia sotto-sierosa. Nella forma acuta è frequente osservare una enterite catarrale, talvolta emorragica, che interessa soprattutto il duodeno. Nel fegato e nella milza sono presenti piccoli focolai di necrosi ed emorragie. I reni appaiono congesti. Si osserva anche una pericardite fibrinosa adesiva. Nell'adulto la sintomatologia decorre generalmente sotto forma subacuta o cronica. Frequenti gli episodi di infezioni inapparenti. Nel gallo si può manifestare sterilità conseguente ad orchite degenerativa, mentre nella gallina la deposizione può arrestarsi, oppure diminuire con presenza di uova anormali, sovente tinte di sangue. Talvolta possono riscontrarsi anemia, dimagrimento, costipazione alternata a diarrea. Nei casi a decorso acuto, peraltro rari, si osservano anoressia, sete intensa, grave abbattimento, diarrea, cui segue la morte in 36-48 ore.

Il reperto anatomico-patologico nelle forme a decorso acuto è caratterizzato da congestione e tumefazione del fegato, della milza e dei reni, da enterite prevalentemente catarrale-emorragica, da pericardite e peritonite sierofibrinosa.

Nelle forme a decorso subacuto e cronico si possono osservare enterite ulcerativo-necrotica e focolai necrotici al fegato, alla milza, ai reni ed al cuore. Nell'ovaio si osservano ovuli deformati, di colore giallo verdastro, contenenti sovente materiale viscoso o grumoso. Nei portatori intestinali cronici raramente si notano lesioni (Asdrubali *et al.*, 1996).

- **Diagnosi.** I sintomi ed i reperti necroscopici non sono per nulla caratteristici; pertanto si deve ricorrere all'isolamento ed all'identificazione dell'agente causale mediante esami batteriologici e test sierologici. Vengono in genere utilizzati per la semina del materiale sospetto terreni selettivi quali il Brilliant Green Agar, l'Hektoen Enteric Agar, l'agar SS, il Gassner. Le colonie che fanno sospettare presenza di Salmonelle vengono sottoposte alla prova della beta-galattosidasi e della mobilità, nonché all'identificazione biochimica mediante semina su terreno di Kligler e su agar-fenilalanina. Si eseguiranno inoltre la colorazione di Gram e l'agglutinazione rapida con siero polivalente antisalmonella. E' da notare che si trovano in commercio alcuni sistemi miniaturizzati, i quali permettono, con un'unica semina, di saggiare tutte le principali caratteristiche biochimiche delle Salmonelle (Asdrubali *et al.*, 1996).

- **Profilassi e terapia.** La lotta contro le Salmonellosi Aviare rappresenta un problema di notevole interesse, poiché esse sono delle zoonosi. La profilassi di queste malattie è, pertanto, diretta da un lato ad eliminare i danni che esse arrecano all'industria avicola, dall'altro ad estinguere fonti di infezione per l'uomo. A tal proposito è da notare che in questi ultimi tempi sono aumentati gli episodi di tossinfezioni umane sostenute da *Salmonella enteridis*, riconducibili a consumo improprio di uova. Il controllo delle Salmonellosi è piuttosto difficile da realizzare, poiché troppi sono i fattori da tener presenti al fine di evitare l'infezione o la sua propagazione nell'allevamento. Per il controllo dei mangimi bisogna prendere in considerazione innanzitutto il risanamento delle materie prime e del prodotto finito eventualmente inquinati. Le metodiche di risanamento proposte sono riconducibili al trattamento con il calore, con sostanze chimiche e con radiazioni gamma. Mentre quest'ultimo sistema è scarsamente utilizzato, gli altri due trovano vasto impiego nella pratica. Tra le sostanze chimiche cui si fa maggiormente ricorso sono da menzionare l'acido formico, l'acido propionico ed il bromuro di metile. Il metodo da preferire, sia dal punto di vista pratico che economico, è però al momento quello termico, che trova applicazione con la pellettatura a caldo dei mangimi. Una volta avvenuto il risanamento, il prodotto deve essere conservato in depositi ben protetti. Gli automezzi per il trasporto dei mangimi finiti devono essere ben lavati e disinfettati. Anche gli impianti di miscelazione nei mangimifici possono talvolta andare incontro ad inquinamento, per cui si rende necessaria l'applicazione di norme igieniche rigorosissime alla fine di ogni ciclo di lavorazione. Non è da trascurare infine l'importanza che può avere l'uomo e quindi il personale degli stabilimenti nella diffusione delle Salmonelle. Il problema della profilassi delle Paratifosi chiaramente non si esaurisce con il controllo dei mangimi. Attenzione particolare dovrà essere rivolta all'igiene degli incubatoi. E' bene a tal proposito ricordare che le Salmonelle mobili raramente vengono trasmesse per via verticale e che usualmente penetrano attraverso il guscio imbrattato con feci inquinate. Le uova destinate all'incubazione pertanto devono essere raccolte negli allevamenti a frequenti intervalli e conservate in luogo fresco per impedire che le Salmonelle penetrino all'interno dell'uovo. La pulizia e la disinfezione delle uova devono essere effettuate tempestivamente ed in modo razionale. La disinfezione è realizzata o mediante fumigazioni con formalina o mediante il *dipping* delle uova in soluzioni germicide, rappresentate da antibiotici o da glutaraldeide allo 0,5%, le quali devono

avere una temperatura superiore a quella delle uova. Anche gli allevamenti possono essere sorgente di propagazione delle Salmonelle. In essi pertanto si devono adottare tutte quelle precauzioni atte a prevenire l'insorgenza e la diffusione della malattia. Tra le misure più semplici da attuare, ma non per questo meno valide, sono da ricordare l'allevamento di gruppi di animali omogenei (provenienti da incubatoi di comprovata serietà e competenza); il sistema del "tutto pieno-tutto vuoto"; le disinfezioni; le disinfestazioni; le derattizzazioni periodiche dei locali di allevamento e delle aree circostanti; l'uso da parte del personale di soprabiti e soprascarpe da impiegare solo all'interno dei pollai; il divieto di accesso agli estranei. Al fine di identificare gli allevamenti avicoli affetti da Salmonelle si può ricorrere ai test sierologici e ad esami batteriologici del materiale fecale e delle lettieri. Il problema della individuazione sierologica dei portatori nelle Paratifosi non è di così semplice risoluzione come per la Pullurosi-Tifosi e ciò per la scarsità o la mancanza di anticorpi serici nei portatori stessi, nonché per la presenza di numerosissimi tipi antigenici delle Salmonelle. Tale metodica è pertanto di scarsa attuazione pratica. E' da sottolineare comunque che l'antigene per le Salmonelle immobili utilizzato per la prova di siero-agglutinazione dà reazioni crociate anche per *Salmonella enteridis*, per cui il test può essere usato come screening per individuare anche gruppi infetti da quest'ultima. Le prove batteriologiche dai tamponi cloacali, per quanto indaginose, sembrano quindi da preferirsi. Può essere infine attuato il prelievo di campioni di lettiera contenente materiale fecale, ma tale esame, come è ovvio, ha il solo scopo di stabilire la presenza di Salmonelle nel gruppo allevato e non nel singolo animale. In alcuni Paesi europei, segnatamente la Germania, sta entrando nell'uso comune l'impiego di vaccini vivi e inattivati soprattutto nei confronti di *Salmonella typhimurium* e *S. enteritidis*. Malgrado i discreti risultati che si ottengono, nel nostro Paese non sono ancora utilizzati. In questi ultimi anni sta acquistando importanza la cosiddetta tecnica dell'esclusione competitiva che consiste nell'inoculazione orale a pulcini neonati di materiale proveniente dal gozzo e dal tratto intestinale di soggetti adulti; tale inoculo è ricco di una flora microbica anaerobia che entra in competizione con le Salmonelle impedendone l'attecchimento sulla mucosa. Inoltre questi microrganismi anaerobi, quali ad esempio *Enterococcus faecalis*, producono acidi grassi volatili a catena corta (ac. acetico, ac. propionico, ecc.), che sono in grado di inibire la crescita delle Salmonelle. Misure terapeutiche vengono attuate per ridurre la mortalità negli

episodi acuti di Salmonellosi e per prevenire la diffusione della malattia nell'allevamento. E' da sottolineare comunque che i soggetti infetti, sottoposti a trattamenti terapeutici, possono rimanere portatori della malattia, poiché tali misure sono incapaci di eliminare completamente l'infezione. Dovrebbe essere ricordato che mentre sono stati fatti progressi nella prevenzione delle Salmonellosi e nella riduzione delle perdite mediante trattamento, le misure terapeutiche hanno scarsa importanza in ogni ampio programma che abbia lo scopo di eliminare le infezioni salmonellari dagli allevamenti avicoli. Ciò premesso negli episodi di Salmonellosi si potrà intervenire somministrando, a seconda dei casi, sulfamidici, antibiotici e nitrofuranici (Asdrubali *et al.*, 1996).

4.2. COLIBACILLOSI

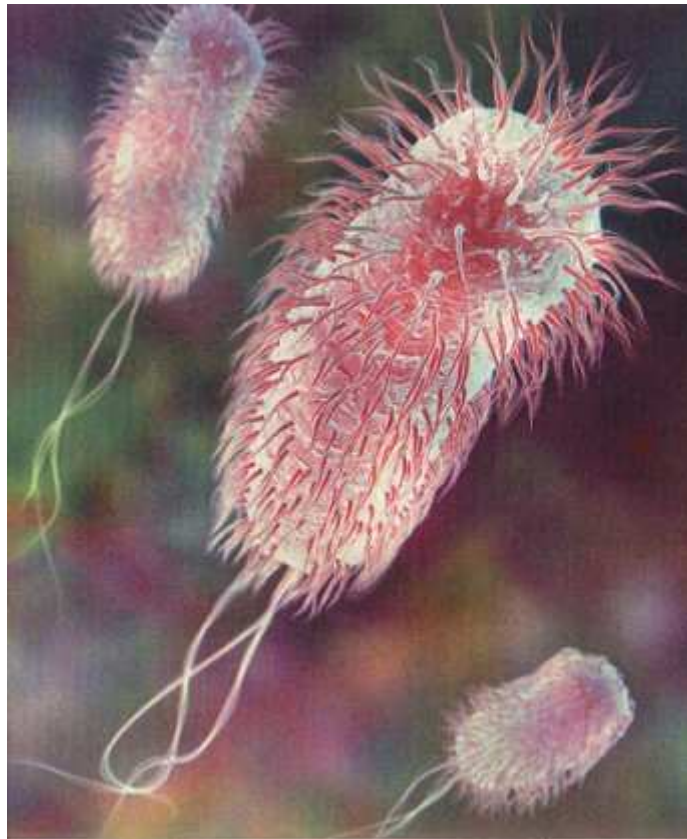
Col termine colibacillosi vengono indicate le infezioni localizzate o sistemiche sostenute da *Escherichia coli*. Il germe e può indurre varie manifestazioni patologiche. Tra le più comuni si citano la Colisetticemia, la Coligranulomatosi (malattia di Hjarre), l'Aerosacculite (Malattia Cronica Respiratoria), la Cellulite Aviare, la Sindrome della testa gonfia (*E.coli* interviene secondariamente a *Pneumovirus*), la Peritonite, le Ovariti, l'Osteomielite/Sinovite, le Panoftalminti, le Onfaliti e le Infezioni del sacco vitellino. Nei Mammiferi, le Colibacillosi sono soprattutto malattie primarie dell'apparato gastro-enterico; nel pollame, invece, si manifestano soprattutto come forme morbose secondarie, sistemiche o locali, che intervengono quando il sistema immunitario è depresso o danneggiato.

La maggior parte dei sierotipi di *E. coli* isolati dal pollame sono patogeni solo per gli uccelli e non determinano infezioni gravi in altre specie animali e nell'uomo. D'altro canto, però, i polli, sono sensibili ad *E coli* O157:H7, sierotipo entero-emorragico patogeno per l'uomo (Barnes *et al.*, 1997).

- **Eziologia.** *Escherichia coli* è un germe bastoncellare, Gram negativo, asporigeno, con dimensioni mediamente comprese tra 2-3x0,6 µm. Molti ceppi sono mobili per flagelli peritrichi. Cresce bene sui comuni terreni di coltura a valori di temperatura compresi, generalmente, tra 18-44°C (Asdrubali *et al.*, 1997). Su piastre di agar sangue incubate per 24 h a 37°C, le colonie appaiono basse, convesse, lisce e incolori. Esse hanno generalmente un diametro di 1-3 mm, una struttura granulare e

il margine intero (Barnes *et al.*, 1997). Per il suo isolamento si ricorre a terreni differenziali a diversa selettività, quali il Gassner ed il Mac Conkey. Tra le caratteristiche biochimiche sono da ricordare le seguenti: fermenta il lattosio, il mannitolo ed il glucosio con produzione di gas; produce indolo; non attacca l'urea; non liquefa la gelatina. Sul Kligler non produce H₂S ed è decarbossilasi positivo nei confronti della lisina. Per un procedimento di screening può dimostrarsi utile il test di Eijkman, che prevede una coltivazione del germe a 44°C su brodo bile lattosato di Mac Conkey, con produzione di acido e gas.

Figura 18-*E.coli* (Fonte: homepage.usask.ca)



Escherichia coli possiede tre gruppi antigeni indicati con la formula O, K, H, ove O indica l'antigene somatico, K l'antigene di superficie e H l'antigene flagellare. Ciascun antigene ha una sua propria specificità che può variare da ceppo a ceppo. Ne deriva la possibilità di notevoli combinazioni, rilevabili con i metodi sierologici. Dagli studi sierologici è emerso che, separatamente per ciascuna specie animale, compreso l'uomo e per ciascuna malattia, risultano patogeni sempre gli stessi ben

determinati sierotipi. Nei polli e nei tacchini quelli più facilmente riscontrabili sono: O1, O2, O35, O78 (Asdrubali *et al.*, 1996).

- **Epizootologia.** Gli *E. coli* sono normali abitanti dell'apparato enterico degli animali e dell'uomo e sono diffusi in qualsiasi parte del mondo. La malattia si riscontra prevalentemente nei polli, nei tacchini e nelle anatre. Questo germe è normalmente presente nell'intestino del pollame in concentrazioni superiori a $10^6/g$. Titoli superiori si ritrovano soprattutto negli uccelli più giovani, in quelli in cui ci sono alterazioni della microflora intestinale e a livello dei tratti distali dell'intestino. La sua presenza nell'acqua da bere deve essere considerata indicativa di una contaminazione fecale (Barnes *et al.*, 1997). La trasmissione del germe attraverso le uova è comune e può essere ritenuta una causa di mortalità neonatale elevata. Il riscontro più frequente dei Coliformi patogeni nell'intestino dei pulcini rispetto alle uova da cui essi sono schiusi, fa ritenere che questi germi diffondano rapidamente dopo la schiusa. La contaminazione fecale delle uova, sarebbe seguita dalla penetrazione del germe all'interno attraverso le membrane ed il guscio. I coliformi possono essere riscontrati nella lettiera e nelle feci. La polvere all'interno dei capannoni può contenere $10^5-10^6 E. coli/g$. Questi batteri possono persistere nell'ambiente per molto tempo, specie in condizioni di scarsa umidità. Prove sperimentali hanno evidenziato che inumidendo la polvere con acqua si ottiene una riduzione della carica di *E.coli* del 84-97% in 7 giorni. I mangimi possono essere spesso contaminati con i coliformi patogeni; questi però non sopravvivono alla pellettatura. I roditori spesso eliminano gli *E. coli* con le feci. Infine, una ulteriore fonte di penetrazione dei germi nell'allevamento è rappresentata dall'acqua di pozzo (Barnes *et al.*, 1997).
- **Sintomi e lesioni.** Oviduttite -Quando *E. coli* infetta l'apparato respiratorio degli uccelli, la lesione principale è caratterizzata da una aerosacculite che spesso si estende anche agli organi adiacenti. E' questo il caso in cui l'infiammazione del sacco aereo addominale sinistro nelle ovaiole in deposizione può determinare una oviduttite cronica; le lesioni che si osservano in questi casi si caratterizzano per la presenza di una grande massa caseosa nell'ovidutto che appare dilatato e manifesta un assottigliamento delle pareti. La massa caseosa contiene numerosi eterofili in necrosi e batteri che persistono a questo livello anche per mesi. Le dimensioni della massa caseosa possono aumentare con il tempo. Gli uccelli infetti frequentemente muoiono durante i primi 6 mesi successivi all'infezione; quelli che sopravvivono,

entrano in deposizione raramente. L'ovidutto di galline, anatre e oche in deposizione può inoltre contaminarsi per via ascendente attraverso la cloaca. La reazione tissutale nell'ovidutto è sorprendentemente leggera, e consiste in larga misura nell'accumulo di eterofili proprio sotto l'epitelio. La presenza degli *E. coli* a livello dell'ovidutto, sembra essere associata con l'elevata attività estrogenica dell'organo. L'infezione può essere sperimentalmente riprodotta inoculando dosi molto elevate di *E. coli* (10^9) nell'ovidutto. Impianti di stilbestrolo aumentano la sensibilità all'infezione e provocano un aumento del numero dei coliformi a livello dell'organo (Barnes *et al.*, 1997). Peritonite-E' un'infezione delle galline in deposizione, caratterizzata alla necropsia dalla presenza di residui di tuorlo, di materiale caseoso o di liquido lattiginoso nella cavità addominale o localizzati intorno all'ovaio e all'ovidutto. L'infezione si verifica quando *Escherichia coli*, penetrato dalla cloaca, risale attraverso l'ovidutto e si moltiplica nel materiale del tuorlo di follicoli ovarici che accidentalmente cadono nella cavità peritoneale. La mortalità in alcuni allevamenti può raggiungere l'1% (Asdrubali *et al.*, 1996).

- **Diagnosi.** Il riscontro batteriologico dell'*Escherichia Coli* è indispensabile. L'isolamento di tale germe viene fatto su Mac Conkey, su Levine, Agar Eosina Blue di metilene (EMB agar) o su Gassner, mentre per l'identificazione biochimica si ricorre al test IMVIC (Indolo, Rosso Metile, Voges Proskauer, Citrato). L'identificazione sierologica può essere effettuata solo da laboratori specializzati (Asdrubali *et al.*, 1996). Molti altri microrganismi possono causare lesioni simili a quelle descritte per *E. coli*. Sinovite e artrite possono essere causate da virus, Micoplasmi, Stafilococchi, Salmonelle, *Streptobacillus moniliformis* e altri microrganismi. Una grande varietà di batteri quali ad esempio *Aerobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., Salmonelle, *Bacillus* spp., Stafilococchi, Enterococchi o Clostridi vengono isolati frequentemente (spesso in coltura mista) da sacchi vitellini di embrioni e dai polli. La pericardite può essere causata anche dalla Clamidia, mentre la peritonite può talvolta essere indotta da Pasteurelle o Streptococchi. L'aerosacculite può essere causata da vari batteri, Micoplasmi e Clamidie. Patologie acute setticemiche possono essere causate da Pasteurelle, Salmonelle, Streptococchi e altri microrganismi. I granulomi del fegato possono formarsi a seguito dell'azione di batteri anaerobi appartenenti al genere *Eubacterium* e *Bacterioides* (Barnes *et al.*, 1997).

- **Profilassi e terapia.** La profilassi deve essere attuata:
 - a livello di allevamenti da riproduzione, mediante frequente raccolta e fumigazione delle uova;
 - a livello di incubatoio, attraverso l'applicazione rigorosa delle misure igieniche abituali (eliminazione delle uova sporche, dipping, fumigazioni);
 - a livello degli allevamenti, evitando le condizioni sfavorevoli che predispongono alla comparsa della malattia. Ciò si può ottenere allevando un numero ottimale di soggetti per mq, attuando efficaci ricambi d'aria, ricorrendo ad un'adeguata alimentazione, facendo un uso oculato dei vaccini vivi utilizzati nella profilassi delle altre malattie ed effettuando, durante i vuoti sanitari, accurate pulizie e disinfezioni. Come disinfettanti si usano i saponi a base di fenolo o di cresolo, il lisoformio, i composti di cloro o di iodio.

E' da sottolineare come sempre più di frequente si ricorra alla vaccinazione impiegando vaccini inattivati preparati con i sierotipi più diffusi (O2:K1 ed O78:K80 per polli e tacchini e O78 per le anatre), somministrati per via sottocutanea. Tali prodotti immunizzanti sono spesso costituiti da associazioni con altri antigeni di natura batterica o virale.

La terapia è basata sull'impiego di antibiotici e dei furanici. Purtroppo la sensibilità dei ceppi di *Escherichia coli* verso gli antibiotici più usati si è andata gradualmente modificando, fino a scomparire per alcuni di essi. Per questo è opportuno eseguire un antibiogramma prima di iniziare il trattamento. I sulfamidici, da soli, in genere hanno scarso effetto, a causa della frequenza con cui vengono utilizzati come anticoccidici (Asdrubali *et al.*, 1996).

4.3. MICOPLASMOSI

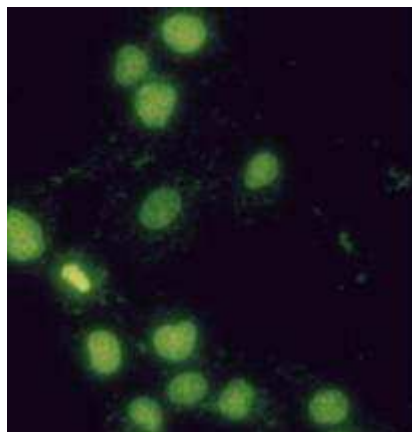
Le Micoplasmosi dei volatili costituiscono un complesso di malattie che si manifestano in forme clinicamente ed anatomo-patologicamente diverse, interessando varie specie di uccelli, primi fra tutti il pollo ed il tacchino. Esse sono sostenute dai più piccoli microrganismi finora conosciuti, parassiti non obbligati della cellula, i Micoplasmi, definiti in passato PPLO (*Pleuro-pneumonia like*

organisms), appartenenti alla classe dei *Mollicutes*, ordine *Mycoplasmatales* (Asdrubali *et al.*, 1996).

Le Micoplasmosi possono decorrere sia in forma manifesta che inapparente e subclinica. Pur variando, a seconda dei casi, il tasso di mortalità, la morbilità è in genere molto elevata, derivandone un danno economico ingente a causa del calo delle produzioni (carne e uova), nonché degli scarti alla macellazione (Asdrubali *et al.*, 1996).

- ***Mycoplasma gallisepticum***. Con il termine di Malattia Cronica Respiratoria (MCR) si intende definire una forma morbosa il cui agente causale primario è rappresentato da *Mycoplasma gallisepticum* (MG). Pur potendo decorrere in forma pura, con sintomatologia respiratoria talvolta modesta, essa riconosce in genere una eziologia più complessa, ove virus e altri batteri, sia pure in tempi diversi, si associano alla azione patogena del Micoplasma e determinano quei gravi quadri morbosi che tanto spesso si osservano nella pratica professionale (Asdrubali *et al.*, 1996).
- **Eziologia.** *Mycoplasma gallisepticum* è di forma pleomorfa, di circa 0,25-0,50 µm; si colora bene con il metodo di Giemsa e di Dienes.

Figura 19-*Mycoplasma gallisepticum* (Fonte: www.morebio.co.kr)



Per la sua crescita sono necessari terreni abbastanza complessi, arricchiti con siero inattivato di suino e di cavallo. Su detti terreni si sviluppano delle piccole colonie generalmente di 100-200 µm di diametro, di forma piuttosto caratteristica (rotonde, sopraelevate, con piccola protuberanza centrale). *Mycoplasma gallisepticum* è coltivato anche su embrioni di pollo, i quali possono venire a morte dopo 5-7 giorni

dall'inoculazione presentando nanismo, edema generalizzato, necrosi epatica e splenomegalia. In genere comunque sono necessari uno o più passaggi prima che si verificano lesioni tipiche. L'inoculazione dell'embrione di pollo è da preferire per il primo isolamento (Asdrubali *et al.*, 1996).

M. gallisepticum è sensibile alla maggior parte dei disinfettanti utilizzati nella pratica. È stato inoltre inattivato con formalina, fenolo, beta-proprilattone e mertiolato. È invece resistente alla penicillina e a basse dosi (1:4000) di acetato di tallio (Ley *et al.*, 1997).

M. gallisepticum rimane vitale nelle feci di pollo per 1-3 giorni a 20°C o 3 giorni su un panno di mussola a 20°C o 1 giorno a 37°C e ben 18 settimane nel sacco vitellino ad una temperatura di 37°C e 6 settimane a 20°C (Ley *et al.*, 1997).

Attualmente si conoscono diversi ceppi di *Mycoplasma gallisepticum*. Di questi il ceppo S6 è il ceppo standard californiano molto patogeno e particolarmente adatto alla preparazione di antigeni. Il ceppo F viene usato, soprattutto negli USA, per la produzione di vaccini vivi, mentre il ceppo R per quelli inattivati.

Mycoplasma gallisepticum fermenta il destrosio ed il maltosio con produzione di acidi, ma non di gas. Non fermenta il lattosio, il dulcitol o la salicina.

Come già accennato, oltre a *Mycoplasma gallisepticum*, altri agenti possono intervenire secondariamente nel determinare il processo morboso. Tra questi è da ricordare soprattutto *Escherichia coli*, il quale è di frequente isolato da animali colpiti dalla malattia, specialmente quando le lesioni di aerosacculite e pericardite fibrinose sono particolarmente accentuate. Altri microrganismi (*Pasteurella multocida*, *Haemophilus paragallinarum* e streptococchi), nonché virus vaccinali e da strada (della Pseudopeste, della Bronchite Infettiva, ecc.) e cattive condizioni ambientali ed alimentari possono intervenire ad aggravare episodi di MCR (Asdrubali *et al.*, 1996).

- **Epizootologia.** La malattia è diffusa in tutto il mondo e anche negli Stati Uniti rappresenta un serio problema per gli allevamenti di polli e tacchini (Ley *et al.*, 1997). *Mycoplasma gallisepticum* si trasmette per via verticale e orizzontale. Nel primo caso un esiguo numero di progenitori infetti può dare origine a numerosissimi discendenti infetti, con notevoli ripercussioni economiche a livello del prodotto commerciale finito. Nei riproduttori l'eliminazione dei Micoplasmi con le uova è massima nelle prime 6-8 settimane dopo l'infezione ed è notevole quindi l'incidenza della malattia nei pulcini nati da uova deposte durante questo

periodo. Successivamente, superata la fase acuta, la frequenza della trasmissione verticale si riduce, senza però cessare del tutto. Ne consegue che la progenie nata infetta in questo periodo è quantitativamente inferiore alla precedente, mentre la maggior parte dei pulcini possiedono anticorpi materni. Ad ogni modo l'introduzione in un allevamento anche di pochi pulcini contaminati rende questi responsabili della diffusione orizzontale della malattia ai soggetti nati sani, i quali ultimi si infettano attraverso l'inalazione di materiale contaminato, sotto forma di goccioline e di polvere presenti nell'aria. E' il caso di sottolineare che in genere i Micoplasmi possono sopravvivere solo pochi giorni al di fuori dell'organismo animale. Non si deve dimenticare infine la modalità di trasmissione per via venerea, attraverso il seme infetto. Il periodo di incubazione della malattia è piuttosto lungo (2-3 settimane) (Asdrubali *et al.*, 1996). Il pollo e il tacchino rappresentano gli ospiti naturali per eccellenza di MG; comunque *M. gallisepticum* è stato frequentemente isolato nel corso di infezioni naturali nel fagiano, pernice chukar, pavone, colino della Virginia, quaglia giapponese, uccelli da voliera, da anatre, da oche e nel tacchino selvatico in soggetti tenuti in cattività. Ci sono numerose segnalazioni di isolamenti di Micoplasmi da uccelli selvatici allo stato brado, ma ancora è da chiarire il reale significato dell'infezione da MG nei volatili selvatici così come resta ancora da definire la patogenicità di MG in molte di queste specie (Ley *et al.*, 1997).

- **Sintomi e lesioni.** I sintomi clinici più caratteristici della malattia nei soggetti adulti sono dovuti all'interessamento del tratto respiratorio ed includono rantoli, scolo nasale e tosse. Si nota anche una diminuzione del consumo di alimento e di conseguenza una perdita di peso degli animali, nelle galline in deposizione si registra inoltre un calo della produzione di uova che di solito rimane su scadenti livelli. Si possono comunque avere degli allevamenti in cui gli animali risultano sieropositivi senza che ci siano i sintomi della malattia; questo si verifica soprattutto se gli animali hanno acquisito l'infezione in giovane età superandola almeno in parte (Ley *et al.*, 1997). Sono stati segnalati casi di cheratocongiuntivite apparentemente causati da MG in galline ovaiole in Giappone insorti già intorno ai 30 giorni di età. I polli all'esame clinico presentavano edema cutaneo a livello della faccia e delle palpebre, profusa lacrimazione, congestione della congiuntiva e rantoli respiratori (Ley *et al.*, 1997).

- **Diagnosi e diagnosi differenziale.** L'anamnesi, il quadro clinico ed i reperti anatomo-patologici possono in genere indirizzare verso una diagnosi di sospetto, visto che altre malattie respiratorie presentano caratteristiche simili. Per emettere una diagnosi di certezza è necessario ricorrere agli esami di laboratorio (colturali, sierologici, istologici). Per l'isolamento del *Mycoplasma gallisepticum* si utilizzano tamponi effettuati dalla trachea, dai sacchi aerei ed eventualmente dai polmoni, nonché il raschiato dell'ovidutto. Il materiale, opportunamente trattato con sostanze inibenti gli altri batteri, viene seminato su particolari terreni artificiali arricchiti con siero di cavallo o di suino, oppure inoculato su uova embrionate di pollo di 5-6 giorni di età. Una volta che sarà stato possibile isolare il Micoplasma si passerà alla sua identificazione. E' chiaro come questa ricerca richieda tempi piuttosto lunghi (circa 20 giorni), per cui essa verrà eseguita non tanto per la diagnostica di routine, ma solo in particolari circostanze, come, ad esempio, quando si vogliono saggiare gruppi indenni per i quali si sospetti l'infezione, oppure per importazioni od acquisti di uova e di pulcini dichiarati *Mycoplasma gallisepticum free*. Più semplici e più rapide sono invece le prove sierologiche. Tra queste, normalmente, viene usata la siero-agglutinazione rapida su piastra, la quale, per la praticità, il basso costo e la buona attendibilità, è la prova più frequentemente eseguita. Come tutti i test, essa deve essere correttamente applicata, poiché l'uso improprio può dare luogo a false risposte positive o negative. Per la sua attuazione esistono oggi in commercio vari antigeni che rispondono in modo soddisfacente. Altri metodi comunemente utilizzati sono l'inibizione dell'emoagglutinazione, che presenta il vantaggio di essere più specifica rispetto alla precedente, la precipitazione in gel di agar e inoltre il metodo ELISA. Per mettere in evidenza l'infezione nelle ovaiole riproduttrici si può utilizzare anche la tecnica dell'embrio-diagnosi, che si basa sull'esame sistematico dei sacchi aerei toracici dei soggetti morti nell'uovo (cosiddette uova beccate). In quella sede, se la morte degli embrioni dipende da una infezione micoplasmica, si osservano lesioni rappresentate da depositi bianco-giallastri, talvolta schiumosi, che rivestono i sacchi aerei stessi. Poiché in genere la Micoplasmosi è complicata, è importante cercare di individuare con opportuni esami di laboratorio gli altri agenti coinvolti negli episodi morbosi (Asdrubali *et al.*, 1996). In sede di diagnosi differenziale l'infezione da *M. gallisepticum* deve essere attentamente distinta da altre frequenti patologie respiratorie del pollo ed in particolare dalla Malattia di Newcastle e dalla Bronchite Infettiva, che possono

presentarsi come patologie a sé stanti o complicare il quadro della MCR. Altre patologie da considerare in sede di diagnosi differenziale sono la Corizza Infettiva ed il Colera Aviario che possono essere diagnosticate tramite l'esame colturale di materiale patologico ed il conseguente isolamento degli agenti eziologici. Il quadro clinico dell'infezione da *M. gallisepticum* può essere simulato anche dal *M. synoviae* che può essere isolato singolarmente o in associazione al primo; in questo caso solo l'uso di adeguati test sierologici e tecniche di isolamento ed identificazione rende possibile una diagnosi certa (Ley *et al.*, 1997).

- **Profilassi e terapia.** La profilassi nei confronti di *Mycoplasma gallisepticum* segue vari indirizzi dei quali vengono indicati i principali.

Gruppi di animali esenti da Micoplasmi

La possibilità di disporre di riproduttori esenti da Micoplasmi è sicuramente il metodo migliore. Per ottenere questo risultato è consigliabile allevare gruppi non eccessivamente numerosi in stretto isolamento, rispettando rigorosamente le norme di profilassi diretta e sottoponendo i soggetti a controlli sierologici periodici.

Prevenzione mediante uso di vaccini vivi

Questo metodo, utilizzato soprattutto negli Stati Uniti, consiste nel vaccinare i volatili con ceppi a bassa virulenza (ceppo F) durante la fase di crescita, in modo che gli animali arrivino all'inizio della deposizione immuni e producano uova esenti da Micoplasmi. Secondo alcuni ricercatori, il metodo non sempre elimina completamente la trasmissione mediante l'uovo.

Prevenzione mediante uso di vaccini spenti

Sono in commercio anche nel nostro Paese vaccini inattivati, emulsionati in adiuvante oleoso, ad elevato potere antigene. Anche con questo sistema non si è riusciti ad eliminare completamente la trasmissione dei Micoplasmi attraverso l'uovo, ma solo a ridurla considerevolmente.

Prevenzione mediante l'uso di antibiotici

- Trattamento delle ovaiole per prevenire la trasmissione attraverso l'uovo. Antibiotici attivi contro *Mycoplasma gallisepticum*, ad esempio l'eritromicina, la tilosina, la spiramicina, la spectinomomicina e l'enrofloxacin possono essere usati periodicamente per ridurre e prevenire la trasmissione ovarica. Ovviamente hanno efficacia solamente quando la trasmissione attraverso l'uovo sta avvenendo e, poiché la loro attività è di breve durata, è

impossibile continuare ad usarli per periodi prolungati, perché costosi e tossici;

- Trattamento delle uova da cova.
- Il metodo più usato sfrutta il principio della pressione differenziale (*dipping*): le uova vengono poste in un recipiente a chiusura ermetica, contenente una soluzione di tilosina. Aspirando l'aria dopo chiusura del recipiente si provoca una depressione all'interno dell'uovo. Con la successiva apertura del recipiente la soluzione antibiotica è aspirata all'interno delle uova, in conseguenza della diminuita pressione in esse provocata. La tilosina, impregnando così le uova, uccide il *Mycoplasma gallisepticum*. Lo stesso risultato si può ottenere immergendo per 15-20 minuti le uova riscaldate a 37°C in una soluzione di antibiotici (tilosina, eritromicina) raffreddata a 2-4°C. Buoni risultati si ottengono anche inoculando direttamente le uova con 2 mg di tilosina tartrato. Anche il riscaldamento graduale di queste a 46°C per 11 ore può determinare l'uccisione dei Micoplasmi. Ad ogni modo con tale sistema si ha una diminuzione della schiudibilità di circa il 10%.

Sempre per quanto riguarda la prevenzione della malattia negli allevamenti, si dovranno tenere presenti le seguenti norme:

- evitare per quanto possibile tutte le cause predisponenti e stressanti, come il sovraffollamento e la cattiva ventilazione dei locali;
- evitare le importazioni indiscriminate da incubatoi o da allevamenti non perfettamente noti;
- cicliare la produzione in modo da ottenere locali vuoti per alcune settimane al termine di ogni ciclo per avere così la possibilità di eseguire accurate pulizie e disinfezioni;
- applicare sistematicamente le reti antipassero;
- applicare scrupolosamente le norme igieniche prima di accedere ai pollai;
- pulire, lavare e disinfettare gli automezzi (Asdrubali *et al.*, 1996).

Prima di iniziare una terapia è bene stabilire quali sono gli agenti in causa. Sarà quindi necessario ricorrere ad un laboratorio, che dovrà effettuare gli accertamenti del caso, dopo di che si potrà intervenire avendo a disposizione diversi mezzi terapeutici che danno in genere buoni risultati; gli antibiotici che si dimostrano

efficaci contro i Micoplasmi sono la tilosina, la spiramicina, l'eritromicina, la kitasamicina, la tiamulina, la spectinomina, l'enrofloxacin e la clindamicina da somministrare nell'acqua da bere, nel mangime o per via parenterale.

Nelle forme complicate da *Escherichia coli* si può intervenire con gli antibiotici aminoglicosidici e con la colistina, somministrati possibilmente per via parenterale (Asdrubali *et al.*, 1996).

4.4. CAMPILOBATTERIOSI

La Campilobatteriosi è una importante zoonosi che colpisce una vasta gamma di animali destinati all'alimentazione o da compagnia, ed inoltre mammiferi e uccelli, esotici o liberi in natura. Focolai di una malattia denominata "Epatite Vibrionica Aviaria" (AVH) sono stati ampiamente documentati nel corso della decade a partire dal 1965. In seguito, questa condizione patologica fu attribuita all'infezione da *Campylobacter jejuni* sebbene i dati epidemiologici dello stesso periodo non confermavano alcuna associazione tra il *C. jejuni* e la classica sindrome caratterizzata da epatopatia. Poiché diverse specie di pollame domestico fungono da serbatoi del *Campylobacter jejuni*, l'infezione assume primaria importanza nel determinismo dell'enterocolite di origine alimentare in consumatori di broilers, tacchini e, potenzialmente, di uova (Shane, 1997).

Nell'ambito del Piano Triennale per la Sicurezza Alimentare della Regione Veneto (DGRV 2224/02) è stata studiata la presenza di *Campylobacter* nel patrimonio zootecnico regionale e sono state rilevate le seguenti prevalenze: 41,8% nei bovini, 87,2% nei polli, 72,9% nei tacchini, 50% nei suini e 14,5% nei conigli (IZSVE, 2009)

- **Eziologia.** I germi appartenenti al genere *Campylobacter* sono piccoli microrganismi bastocellari, Gram- negativi, a forma ricurva o spiraliforme, microaerofili e sono dotati di un singolo flagello polare. I rappresentanti più significativi sono il *Campylobacter jejuni*, il *Campylobacter coli* e il *Campylobacter laridis*.

Figura20-*Campylobacter jejuni*. (Fonte: www.wmin.ac.uk)



In ambiente umido possono sopravvivere fino a 10 giorni; sono molto sensibili ai più comuni disinfettanti. La trasmissione avviene soprattutto tramite le feci. Attualmente il pollo è il principale serbatoio di *Campylobacter* spp. ed in particolare del *C. jejuni*. La recettività è direttamente proporzionale all'età; infatti negli adulti non si osservano forme cliniche manifeste, mentre sono soprattutto sensibili alla malattia i pulcini al momento della schiusa. Questi presentano abbattimento e diarrea acquosa con imbrattamento della cloaca e mortalità, che nelle infezioni sperimentali, può raggiungere il 30% (Asdrubali *et al.*, 1996).

- **Epatite vibrionica.** E' questa una malattia descritta in passato anche nel nostro Paese, la cui eziologia è stata ricondotta al *Campylobacter jejuni*, anche se tentativi successivi per riprodurre tale forma morbosa sono falliti. Il motivo per cui l'Epatite Vibrionica oggi sembra avere un'incidenza minore può, molto verosimilmente, essere messo in correlazione con il fatto che nel suo determinismo entrano in gioco diversi fattori, come avviene nelle patologie sostenute da questo microrganismo in altre specie animali. Alcuni di questi fattori favorevoli potrebbero essere scomparsi anche a motivo dei piani di profilassi intrapresi negli anni negli allevamenti intensivi. L'Epatite Vibrionica colpisce i polli ed è caratterizzata prevalentemente da alterazioni flogistico-necrotiche a carico del fegato (Asdrubali *et al.*, 1996).
- **Epizootologia.** Il contagio avviene prevalentemente tramite le feci degli animali infetti. La trasmissione attraverso l'uovo sembra possibile. In condizioni naturali

vengono colpiti sia polli appartenenti a linee leggere che pesanti. L'incidenza è più elevata negli adulti, dove si osserva con maggior frequenza la forma acuta (Asdrubali *et al.*, 1996).

- **Sintomi e lesioni.** Negli allevamenti colpiti la sintomatologia non è mai molto caratteristica. Nella forma acuta i polli, per lo più in ottimo stato di nutrizione, muoiono nello spazio di poche ore dopo aver presentato debolezza, torpore, astenia e sovente diarrea. Nell'evoluzione cronica il decorso è più lungo e, accanto ad un dimagrimento progressivo, si notano creste piccole, pallide e secche. La morbilità si aggira attorno al 25%, mentre la mortalità può arrivare al 10-15%. Nei soggetti in deposizione si osserva una caduta nella produzione delle uova di circa il 20-35%, senza che si verifichino modificazioni qualitative a carico delle uova prodotte (Asdrubali *et al.*, 1996). Le principali lesioni anatomopatologiche sono evidenti a livello del fegato, che appare aumentato di volume e friabile, con superficie pallida e giallastra ed emorragie isolate o confluenti, frammiste a focolai necrotici grigio-biancastri di varie dimensioni ed a contorni irregolari. L'ovaio appare iperemico (Asdrubali *et al.*, 1996).
- **Diagnosi.** Premesso che la sintomatologia clinica non è caratteristica e le lesioni anatomo-patologiche possono far sorgere soltanto il sospetto della malattia, la diagnosi si basa principalmente sull'isolamento del *Campylobacter* spp., partendo dal fegato, dalla bile o dal sangue. La diagnosi differenziale si pone soprattutto con la Pullorosi-Tifosi, le Paratifosi, il Colera Aviario e l'Epatite a corpi inclusi (Asdrubali *et al.*, 1996).
- **Profilassi e terapia.** Buoni risultati nella terapia contro l'Epatite Vibriosa si ottengono con la somministrazione di una miscela di antibiotici formata da neomicina, ossitetraciclina o clortetraciclina (Asdrubali *et al.*, 1996).

5. MALATTIE DA PROTOZOI

5.1. COCCIDIOSI

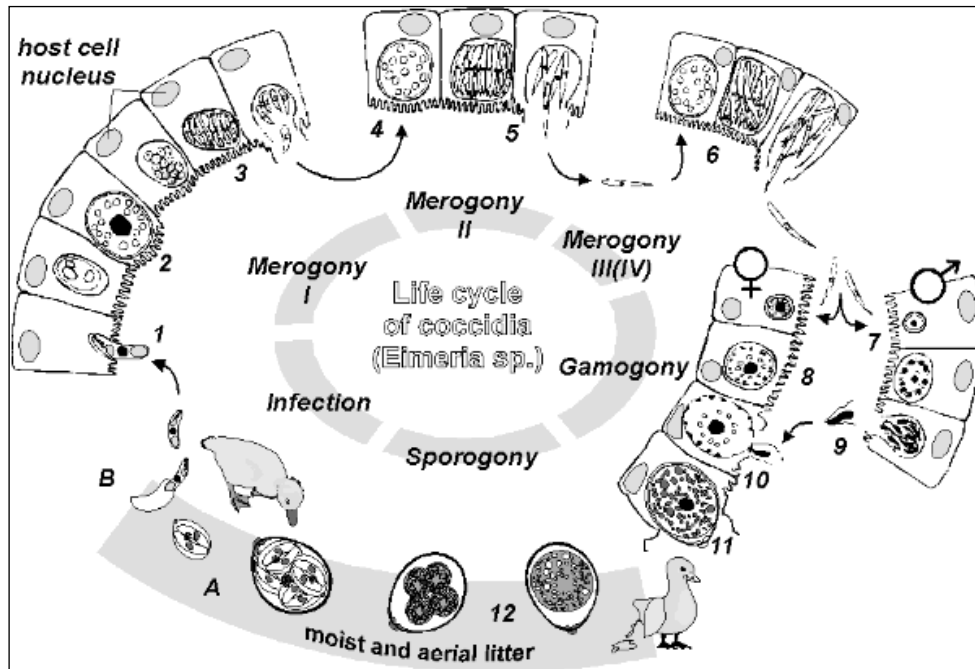
Non v'è dubbio che la Coccidiosi debba essere considerata una delle più importanti malattie dell'allevamento avicolo intensivo. Le stesse caratteristiche morfologiche dei parassiti, in particolare l'esistenza di una fase esogena altamente resistente nell'ambiente esterno, consentono loro di essere ubiquitari. Per i peculiari aspetti epidemiologici la Coccidiosi può essere considerata tipica degli allevamenti ad alto indice di affollamento ambientale, quali sono soprattutto i moderni allevamenti avicoli intensivi, soprattutto a terra. Si può ben dire, pertanto, che senza lotta alla Coccidiosi i livelli della moderna produzione avicola sarebbero impensabili.

I Coccidi sono protozoi appartenenti alla classe *Sporozoa*, i quali a seconda del modo di sporulazione, si distinguono nei generi *Isospora* ed *Eimeria*. E' solo quest'ultimo che interessa i volatili domestici poichè il genere *Isospora* si riscontra negli uccelli selvatici (Asdrubali *et al.*, 1996).

- **Ciclo biologico.** La Coccidiosi è una malattia a carattere autolimitante, per questo differisce dalle malattie batteriche e virali. Il ciclo vitale di *E. tenella* è tipico anche di tutte le altre Eimerie; il numero delle riproduzioni asessuate e la durata delle singole fasi di sviluppo può variare in funzione della specie. Dopo che la parete dell'oocisti viene disgregata nel ventriglio si liberano gli sporozoiti; questi penetrano nelle cellule della mucosa intestinale e iniziano il ciclo riproduttivo. Almeno 2 riproduzioni asessuate, chiamate schizogonia o merogonia, precedono la fase sessuata nella quale piccoli microgameti mobili ricercano e si uniscono ai macrogameti. Lo zigote che ne risulta, forma l'oocisti che, rilasciata dalla mucosa intestinale, si disperde nelle feci. Per ogni singola specie il potenziale riproduttivo di ogni oocisti ingerita è sempre costante. L'intero processo dura diversi giorni, in relazione alle specie; tuttavia le oocisti possono essere eliminate per parecchi giorni anche dopo che la fase di prepatenza è stata raggiunta. In alcune specie (*E. tenella*, *E. necatrix*), il maggiore danno tissutale si verifica quando gli schizonti di seconda generazione si rompono liberando i merozoiti. Altre specie possono avere schizonti piccoli che causano lievi danni, ma essere

caratterizzate da una fase sessuata che provoca una forte reazione con infiltrazione cellulare, ispessimento e infiammazione dei tessuti (McDuogald *et al.*, 1997).

Figura 21-Ciclo biologico di *Eimeria tenella* (Fonte: course1.winona.edu)



- **Correlazione tra Coccidiosi ed altre malattie aviari.** I danni tissutali e le alterazioni funzionali possono portare alla colonizzazione secondaria di alcuni tratti dell'intestino da parte di batteri patogeni quali *Clostridium perfringens*, agente dell'enterite necrotica, o *Salmonella typhimurium*. Le malattie immunodepressive possono aggravare la Coccidiosi. Così, ad esempio, la Malattia di Marek interferisce nello sviluppo dell'immunità nei confronti dei Coccidi, l'infezione intercorrente con il virus della Bursite infettiva (Malattia di Gumboro), rende la Coccidiosi più grave e più difficoltoso il controllo della malattia da parte degli anticoccidici (McDuogald *et al.*, 1997).
- **La Coccidiosi nel pollo.** Nonostante i progressi nella profilassi chemioterapica, nel management, nell'alimentazione e nella genetica, la coccidiosi rimane una delle più comuni e onerose malattie dell'avicoltura moderna. La malattia è spesso diagnosticata nei polli inviati ai laboratori diagnostici, ma la maggioranza dei casi viene direttamente diagnosticata in campo e viene controllata dal personale tecnico (McDuogald *et al.*, 1997). I polli possono essere infettati da nove specie diverse di *Eimeria*: in ordine decrescente di patogenicità, per altro puramente indicativo e senza valore assoluto, sono *E. tenella*, *E. necatrix*, *E.*

brunetti, *E. acervulina*, *E. mivati*, *E. maxima*, *E. hagani*, *E. praecox*, *E. mitis*. Molti sono gli elementi da prendere in considerazione per la distinzione delle varie specie: oltre ad alcuni caratteri puramente morfobiologici (forma e dimensione delle oocisti, tempo di sporulazione, periodo di prepatenza, numero di generazioni schizogoniche) esistono criteri differenziali riguardanti lo stadio di sviluppo maggiormente patogeno, il tratto intestinale colonizzato, l'intensità ed il tipo delle lesioni, il momento "produttivo" che nell'allevamento ciascuna specie coccidica predilige. Ciò comporta, quindi, diversità anche marcate sul piano epidemiologico, sintomatologico e anatomo-patologico (Asdrubali *et al.*, 1996). Sono sensibili all'infezione da Coccidi i polli di tutte le età, riproduttori compresi; l'immunità, tuttavia, si instaura velocemente, limitando ulteriori reinfezioni. I pulcini appena schiusi sono talvolta solo parzialmente sensibili all'infestazione, in quanto producono scarse quantità di chimotripsina e di sali biliari a livello intestinale, necessari per liberare gli sporozoitidi delle oocisti ingerite. La Coccidiosi è comune a 3-6 settimane di età, mentre è rara nei soggetti più giovani. Ripetuti controlli negli allevamenti avicoli della Georgia hanno dimostrato che i Coccidi aumentano progressivamente con l'età degli animali allevati, ma diminuiscono non appena si instaura la risposta immunitaria, che impedisce ulteriori infezioni. Questo aspetto "autolimitante" della Coccidiosi è fenomeno ben noto nel pollo e nel pollame in generale. L'immunità è però specie-specifica e mai crociata, cosicché si possono ripresentare diversi casi di coccidiosi nello stesso gruppo, qualora fossero coinvolte più specie di *Eimeria*. I gruppi di giovani riproduttori e quelli di pollastre sono i più a rischio, essendo allevati su lettiera permanente per 20 settimane o più. Di norma la Coccidiosi da *E. acervulina*, *E. tenella* ed *E. maxima* compare a 3-6 settimane di età, mentre quella da *E. necatrix* è più tardiva (8-18 settimane). Le galline ed i riproduttori adulti raramente si ammalano, in quanto sviluppano una immunità protettiva, conseguente a precedenti contatti con i parassiti. A volte, però, tale immunità può venir meno a seguito dell'azione di agenti immunodepressivi o perché gli animali vengono a contatto con una specie di Coccidio con la quale non si erano mai infettati. Le ovaiole, in questi casi, qualunque sia la specie di *Eimeria* in causa, riducono o sospendono l'ovodeposizione anche per parecchie settimane. L'ingestione di oocisti sporulate e vitali è la sola via naturale di infezione. I polli infetti eliminano oocisti, attraverso le feci, per molti giorni o addirittura settimane. Le oocisti nelle feci diventano

infettanti dopo la sporulazione, che si completa entro 48 ore. I polli, essendo coprofagi, ingeriscono le oocisti direttamente dalla lettiera. Le oocisti sono considerate in generale resistenti sia a condizioni ambientali estreme sia ai disinfettanti; naturalmente i tempi di sopravvivenza variano a seconda delle condizioni in cui sono poste. Nel terreno esse possono rimanere vitali per molte settimane, nella lettiera sono invece inattivate in pochi giorni dai composti ammoniacali che vi si liberano e dalla flora batterica. Oocisti ancora infettanti sono comunque state rinvenute nella polvere depositata all'interno ed all'esterno dei locali di allevamento, nonché negli insetti che popolano la lettiera. La trasmissione da un allevamento all'altro è facilitata dallo scambio di attrezzature e personale, e dalla migrazione degli uccelli selvatici, che diventano diffusori (non moltiplicatori) di oocisti. I Coccidi possono essere riscontrati in ogni allevamento avicolo del mondo. La loro stretta ospite-specificità esclude gli uccelli selvatici come fonte di infezione; la più comune via di diffusione è quella meccanica, attraverso il personale che frequenta gli allevamenti. Le infezioni coccidiche sono autolimitanti e dipendono dal numero delle oocisti ingerite e dallo stato immunitario dell'ospite. Indagini compiute in Nord e Sud America evidenziano la presenza di coccidi in tutti gli allevamenti di boiler; anche in Europa la percentuale dei gruppi positivi, è molto alta. Le oocisti nelle lettiere e nelle feci dei broilers sono generalmente più numerose a 4-5 settimane di età e decrescono poi successivamente. Quando invece i polli vengono allontanati dall'allevamento, si rinvencono poche oocisti sulla lettiera e nelle feci rimaste, perché queste non costituiscono un ambiente ideale per la loro sopravvivenza. La natura ubiquitaria dei coccidi del pollame preclude la possibilità di una loro eliminazione o prevenzione mediante la sola profilassi igienica (quarantena, disinfezioni ecc.) (McDuogald *et al.*, 1997).

- *Eimeria acervulina* Le oocisti hanno forma ovoidale e spesso mostrano un assottigliamento della parete al polo acuto. Mediamente hanno dimensioni di 18.3 x 14.6 μm con un *range* di 17.7-20.2 x 13.7-16.3 μm (McDuogald *et al.*, 1997). *Eimeria acervulina* si riscontra soprattutto nelle galline in deposizione, in cui dà luogo ad una sintomatologia clinica poco caratteristica, contraddistinta da anoressia, diarrea, dimagrimento e calo della ovodeposizione. Raramente provoca la morte (Asdrubali *et al.*, 1996). Le lesioni spesso possono essere già individuate dalla superficie della sierosa dell'intestino tenue. La mucosa intestinale può inizialmente mostrarsi sottile e coperta da placche biancastre che tendono a

disporsi trasversalmente dando l'impressione di formare una smagliatura. L'intestino può essere pallido e contenere liquido acquoso. Nelle infezioni lievi le lesioni macroscopiche si limitano all'ansa duodenale, con poche placche per centimetro; nelle forme più gravi può esservi una diffusione delle lesioni all'intero intestino tenue, con placche che possono sovrapporsi o confluire; in questo caso, a causa del loro grande numero, queste ultime sono generalmente di piccole dimensioni. Le lesioni sono provocate dagli schizonti, e dai gametociti. Questi formeranno oocisti che potranno essere facilmente evidenziate mediante esami microscopici effettuati su strisci della mucosa intestinale. All'esame istopatologico, nell'intestino tenue si rilevano i gametociti ovoidali stipati nelle cellule della mucosa dei villi. Nelle infezioni moderate e gravi, le estremità dei villi appaiono troncate; si osserva, inoltre, la fusione della porzione basale dei villi e l'ispessimento della mucosa. Alcune cellule possono contenere più di un parassita. I microgameti e le oocisti in via di sviluppo, a causa del notevole contenuto in polisaccaridi, appaiono di colore rosso vivo se colorati con il metodo Schiff (McDuogald *et al.*, 1997).

- *Eimeria brunetti* Le oocisti di *E. brunetti*, che mediamente hanno una dimensione di 24.6 x 18.8 µm, sono facilmente confondibili con quelle di *E. tenella*. Questa specie si localizza nella parte distale dell'intestino tenue, generalmente dal diverticolo di Meckel fino ai ciechi. Nei casi gravi le lesioni si estendono dal ventriglio alla cloaca, ciechi compresi. Il più delle volte le infezioni di campo sono difficilmente riconoscibili se ci si basa solo sulle lesioni macroscopiche e possono essere confermate solamente con l'aiuto del microscopio (McDuogald *et al.*, 1997). *Eimeria brunetti* sembra colpire prevalentemente le pollastre da rimonta. I segni sono quelli generici di una diarrea debilitante accompagnata da inappetenza, cui può far seguito un ritardo nell'inizio dell'ovodeposizione (Asdrubali *et al.*, 1996). Negli stadi iniziali dell'infezione, la mucosa della porzione distale dell'intestino può presentare sulla superficie numerose piccole petecchie, ed essere irregolarmente ispessita e depigmentata. Nelle infezioni gravi essa è pesantemente danneggiata e dal 5°-7° giorno dopo l'infezione (PI) appare necrotica, completamente erosa in superficie e cosparsa di frustoli di sangue coagulato. Nelle infezioni gravi, dopo il 6° giorno dall'infezione, si riscontra ispessimento ed edema della mucosa. Gli stadi assessuati della prima e seconda generazione schizogonica, generalmente si rinvencono nel tratto

prossimale craniale dell'intestino tenue. Al 4 giorno PI l'esame istologico mette in evidenza schizonti, infiltrati cellulari e qualche lesione alla mucosa. Dal 5° giorno molti apici dei villi scompaiono, i merozoiti invadono l'epitelio e danno origine alla moltiplicazione sessuata nell'ultimo tratto del tenue e nei ciechi. Nei casi gravi i villi risultano completamente denudati e talvolta residuano solo le membrane basali (McDuogald *et al.*, 1997).

- **Diagnosi delle coccidiosi.** La coccidiosi può essere facilmente diagnosticata sottoponendo ad immediata necropsia un volatile a tale scopo sacrificato es. esaminando l'intero intestino. Spesso i tentativi di identificare le lesioni caratteristiche negli animali morti da più di un'ora sono frustrati dalle alterazioni cadaveriche, che nell'intestino, intervengono precocemente. L'ausilio di un microscopio è indispensabile per identificare specifiche caratteristiche utili ai fini diagnostici, quali ad esempio i grossi schizonti di *E. necatrix* o le piccole oocisti rotonde di *E. mitis*. La presenza di un modesto numero di oocisti al controllo copromicroscopico è indice di infezione, ma non è sufficiente per una diagnosi clinica di coccidiosi. I Coccidi sono presenti nell'intestino della maggior parte dei polli allevati tra le 3 e le 6 settimane di età, ma la Coccidiosi può essere diagnosticata solo se sono presenti gravi lesioni macroscopiche o se peggiorano i parametri zoeconomici. La diagnosi deve essere effettuata non controllando i soggetti di scarto, ma ricercando le lesioni tipiche e confermando microscopicamente la presenza di stadi evolutivi dei parassiti nei polli più rappresentativi del gruppo (McDuogald *et al.*, 1997).
- **Prevenzione e controllo della coccidiosi.** Per poter prevenire e controllare le coccidiosi è necessario intervenire da un lato attraverso razionali criteri gestionali dell'allevamento, dall'altro con l'uso calcolato di principi attivi ed eventualmente con metodi immunologici. E' infatti molto importante curare le condizioni igienico-ambientali degli animali, specialmente di quelli allevati a terra. Quando in un allevamento si verificano eccesso di umidità, insufficiente ricambio d'aria, sovraffollamento, riutilizzo improprio della vecchia lettiera, squilibri alimentari, è piuttosto probabile che insorga un episodio di Coccidiosi. Il controllo sistematico delle condizioni igienico-ambientali non è comunque sufficiente ad impedire la comparsa della malattia, in particolare, come già accennato, negli animali allevati a terra su lettiera. Per poter razionalmente controllare la Coccidiosi è pertanto necessario ricorrere anche all'uso di farmaci anticoccidici; il binomio

“anticoccidici-ambiente”, infatti, rimane attualmente la migliore arma a disposizione dei tecnici avicoli per combattere questa terribile malattia (Asdrubali *et al.*, 1996). Negli ultimi tempi per stimolare una risposta immunitaria si è diffuso l’uso di vaccini preparati con ceppi attenuati di Coccidi da somministrare nei primi giorni di vita. E’ ora disponibile, infatti, sul mercato europeo un vaccino vivo attenuato costituito da una sospensione stabilizzata di oocisti sporulate di 7 specie di Eimeria (*E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. praecox*, *E. tenella*), che parassitano i polli domestici. Può essere somministrato ai polli da carne nell’acqua da bere a 5-9 giorni di età così come ai soggetti destinati alla produzione di uova da cova o da consumo sempre con le medesime modalità, usando la precauzione che nel mangime non siano contenuti farmaci anticoccidici. L’attenuazione del ceppo vaccinale è stata ottenuta con la selezione di linee precoci, le quali hanno un ciclo biologico più breve rispetto a quello dei ceppi di campo, senza che il potenziale immunogeno ne risenta ed inoltre le caratteristiche risultano notevolmente stabili, una volta acquisite nella loro forma definitiva (Asdrubali *et al.*, 1996).

6. MALATTIE ELMINTICHE

Le Elmintiasi sono infestioni abbastanza diffuse nelle specie aviarie e si deve tuttavia tener conto, per giudicarne la portata, non solo delle condizioni dell'allevamento, ma anche del suo indirizzo produttivo in funzione del ciclo biologico dei parassiti. Molti di questi, infatti, necessitano di ospiti intermedi che raramente si trovano nell'ambiente degli allevamenti intensivi: è chiaro perciò che Elmintiasi a ciclo indiretto sono divenute meno frequenti in seguito all'applicazione delle moderne tecnologie avicole. Così pure notevoli differenze, anche quando il ciclo è diretto, si avranno tra allevamenti in gabbia e allevamenti a terra, vista l'importanza epizootica della contaminazione fecale che nei secondi assume grande rilievo.

Un'ultima annotazione riguarda l'allevamento dei broilers: in questo caso è la brevità del ciclo produttivo a rendere molto spesso non rilevante il problema delle elmintiasi sia pure a ciclo diretto, dato che in ogni caso i tempi biologici degli elminti appaiono relativamente lunghi (Ambrosi *et al.*, 1996).

6.1. NEMATODI

I Nematodi costituiscono il gruppo più importante di elminti parassiti dei polli che, sia per quanto riguarda il loro numero sia per l'intensità dei danni prodotti, supera di gran lunga i Trematodi e i Cestodi (Ruff *et al.*, 1997).

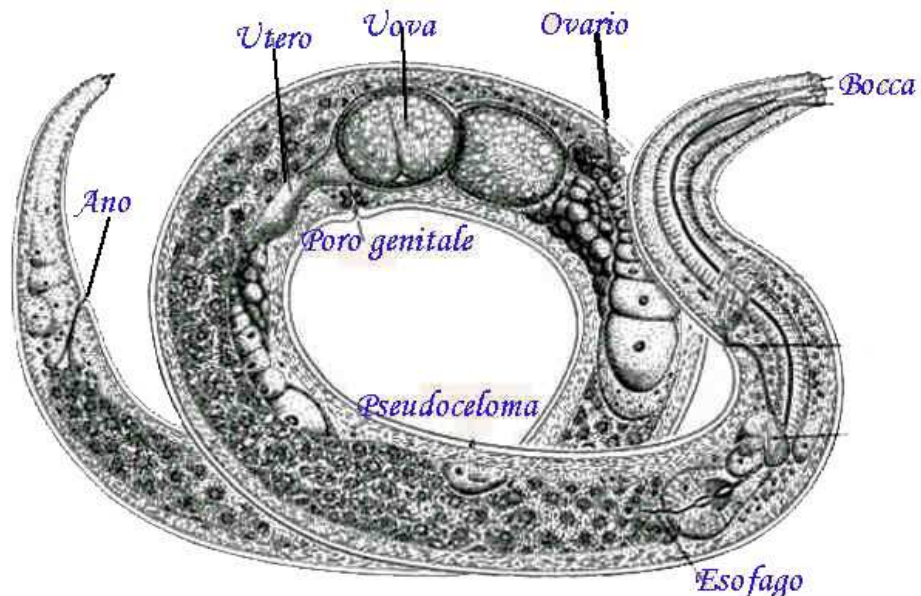
I Nematodi, o vermi tondi, sono di norma cilindrici con le estremità anteriore e posteriore affusolate. Lo strato che li ricopre, detto cuticola, è spesso segnato da solchi trasversali. Processi della cuticola, o ali, possono essere presenti all'estremità anteriore (ali cervicali) o posteriore (ali caudali) del corpo. Le ali caudali si trovano sulla coda dei maschi e, in certi gruppi, sono modificate a formare la borsa caudale. Altri processi della cuticola sono occasionalmente presenti all'estremità anteriore e possono assumere la forma di spine, cordoni o scudi.

L'apertura boccale, localizzata all'estremità anteriore del corpo, è di norma circondata da labbra su cui si trovano organi di senso. Nella maggior parte dei Nematodi, la bocca si apre direttamente in una cavità posta anteriormente

all'esofago. In alcuni gruppi più specializzati la cavità boccale può essere notevolmente ridotta o essere addirittura assente. L'esofago può essere semplice (cioè costituito da un unico tratto), o più complesso (costituito cioè di una corta parte muscolare anteriore, e di una parte posteriore più lunga, ghiandolare). All'estremità posteriore dell'esofago può trovarsi anche un bulbo. All'esofago fa seguito l'intestino che è collegato, mediante un breve retto, con l'apertura anale o cloacale posta all'estremità posteriore del verme.

Tranne rare eccezioni i nematodi hanno sessi separati. Il dimorfismo sessuale è notevolmente pronunciato in alcune specie, come *Tetrameres americana*, in cui il maschio, di forma sottile e allungata, è molto più piccolo della femmina che ha invece una forma globosa. In genere il maschio si distingue dalla femmina per la presenza di due (raramente una) strutture chitinee dette spicoli, localizzate all'estremità posteriore del corpo. Gli spicoli sono considerati organi di penetrazione utilizzati durante la copula per mantenere aperto l'ostio vulvare e la vagina e, in qualche caso, per canalizzare lo sperma all'interno del corpo della femmina. Le uova o le larve vengono eliminate attraverso la vulva, la cui posizione varia considerevolmente nei diversi gruppi di Nematodi (Ruff *et al.*, 1997).

Figura 22-Organizzazione di un Nematode (Fonte: www.anisn.it)



I Nematodi dei polli possono avere un ciclo biologico diretto o un ciclo indiretto; circa la metà di essi non ha bisogno di un ospite intermedio invertebrato, mentre

l'altra metà dipende dalla presenza di un ospite intermedio rappresentato da insetti, lumache o chiocchie per una parte del suo sviluppo.

Di norma i Nematodi attraversano quattro stadi prima di raggiungere lo stadio adulto (quinto stadio). I vari stadi sono preceduti dalla perdita della cuticola (muta). In alcuni Nematodi la perdita della cuticola è ritardata così che questa svolge una funzione protettiva, mentre in altri casi la perdita è immediata.

Le uova vengono deposte nella sede definitiva della femmina adulta e raggiungono l'ambiente esterno insieme alle feci dell'ospite. Il soggiorno in ambiente esterno è essenziale perché le uova possano svilupparsi fino a raggiungere lo stadio infettante per l'ospite definitivo o per l'ospite intermedio. Infatti, le condizioni all'interno dell'ospite sono inadatte allo sviluppo dell'uovo, mentre quelle esterne, se si raggiungono umidità e temperatura ottimali, permettono il suo sviluppo. Le uova di alcuni Nematodi richiedono solo due o tre giorni per embrionare, altri necessitano di alcune settimane. Nel caso di Nematodi a ciclo diretto, l'ospite definitivo si infetta ingerendo le uova embrionate o le larve infettanti libere. Nel caso di Nematodi a ciclo indiretto, invece, è l'ospite intermedio ad assumere le forme infettanti trattenendo le larve nei tessuti corporei. L'ospite definitivo si infetta sia ingerendo gli ospiti intermedi infetti, sia mediante la puntura degli ospiti intermedi che inoculano le forme infettanti nel torrente circolatorio quando consumano il pasto di sangue (Ruff *et al.*, 1997).

- a) **Ascaridiosi.** Gli uccelli domestici possono essere infestati da diverse specie di Ascaridi; il più grande tra essi è l'*Ascaridia galli*, che è anche il più diffuso, parassitando polli, tacchini e faraone; altre specie sono rappresentate da *Ascaridia columbae*, parassita dei piccioni, *Ascaridia numidae*, parassita delle faraone, *Ascaridia dissimilis*, parassita dei tacchini, *Ascaridia compar*, pure parassita dei polli. Come tutti gli Ascardidi, hanno ciclo diretto e compiono lo sviluppo larvale all'interno dell'uovo rimanendo quindi protetti dallo stesso guscio. La mancanza di ospiti intermedi ne rende facile la presenza anche negli allevamenti intensivi a terra. L'infestazione avviene per os con l'ingestione di uova contenenti le larve: queste si liberano nell'apparato digerente, ma prima di dar luogo alle forme adulte compiono una fase transitoria infiggendosi nella mucosa e manifestando a questo stadio una intensa azione patogena. La localizzazione definitiva è nel piccolo intestino: qui i parassiti svolgono una azione irritativa a carico della mucosa,

sottrattiva, tossica e anche meccanica, quando l'intero lume è occupato da grovigli di elminti. Sono più sensibili i giovani, specie quando la dieta è carente di principi vitaminici: ovviamente i segni sono tanto più gravi quanto più è alta la carica parassitaria. Si tratta, peraltro, di sintomi generici, che insorgono un lungo periodo di prepatenza (30-50 giorni) come anoressia, anemia, dimagrimento, ritardo della crescita e diarrea giallastra. Può aversi una certa mortalità nei capi più giovani; nelle femmine adulte l'ovodeposizione è in genere più o meno gravemente compromessa. A causa del lungo ciclo endogeno, per quanto attiene ai polli, l'incidenza è maggiore nelle pollastre e nelle ovaiole piuttosto che nei broilers. Alla necropsia si osserva enterite catarrale o catarrale emorragica. Facile è l'evidenziazione degli Ascaridi adulti, che possono anche ostruire completamente il lume intestinale. In vita l'esame delle feci confermerà la diagnosi con la dimostrazione microscopica delle tipiche uova ovali, a parete liscia e molto spessa: le stesse uova o anche le larve in fase successiva alla L2 saranno visibili nel raschiato della mucosa intestinale. Contro l'Ascariidiosi sono efficaci numerosi antielmintici, come la fenotiazina, la piperazina, il tetramisole, ecc., che possono anche essere miscelati al mangime per la somministrazione orale. Trattamenti periodici si renderanno necessari a scopo profilattico, a intervalli regolari e distanziati. Non bisogna dimenticare tuttavia i problemi igienici: le uova resistono molto a lungo nella lettiera, specialmente se questa è piuttosto umida e l'embrionatura è favorita dalla temperatura ambientale quando è superiore a 19°C. Pertanto, una lettiera asciutta e ben rinnovata, una buona aerazione limitano le probabilità di contaminazione. Il rinnovo della lettiera tra un ciclo e l'altro con radicale pulizia e disinfezioni accurate (nel caso specifico con soluzioni detersive bollenti o soluzioni diluite di acidi forti) ha significato risolutivo (Ambrosi *et al.*, 1996).

b) Capillariosi. E' un'infestazione dovuta a Nematodi filiformi, le Capillarie, appartenenti ai *Trichuridae*. Lunghe qualche centimetro, ma spesse solo poche decine di micron, le capillarie parassitano l'apparato digerente: dato tuttavia che la localizzazione è diversa a seconda della specie parassitaria, si preferisce distinguere una Capillariosi esofagea o del tratto digerente anteriore ed una Capillariosi intestinale o del tratto digerente posteriore. La Capillariosi esofagea è causata da due specie, la *Capillaria contorta*, a ciclo diretto, e la *Capillaria annulata*, a ciclo indiretto con ospite intermedio rappresentato da un lombrico.

L'infestazione avviene per os ed i parassiti si localizzano nell'esofago e nell'ingluvie: la mucosa appare marcatamente ispessita ed in preda ad evidenti fenomeni infiammatori con formazione di essudato mucopurulento e talora anche emorragico. Frequente il reperto di membrane crupali e pseudodifteriche. La prima conseguenza nei soggetti colpiti è la disfagia, con rifiuto degli alimenti asciutti e delle granaglie, cui fanno seguito dimagrimento e anemia sempre più accentuati. Tipico l'atteggiamento degli animali che stanno col collo arcuato e la testa spinta in alto, compiendo continui movimenti di deglutizione, tanto da rammentare l'atteggiamento del pinguino. La Capillariosi intestinale è sostenuta da diverse specie tra cui spiccano *C. caudinflata* (*C. longicollis*) e *C. obsignata* (*C. columbae*) che parassitano polli, piccioni, fagiani, tacchini e molte altre specie; insieme alle capillarie su indicate possono essere ricordate *C. retusa* e *C. bursata*. Di tutte queste tuttavia solo *C. obsignata* ha ciclo diretto, mentre le altre necessitano di un ospite intermedio, rappresentato dai lombrichi terrestri; ovviamente quindi solo tale specie ha rilevanza negli allevamenti al chiuso. Una volta ingerite, le Capillarie si localizzano nel piccolo intestino dove provocano processi infiammatori con ispessimento della mucosa ed emorragie sparse. I soggetti malati, specie i giovani che sono i più sensibili, presentano feci ricche di catarro color rosa, poi decisamente acquose, e vanno incontro progressivamente a debilitazione, mentre negli adulti l'ovodeposizione diminuisce notevolmente. La morbilità è elevata e frequenti sono i casi di morte. I segni clinici, sia nella forma esofagea che in quella intestinale, ma soprattutto nella prima, possono essere sufficientemente caratteristici per portare alla diagnosi; la certezza si ha tuttavia soltanto con l'esame necroscopico dei soggetti venuti a morte o sacrificati e con l'esame microscopico a fresco del contenuto intestinale e delle feci che permette di evidenziare le uova dalla caratteristica opercolatura. A parte il reperto anatomicopatologico, i parassiti, anche quando abbandonanti, sono difficilmente osservabili per la loro sottigliezza e per il fatto di trovarsi in stretto rapporto con la mucosa (in pratica con la parte anteriore infissa nel tessuto); si rende così necessaria l'osservazione microscopica a fresco del raschiato della mucosa. Per la profilassi valgono le considerazioni già fatte per le altre elmintiasi a ciclo diretto, soprattutto per quanto riguarda la pulizia, disinfezione e igiene dell'ambiente in generale. Per la terapia si può fare ricorso ad antielmintici specifici come il febantel, e per la

capillariosi intestinale, anche ad antielmintici ad ampio spettro come il tetramisole (Ambrosi *et al.*, 1996).

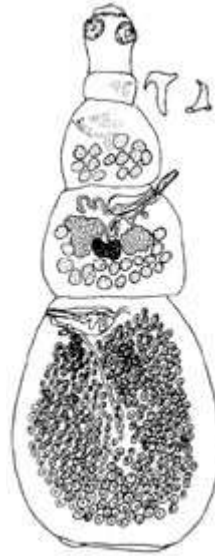
6.2. CESTODI

Dei Cestodi o “vermi a nastro” si conoscono numerose specie parassite degli uccelli domestici come polli, tacchini, fagiani, piccioni, palmipedi, ecc (Ambrosi *et al.*, 1996) (Reid *et al.*, 1997).

Il Cestode adulto è composto da una testa o scolice munita di uncini e ventose che permettono il fissaggio alla parete intestinale, da un collo corto e non-segmentato e da una catena (*strobila*) di segmenti chiamati *proglottidi*. Gli organi per il fissaggio del parassita sono costituiti da quattro ventose disposte attorno allo scolice. In alcuni casi le ventose sono dotate di uncini. Normalmente sulla parte anteriore dello scolice è presente un rostello estraibile che in alcune specie è armato di uno o due file concentriche di uncini chitinosi che aiutano il parassita nell’ancoraggio.

Le proglottidi si formano nella regione del collo e diventano sessualmente mature durante la progressione lungo la strobila. Ogni proglottide è ermafrodita, con gli organi riproduttivi maschili e femminili, semplici o duplicati. Il poro genitale si apre sul margine o ai margini laterali del segmento; sono possibili sia l’autofertilizzazione che la fecondazione crociata. Durante la maturazione della proglottide la sua struttura interna lentamente si modifica e le proglottidi mature o gravide contengono solo dei residui dell’utero ramificato, ripieno di uova. Le proglottidi gravide si staccano dalla strobila e sono espulse con le feci. Nell’ambiente esterno, le uova sono liberate dalla proglottide tramite la disintegrazione del segmento o vengono espulse attraverso il poro genitale (Urquhart *et al.*, 1996).

Figura 23-*Davainea proglottina* (Fonte eimeria.chez-alice.fr)



Si può genericamente suddividere tali specie di parassiti in due gruppi in base alle loro dimensioni: cestodi lunghi almeno qualche centimetro e quindi ben visibili ad occhio nudo, pur non raggiungendo le dimensioni, ad esempio, dei Cestodi dei mammiferi;(generi *Raillietina*, *Davainea*, *Choanotaenia*, *Hymenolepis*, ecc) e cestodi lunghi pochi millimetri e quindi visibili solo con molta attenzione o meglio con il microscopio (soprattutto *Davainea proglottina* e *Amoebotaenia sphenoides*) In ogni caso sono tutti a ciclo indiretto ed necessitano di ospiti intermedi rappresentati da lumache o lombrichi per i piccoli Cestodi e da svariatissimi insetti (mosche, formiche, blatte, tenebrionidi, cavallette, ecc.) oltre che ancora da lombrichi per quelli di dimensioni maggiori. L'infestione avviene, ovviamente, per ingestione dell'ospite intermedio contenente la forma larvale che è di tipo cisticercoide (scolice evaginato incluso in una piccola cisti solida); dato tale meccanismo biologico, ben raramente queste parassitosi si osservano negli allevamenti intensivi. Il periodo di prepatenza è in genere di 2-3 settimane ed anche oltre; il tratto dell'apparato digerente parassitato è rappresentato dal piccolo intestino. Una modesta carica parassitaria passa in genere inosservata, costituendo reperto occasionale di necropsia, mentre una carica elevata, soprattutto nei soggetti di giovane età, può provocare una sintomatologia più o meno rilevante. A causa dei meccanismi irritativi propri dei parassiti si possono riscontrare anoressia, sete intensa, eventuale diarrea giallastra o brunastra; sia per i fatti enterici, che per meccanismi sottrattivi si osservano pallore, debolezza, dimagrimento, sviluppo

ritardato, diminuzione dell'ovodeposizione; per meccanismi tossici infine possono anche manifestarsi sintomi nervosi, tanto eccitativi, quanto depressivi. Rara è la mortalità, ma sensibile l'handicap produttivo.

In vita si può, al massimo, giungere ad una generica diagnosi di elmintiasi; l'esame delle feci non dà molto affidamento, perché l'emissione di proglottidi è irregolare. E' necessario quindi ricorrere all'esame necroscopico, sacrificando, se necessario, qualche soggetto colpito. Facile, aprendo l'intestino, riconoscere i grandi Cestodi; per i piccoli invece, soprattutto per la *Davainea proglottina*, si impone l'esame microscopico a fresco del raschiato della mucosa, effettuato, preferibilmente, nei punti ove questa appare in preda a fatti infiammatori, in genere di tipo catarrale o catarrale-emorragico.

Per quanto riguarda la terapia non mancano medicinali efficaci come il febantel e la niclosamide.

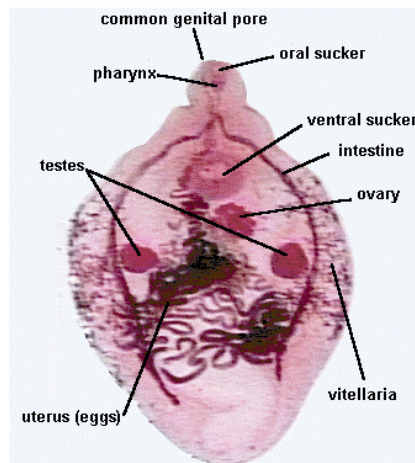
Difficile invece la profilassi; negli allevamenti liberi o semiliberi è problematico combattere gli ospiti intermedi, a meno che non ci si trovi dinanzi ad una infestazione da *Davainea proglottina* o *Raillietina echinobothrida*, che siano di intensità tale da giustificare una lotta molluschicida a base di pentaclorofenolato di sodio sparso in dosi adeguate sul terreno. Negli allevamenti al chiuso è ovviamente necessario condurre una continua lotta agli insetti, giungendo ad un radicale risanamento quando i ricoveri fossero eventualmente invasi da blatte (Ambrosi *et al.*, 1996), (Urquhart *et al.*, 1996).

6.3. TREMATODI

I trematodi sono organismi parassiti piatti a forma di piccola foglia che fanno parte del phylum *Platyhelminthes* di cui costituiscono una classe distinta (*Trematoda*).

Questi parassiti differiscono dai Cestodi (classe *Cestoda*) perché possiedono un apparato digerente, mentre il loro corpo non è diviso in proglottidi.

Figura 24-*Prosthogonimus sp.* (Fonte www.phsource.us)



Il ciclo biologico di tutti i Trematodi parassiti degli uccelli prevede l'intervento di un mollusco come ospite intermedio; alcune specie prevedono anche l'intervento di un secondo ospite intermedio. Dato che i Trematodi e le forme laval metacercarie possono invadere qualunque cavità o tessuto dei volatili, questi parassiti possono inaspettatamente essere ritrovati durante le necroscopie.

Gli ospiti appartengono a quattro ordini: Anseriformi (anatre e oche), Galliformi (polli e tacchini), Columbiformi (piccioni e allies) e Passeriformi (perching birds). I Trematodi possiedono una specificità di ospite inferiore a quella dei Cestodi, per cui i volatili selvatici introducono spesso l'infezione nelle aree dove vengono allevati i polli domestici. Dato che gli stagni e i ruscelli costituiscono l'habitat di molti gasteropodi, le anatre e le oche sono le più colpite da questo tipo di parassiti. Il Trematode dell'ovidutto *Prosthogonimus sp.* che parassita molte specie di volatili selvatici, a volte può determinare dei problemi anche nelle anatre e nei polli.

Esso è in grado di infliggere danni economici agli allevatori di polli sia per la diminuzione consistente della produzione delle uova quando l'infezione è recente, sia per il fatto che alcuni parassiti possono ritrovarsi all'interno delle uova, determinando quindi una reazione sfavorevole da parte dei consumatori.

Gli adulti eliminano continuamente le uova che raggiungono l'esterno insieme alle feci dell'ospite. Queste contengono un embrione il quale sviluppa fino a formare uno stadio larvale a cui viene dato il nome di miracidium. In questo gruppo di Trematodi, il miracidium schiude dall'uovo dopo che questo è stato ingerito dall'ospite intermedio rappresentato da un gasteropode. Lo sviluppo larvale prosegue all'interno della lumaca attraverso una successione di stadi noti come sporocisti e cercarie. Le cercarie fuoriescono dalla lumaca e nuotano nell'ambiente

acquatico. Alcune vengono aspirate all'interno delle sacche branchiali di naiadi (stadi larvali che precedono lo stadio di ninfa) di libellule. Le cercarie si incistano (metacercarie) e rimangono nell'insetto fino a quando la naiade o l'adulto non vengono ingerite dall'ospite definitivo.

Per quanto riguarda il controllo, quando è noto il tipo di ciclo biologico e compaiono danni effettivi, semplici cambiamenti del sistema di allevamento possono aver ragione del problema. Per esempio, nel caso del Trematode dell'ovidutto, la semplice recinzione del gruppo di polli in modo da impedire loro l'accesso alle rive dei laghetti o dei ruscelli dove vivono le libellule naiadi.

La chemioterapia per il controllo o la prevenzione delle infezioni da Trematodi non è autorizzata nel pollame (Reid *et al.* 1997).

7. MALATTIE DA ARTROPODI

Numerosi sono gli Artropodi che hanno interesse in patologia aviaria. La lotta contro questi parassiti rappresenta in avicoltura un problema di primaria importanza e di vaste proporzioni, tanto più che l'allevamento intensivo ha accentuato, nella maggior parte dei casi, l'incidenza e la diffusione delle infestazioni (Principato *et al.*, 1996).

- **Classificazione**

Gli ectoparassiti dei polli fanno parte del phylum *Arthropoda*; sono caratterizzati da un corpo segmentato, arti articolati e da un esoscheletro chitinoso. L'adattamento alla vita parassitaria ha determinato molte modificazioni morfologiche e la scomparsa di alcuni caratteri, per cui a volte il riconoscimento della specie può essere difficile.

-Classe *Arachnida* (acari)

Gli acari appartengono alla classe *Arachnida*, ordine *Acarina*, e sono caratterizzati dal fatto che le parti del loro corpo sono indistinte, non possiedono antenne, e hanno quattro paia di arti (le prime forme larvali mobili ne possiedono invece tre paia).

Le zecche sono acari di dimensioni molto grandi, al contrario degli altri membri di questo ordine i quali in genere sono molto più piccoli della maggior parte degli insetti. Gli *Acarina* non possiedono mai ali (Arends, 1997).

-Classe *Insecta* (pulci, cimici, pidocchi)

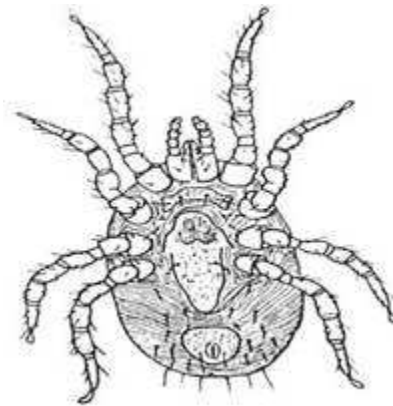
Elementi caratterizzanti sono il corpo diviso in tre regioni (testa, torace e addome), la testa fornita di un paio di antenne, tre paia di arti che si dipartono dal torace e la presenza di strutture tubolari (trachee) che servono per la respirazione. Alcuni insetti adulti sono dotati di ali. Gli insetti vanno incontro a metamorfosi durante il loro ciclo di vita, e perciò gli stadi immaturi possono avere un aspetto completamente diverso da quello degli adulti, tanto da non possedere alcuna delle caratteristiche che abbiamo elencato come proprie della classe *Insecta*; per esempio alcune larve di mosche non possiedono arti, né antenne, né il loro corpo appare suddiviso in parti. I pidocchi, viceversa, si riconoscono facilmente come insetti, indipendentemente dallo stadio di sviluppo (Arends, 1997).

7.1. ACARI

Tra gli acari parassiti a vita libera dei polli che appartengono alla famiglia *Dermanyssidae* vi sono l'acaro comune dei polli *Dermanyssus gallinae* e l'acaro settentrionale *Ornithonyssus sylviarum*. Possiedono placche dorsali e ventrali relativamente ben sclerotizzate, uncini e caruncole sui tarsi, uno stigma lateroventrale in prossimità di ciascuna terza coxa, piccoli cheliceri su lunghe guaine (Arends, 1997).

- **Acaro comune dei polli.** L'acaro comune dei polli (*Dermanyssus gallinae*), detto anche acaro rosso o acaro dei pollai ha una diffusione cosmopolita. Lo si riconosce per la forma caratteristica dello scudo dorsale e per i lunghi cheliceri a forma di frusta che hanno l'aspetto di stiletti. Le femmine adulte misurano circa 0,7 x 0,4 mm, e hanno un colorito variabile dal grigio al rosso intenso, in dipendenza del loro contenuto di sangue. Il ciclo biologico si può completare in appena 7 giorni.

Figura 25-*Dermanyssus gallinae* (Fonte: www.aries-online.de)



Le femmine adulte depongono uova nell'ambiente circostante l'ospite dopo 12-24 ore dal primo pasto di sangue; le uova schiudono in 48-72 ore quando è caldo. Le larve esapodi non si alimentano e mutano dopo sole 24-48 ore, trasformandosi nelle prime ninfe ematofaghe; queste a loro volta mutano nelle seconde ninfe nel giro di altre 24-48 ore e subito dopo mutano ancora in adulti. Questi ultimi sono in grado di sopravvivere anche per 34 settimane senza alimentarsi. Sebbene i polli siano gli

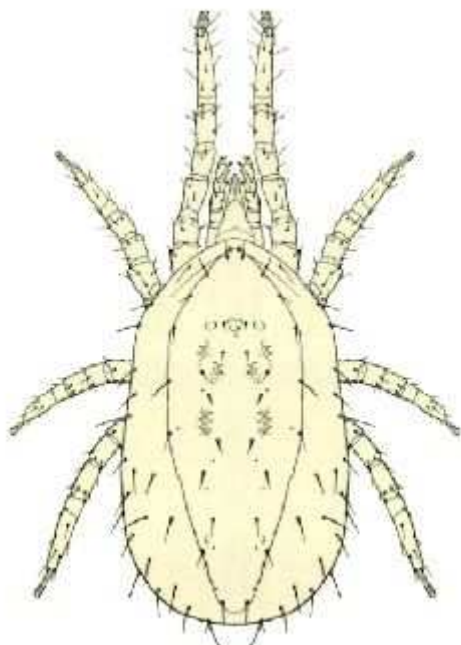
ospiti più comuni, *Dermanyssus galline* può infettare anche i tacchini, i piccioni, i canarini e diverse altre specie di uccelli selvatici. Anche gli essere umani possono essere attaccati e vengono frequentemente descritte invasioni di ambienti abitati dall'uomo (appartamenti, ospedali, uffici, ecc.) da parte di acari provenienti da vicini nidi di piccioni. I passerini inglesi possono trasmettere questa acariosi per le loro abitudini di costruire i nidi utilizzando le piume dei polli. Gli acari non solo sono in grado di determinare anemia, con ciò causando un gravoso calo delle produzioni e un aumento del consumo del mangime, ma possono essere anche responsabili della morte dei volatili, soprattutto dei pulcini e delle ovaiole. Le galline in produzione possono rifiutarsi di andare a deporre nei nidi infetti. Un aumento del consumo di mangime, accompagnato da un calo della produzione sono i sintomi che inducono l'allevatore a controllare il capannone per scoprire l'eventuale presenza di acari. Questi possono essere messi in evidenza esaminando le zone sottostanti la lettiera, al di sotto dei posatoi nei capannoni dei riproduttori, nelle connessioni dei nidi e nelle fessure delle poste e dei soffitti. I parassiti appaiono come piccoli puntolini rossi o nerastri, spesso ammassati. Per trovare i parassiti sugli animali è necessario esaminare i polli durante la notte. Occasionalmente si possono osservare sui tarsi degli animali e in questo caso bisogna fare attenzione a non confondere l'acaro comune dei polli *Dermanyssus gallinae* con l'acaro settentrionale *Ornithonyssus sylviarum* che può anch'esso ritrovarsi in questa sede (Arends, 1997).

Osservazioni accurate in allevamenti sottoposti a controllo sistematico della produzione hanno consentito di verificare una diminuzione dell'ovodeposizione mediamente del 10-15%. Nelle uova da riproduzione si è avuto un aumento della mortalità embrionale precoce o tardiva e della mortalità neonatale oscillante tra il 10 ed il 40%, mentre nelle uova da consumo si è osservato un calo di peso per sé modesto (mediamente non più di 2 grammi per uovo), ma sufficiente a declassare a categoria di peso inferiore una elevata percentuale di uova (Principato *et al.*, 1996).

- **Acaro settentrionale dei polli.** L'acaro settentrionale dei polli (*Ornithonyssus sylviarum*) è il parassita più comune e più importante in tutte le aree di maggiore produzione degli USA. Il suo ruolo di importante agente parassita è

riconosciuto anche nelle zone temperate di altre regioni. E' estremamente frequente in quasi tutti i tipi di allevamento ed è stato inoltre segnalato in molte specie di uccelli, compresi i polli domestici, i passeri inglesi, gli uccelli selvatici e su ratti ed esseri umani. Questo acaro viene spesso confuso con l'acaro comune *Dermanyssus gallinae*, dal quale può essere distinto per i cheliceri facilmente visibili e dalla forma degli scudi dorsale e anale. A differenza dell'Acaro comune, l'Acaro settentrionale può essere di frequente individuato sui polli non solo durante la notte, ma anche durante il giorno, perché si alimenta continuamente.

Figura 26-*Ornithonyssus sylviarum* (Fonte: www.ento.csiro.au)



Nelle infezioni massive, le piume sono nerastre e la pelle attorno alla cloaca appare piena di scaglie e croste; quando i polli vengono presi in mano, gli acari si spostano velocemente sulle mani e sulle braccia dell'operatore. Scansando le piume si possono vedere i parassiti, le loro uova, il materiale di desquamazione della cute e gli escrementi, sia sulla superficie cutanea che sul piumaggio. Spesso gli allevatori di polli fanno diagnosi di infezione da acaro settentrionale osservando i parassiti che camminano sulle uova. Tuttavia il sistema più corretto per monitorare l'infezione consiste nell'esaminare un campione di 20-60 animali prelevati a caso dal capannone. Si deve esaminare la cloaca delle ovaiole prese dalle gabbie in

modo in modo casuale, così che tutto il capannone sia rappresentato. Gli allevatori di riproduttori di polli e di tacchini devono catturare gli animali da diverse zone del capannone con preferenza per i maschi. Si sottolinea l'importanza di esaminare animali presi da tutte le zone del capannone perché di solito l'infezione ha inizio in una zona e quindi si diffonde successivamente a tutto il resto del capannone. Se i polli vengono osservati a scadenza bimensile, è possibile fermare l'infezione trattando solo un piccolo numero di animali prima che causi rilevanti danni economici.

Il ciclo biologico dell'acaro settentrionale si completa sull'ospite in meno di una settimana. Le uova vengono deposte fra le piume e schiudono dopo un giorno. La larva e i due stadi ninfali sviluppano in meno di 4 giorni. Nelle aree settentrionali la densità degli acari aumenta durante l'inverno, ed è più ridotta in l'estate. Occasionalmente, tuttavia, si possono manifestare gravi episodi di infezione anche durante la stagione calda. Ciò differisce dal comportamento dell'acaro comune dei polli (*Dermanyssus gallinae*) che nelle zone settentrionali è più attivo durante l'estate, mentre è inattivo in inverno. Gli acari possono sopravvivere 3-4 settimane in assenza dell'ospite. L'acaro settentrionale si introduce negli allevamenti di galline ovaiole attraverso quattro vie principali: incubatoi infetti e allevamenti di pollastre; veicoli e contenitori utilizzati per il trasporto di animali a fine carriera o di animali infetti; attrezzature del personale o vassoi e contenitori di uova; uccelli selvatici. Passeri, piccioni, ecc. che nidificano all'interno o in prossimità degli allevamenti possono essere incriminati, anche se prove di infezione sperimentale di polli con l'acaro settentrionale isolato dai passeri non hanno avuto sempre successo. Questi parassiti succhiano il sangue, e le lesioni cutanee che ne derivano alterano l'aspetto del piumaggio dei polli colpiti. Di estrema importanza è l'impatto economico che questi parassiti hanno sulla produzione delle uova di galline allevate in gabbia. Ricerche indicano l'esistenza dei seguenti fattori che influenzano la densità dei parassiti in galline con produzione di uova normale o ridotta: differenze di ceppo o di linea; livelli di corticosterone plasmatico e stress da gabbia; livelli di estrogeni; risposta immunitaria ed ereditabilità genetica. (Arends, 1997)

- **Misure di controllo.** Gli acari sono sensibili alle stesse sostanze insetticide (es. permetrina), che possono essere utilizzate direttamente sugli animali, sulla lettiera, sui nidi, le pareti e le strutture dei capannoni. La strategia di controllo prevede il

monitoraggio accurato degli animali e degli ambienti. Un monitoraggio ben fatto permetterà di diminuire la possibilità di diffusione dei parassiti da un allevamento all'altro attraverso il personale in servizio nell'allevamento o quello occasionale addetto alle riparazioni, attraverso le rimonte o le attrezzature per il trasporto degli animali vivi (Arends, 1997).

7.2. INSETTI

7.2.1. PIDOCCHI

I pidocchi sono parassiti esterni comuni dei volatili. Appartengono all'ordine dei *Mallophaga* (Pidocchi masticatori) e sono caratterizzati dal possedere mandibole di tipo masticatorio sulla parte ventrale della testa, da metamorfosi incompleta, dall'assenza di ali, da un corpo appiattito in senso dorsoventrale e da antenne corte formate da 3-5 segmenti.

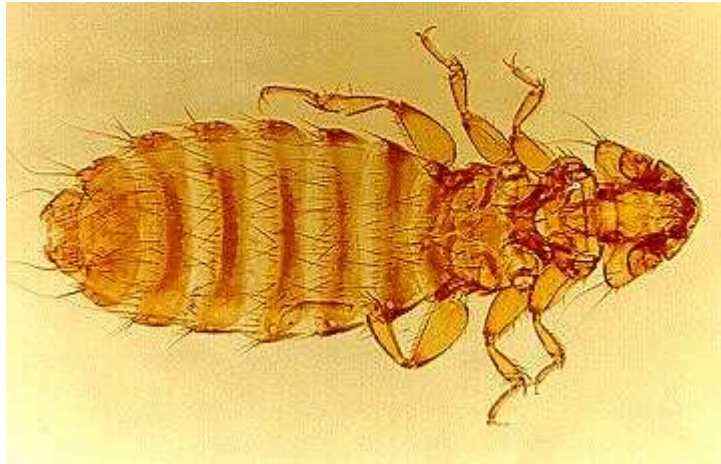
Sono state segnalate oltre 40 specie che possono parassitare i polli. Fortunatamente per gli allevatori, tutte queste specie possono essere trattate con gli stessi mezzi di lotta. Gli uccelli possono essere parassitati contemporaneamente da più specie. Nonostante il loro grande numero, solo poche specie sono frequenti. Si possono trovare sui polli pidocchi propri di specie aviarie che di solito non vengono prodotte a scopo commerciale, ed è possibile trovare pidocchi delle faraone su polli e tacchini quando più specie diverse vivono in promiscuità. I pidocchi dei piccioni possono aggredire i polli se fanno il nido sui capannoni dell'allevamento. Qualora si sospetti una infezione da un'altra specie è opportuno che i pidocchi trovati sui polli siano identificati. In questo caso, infatti, se l'infezione non viene posta sotto controllo contemporaneamente nelle due specie, le misure di lotta non avranno successo (Arends, 1997).

Pidocchi dei polli:

- *Cuclotogaster heterographa*, Pidocchio della testa
- *Goniocotes gallinae*, Pidocchio delle piume
- *Goniodes dissimilis*, Pidocchio bruno
- *Lipeurus caponis*, Pidocchio delle ali

- *Menacanthus stramineus*, Pidocchio del corpo (anche dei tacchini e delle faraone)
- *Menepon gallinae*, Pidocchio dello stelo delle piume (anche delle faraone) (Arends, 1997)

Figura 27-*Menacanthus stramineus* (Fonte: www.summagallicana.it)



Le Pediculosi dei polli si riconoscono identificando i pidocchi color paglia sulla pelle o sulle penne dei volatili. I pidocchi che aggrediscono i polli domestici hanno dimensioni che variano da meno di 1 mm a oltre 6 mm di lunghezza. Mallofagi di dimensioni superiori ai 10 mm si trovano invece nei volatili selvatici. I pidocchi trascorrono tutta la loro vita sul corpo dell'ospite. Le uova vengono deposte e attaccate alle piume, a volte riunite a gruppi, e schiudono nel giro di 4-7 giorni. La durata dell'intero ciclo biologico è di circa 3 settimane, inclusi 4-5 giorni di incubazione delle uova e 3 stadi ninfali di 3 giorni ciascuno. Una coppia di pidocchi può dare origine a 120.000 discendenti nel giro di pochi mesi. La durata media della vita è di diversi mesi, ma al di fuori dell'ospite sopravvivono solo 5 o 6 giorni. Sebbene di solito i pidocchi dei volatili si nutrano di prodotti di desquamazione delle piume, *Menacanthus stramineus* (il pidocchio del corpo dei polli) può assumere sangue pungendo i calami giovani alla loro base e mordendo gli strati superficiali della cute stessa. Si è sempre ritenuto che alle Pediculosi gravi facessero seguito stati di malnutrizione e che provocassero perdita di peso e calo delle produzioni. Tuttavia tale ipotesi sono suffragate da dimostrazioni contrastanti. Alcuni studiosi non sono riusciti a mettere in evidenza alcun effetto negativo da pediculosi nelle galline ovaiole, anche in seguito a infestazioni massive. Altri sono

dell'opinione che le galline non infette possono produrre in media l'11% in più delle galline con un'infestazione moderata. Altri ancora hanno dimostrato che un'infestazione di 23.000 pidocchi per gallina ovaiole è in grado di causare un calo della produzione di uova del 15%. De Vaney ha osservato calo della produzione di uova, diminuzione del peso corporeo, riduzione della consistenza delle covate e del consumo di mangime correlate con la popolazione di pidocchi quando polli infetti da pidocchi erano confrontati con polli sani. Sono necessari altri studi per quantificare il danno economico delle pediculosi e per valutare le differenze di patogenicità delle diverse specie. Le varie linee genetiche di polli inoltre possono avere una diversa sensibilità nei confronti dell'aggressione dei pidocchi. La pulizia effettuata dai polli stessi (quando non sono stati debeccati) e l'umidità relativa dell'ambiente sono fattori importanti che influenzano l'intensità dell'infezione. I pidocchi non sono particolarmente patogeni per i polli adulti, mentre possono addirittura portare a morte i soggetti giovani o giovanissimi. L'evidenza clinica suggerisce che i pidocchi irritano le terminazioni nervose, interferendo così con il sonno e il riposo che sono funzioni estremamente importanti per gli animali immaturi. La Pediculosi spesso si accompagna a stati di scadimento generale, come accade per le parassitosi interne, le malattie infettive, le carenze alimentari e le scadenti condizioni igieniche (Arends, 1997).

- **Misure di controllo.** E' opportuno che i Galliformi, selvatici o domestici, non vengano a contatto con i gruppi di polli dell'allevamento. I pidocchi tendono ad aumentare durante l'autunno e l'inverno, per cui in questo periodo si devono esaminare gli animali regolarmente (almeno due volte al mese) e trattarli se necessario. In questo caso si devono eseguire due trattamenti a 7-10 giorni di intervallo. Infatti solo le forme adulte e quelle immature sono sensibili ai trattamenti e nessuno dei prodotti disponibili è attivo contro le uova, per cui il secondo trattamento ha la funzione di uccidere le forme larvali schiuse dopo il primo trattamento. Le piume che rimangono nei capannoni dopo lo svuotamento servono per il mantenimento dell'infezione nell'ambiente e perciò deve essere fatta una pulizia accurata dopo aver tolto gli animali. Il sistema di trattamento spray si rivela spesso il più idoneo per la maggior parte degli allevamenti. Questo sistema, quando viene eseguito correttamente, garantisce il trattamento di tutti gli animali e, soprattutto con i grossi numeri, si rivela quello più adatto fra tutti i sistemi

disponibili. Durante l'applicazione è importante fare attenzione a che tutto il corpo dell'animale venga a contatto con l'insetticida perché i pidocchi, soprattutto quando l'infezione è massiva, si spostano con facilità dal collo alla cloaca. Anche per le galline in gabbia è importante un'osservazione regolare che deve essere fatta due volte al mese esaminando animali scelti in modo casuale da tutte le aree del capannone. In questo modo l'infezione viene messa in evidenza prima che l'intera popolazione sia infestata e il trattamento può essere fatto su 100-200 animali invece che su 60.000 (Arends, 1997).

7.2.2. PULCI

Le pulci (ordine *Siphonaptera*) sono parassiti quando sono adulti, mentre vivono in condizione non parassitaria durante gli stadi larvali. Gli adulti hanno dimensioni variabili a partire da 1,5 mm, hanno un corpo tozzo, compresso in senso laterale, un apparato buccale adatto a pungere e succhiare, antenne corte che emergono da scanalature e arti lunghi adatti a compiere lunghi salti. Vanno incontro a metamorfosi completa con larve che sono prive di arti, hanno aspetto vermiforme e attraversano lo stadio di pupa all'interno di esili bozzoli.

Le pulci hanno un colore che va dal bruno al nero e si nutrono succhiando il sangue di diverse specie di ospiti. Hanno una distribuzione cosmopolita, anche se sono più abbondanti nelle aree temperate e calde. Le femmine depongono diverse uova al giorno, di forma sferica e di colore biancastro, che cadono dal corpo dell'ospite nel terreno circostante dove iniziano a svilupparsi. L'umidità e il calore sono essenziali per lo sviluppo. Nel giro di 1 o 2 settimane le uova si schiudono liberando delle piccole larve che si nutrono soprattutto sulle feci delle pulci stesse e del sangue liberato dalle pulci femmine per favorirne lo sviluppo. Le larve mature producono sottili bozzoli setosi intrappolando nel filo del bozzolo particelle di polvere e detriti. La fase dormiente di pupa dura da una settimana a diversi mesi, a seconda della temperatura. Le pulci giovani che emergono dal pupario aggrediscono l'ospite, ne succhiano il sangue e sono pronte per riprodursi nel giro di pochi giorni. Le giovani pulci possono sopravvivere per settimane o mesi senza alimentarsi. Anche le pulci adulte possono sopravvivere diverse settimane senza alimentarsi ma sopravvivono da molti mesi ad un anno se hanno disponibilità di ospiti. Il loro ciclo biologico varia notevolmente in dipendenza di fattori come la temperatura, l'umidità, gli

insulti ambientali e la disponibilità di ospiti. I polli che ritornano al loro nido possono essere infestati dalle pulci che sono rimaste quiescenti per lunghi periodi di tempo (Arends, 1997).

Le specie di maggiore interesse per noi sono: *Ceratophyllus gallinae*, che infesta il pollame e *Ceratophyllus columbae*, che infesta i piccioni.

L'invasione massiva da parte di questi insetti provoca prurito, calo di produzione, ritardo nello sviluppo, dimagrimento e, soprattutto, anemia. (M. Principato *et al.*, 1997)

Figura 28-*Ceratophyllus gallinae* (Fonte: www.forskning.no)



- **Misure di controllo.** Le misure di controllo più importanti comprendono la rimozione della lettiera infetta e una disinfezione accurata del capannone per eliminare le forme immature. Si deve introdurre nel capannone lettiera nuova e quindi procedere ad un trattamento in modo da uccidere le pulci presenti sugli animali e quelle che cadono sulla lettiera. Prove eseguite in Scozia hanno dimostrato che il trattamento con permetrina in spray dei nidi e della lettiera, alla concentrazione dello 0,125-0,250%, è in grado di eliminare l'infezione da *C. gallinae*. E' opportuno impedire l'ingresso nei capannoni a polli non domestici, a cani, gatti e ratti, perché questi animali possono fungere da serbatoi e perpetuare l'infezione. La luce del sole, il caldo asciutto, l'umidità elevata e il congelamento impediscono lo sviluppo delle pulci (Arends, 1997).

7.2.3. CIMICI

La famiglia *Cimicidae* dell'ordine *Hemiptera* comprende diversi parassiti ematofagi dei volatili. Questi insetti hanno il corpo appiattito in senso dorsoventrale, gli adulti misurano 2-5 mm di lunghezza x 1,5-3 mm di larghezza ed hanno vestigia di ali a forma di cuscinetto.

Durante il giorno si nascondono nelle crepe e nelle fessure. Il loro colore varia a seconda della specie da bruno, a giallo, a rosso. Il loro apparato boccale pungitore succhiatore ha forma di un becco ed è attaccato all'estremità anteriore della testa. Poiché è articolato, viene ripiegato al di sotto della testa e di parte del torace quando l'animale non si nutre. Ghiandole odorifere conferiscono alla cimice il caratteristico odore sgradevole. Se vengono attaccati da un grande numero di cimici i giovani animali divengono anemici. Le loro punture di solito causano edema e prurito per l'azione irritante della saliva (Arends, 1997).

Le cimici hanno comunque scarsa importanza per l'allevamento avicolo e si rinvencono ormai piuttosto raramente (Principato *et al.*, 1996).

- **Cimici dei letti.** La specie più diffusa di questi insetti è la comune cimice dei letti (*Cimex lectularius*) che attacca molte specie di mammiferi, inclusi gli esseri umani, e i polli. E' molto diffusa nelle zone temperate e subtropicali. Sia i capannoni dei polli che le piccionaie possono essere invase in maniera massiva. La femmina della cimice dei letti depone diverse uova al giorno nelle fessure, fino a che queste raggiungono il numero di circa 200. A seconda della temperatura, le uova schiudono nel giro di 4-20 giorni, a cui fanno seguito 5 stadi ninfali. Ad ogni stadio le ninfe si alimentano e quindi si nascondono nelle fessure per digerire il pasto di sangue e mutare. La durata del ciclo dalla schiusa delle uova allo stadio adulto è di 1-3 mesi. Le ninfe possono sopravvivere a digiuno anche per 70 giorni, mentre gli adulti possono rimanere senza cibo da 1 a 12 mesi, a seconda della temperatura. L'alimentazione di solito avviene di notte e le cimici si ingorgano nel giro di 10 minuti. Un grande numero di cimici può provocare gravi conseguenze sulla produzione. I riproduttori infestati mostrano un calo della produzione totale delle uova, un picco di produzione più basso ed un aumento del consumo di mangime (Arends, 1997).

Figura 29-*Cimex lectularius* (Fonte: www.burnley.gov.uk)



- **Misure di controllo.** I trattamenti devono avere come obiettivo i rifugi diurni delle cimici, come crepe e interstizi delle pareti e dei pavimenti, le zone sotto i posatoi, i nidi e le mangiatoie. Il trattamento degli animali può essere utile soprattutto se l'infestazione è massiva. In un ambiente infestato è necessario trattare sia le strutture che tutte le attrezzature contenute. E' opportuno l'impiego di un prodotto dotato di attività residua insieme a fumiganti per eliminare le cimici dai loro rifugi (Arends, 1997).

CONCLUSIONI

La complessità dell'argomento che vede fra le principali cause e concause : carenze, intossicazioni, malattie infettive e parassitarie, stress, fenomeni atmosferici, variazioni climatiche etc..., fa sì che la sindrome da calo di deposizione sia un argomento apparentemente ben conosciuto ma in effetti reso complesso da nuove evenienze.

Fra queste la comparsa di varianti virali che rendono poco efficaci i vaccini da tempo utilizzati con successo, nuovi fattori di resistenza agli antibiotici di ceppi batterici enzootici, ma anche le nuove tendenze produttive con evidenti modifiche di tecnologia di allevamento e di management. Spesso le nuove tecnologie di allevamento fanno fronte a esigenze commerciali o particolari richieste di mercato quali ad esempio il ritorno all'allevamento biologico. Tutto ciò nel contesto della selezione genetica e del rispetto dei principi del benessere animale.

RINGRAZIAMENTI

Giunta alla fine di questo percorso colgo l'occasione per ringraziare tutti coloro che mi hanno aiutato e che mi sono stati vicino.

BIBLIOGRAFIA

- Alexander D.J. (1982), Avian Influenza: Recent developments, *Vet Bull* 52:341-359.
- Alexander D.J. (1997), Capitolo 20: Malattia di Newcastle (Pseudopeste) ed altre infezioni da Paramyxovirus in *Patologia Aviare*, Calnek B.W., X Edizione, PICCIN.
- Ambrosi M., Asdrubali, 1996. Capitolo 8: Malattie elmintiche, in *Patologia aviare*, Asdrubali G., Pitagora Editrice Bologna.
- Arends J.J. (1997), Capitolo 32: Parassiti esterni e altri organismi nocivi dei polli in *Patologia Aviare*, Calnek B.W., X Edizione, PICCIN.
- Asdrubali G., Coletti M., Sannipoli CGT (1996), Capitolo 7: Malattie da protozoi, in *Patologia aviare*, Asdrubali G, Pitagora Editrice Bologna.
- Asdrubali G., Coletti M., Tacconi G. (1996), Capitolo 4: Patologia indotta dall'alimentazione, in *Patologia aviare*, Asdrubali G, Pitagora Editrice Bologna.
- Asdrubali G., Tacconi G., Coletti M., Franciosini M.P. (1996), Capitolo 5: Malattie batteriche in *Patologia aviare*, Asdrubali G, Pitagora Editrice Bologna.
- Asdrubali G., Tacconi G., Coletti M, Franciosini MP (1996), Capitolo 6: Malattie virali, in *Patologia aviare*, Asdrubali G, Pitagora Editrice Bologna.
- Asdrubali G., Tacconi G., Del Rossi E. (1996), Capitolo 3: Note sull'alimentazione del pollame in *Patologia aviare*, Asdrubali G., Pitagora Editrice Bologna
- Austic R.E., Scott M.L. (1997), Capitolo 2: Malattie nutrizionali, *Patologia aviare*, Calnek B.W., X Edizione, PICCIN.
- Bagust T.J., Guy J.S. (1997), Capitolo 19: Laringotracheite in *Patologia Aviare*, Calnek B.W., X Edizione, PICCIN.
- Barnes H.J., Gross W.B. (1997), Capitolo 4: Colibacillosi, in *Patologia Aviare*, Calnek B.W., X Edizione, PICCIN.

- Calnek B.W., Luginbuhl R.E., Helmboldt C.F. (1997), Capitolo 21: Encefalomielite Aviare in *Patologia Aviare*, Calnek B.W., X Edizione, PICCIN.
- Cavanagh D., Naqi S.A. (1997), Capitolo 18: Bronchite infettiva, in *Patologia Aviare*, Calnek BW, X Edizione, PICCIN.
- Cerolini (2008), Capitolo 2: Avicoltura intensiva e statistiche di produzione, in *Avicoltura e Conigliicoltura*, a cura di Cerolini S., Marzoni Fecia di Cossato M., Romboli I., Schiavone A., Zaniboni L., Point Veterinaire Italie.
- Cerolini S., Zaniboni L. (2008), Capitolo 4: Apparato riproduttore femminile, in *Avicoltura e Conigliicoltura*, a cura di Cerolini S., Marzoni Fecia di Cossato M., Romboli I., Schiavone A., Zaniboni L, Point Veterinaire Italie.
- Debenedetti A. (1998), Capitolo 15: Endocrinologia, in *Fisiologia degli Animali Domestici con elementi di Etologia*, a cura di Aguggini G., Beghelli V., Giulio L. F., II Edizione, UTET.
- Easterday B.C., Hinshaw V.S., Halvorson D.A (1997), Capitolo 22: Influenza in *Patologia Aviare*, Calnek B.W., X Edizione, PICCIN.
- Fabricant J. (1998), The early history of Infectious Bronchitis, *Avian Diseases* 42: 648-650, 1998.
- Gast R.K. (1997), Capitolo 3: Salmonellosi, in *Patologia Aviare*, Calnek B.W., X Edizione, PICCIN.
- Giavarini I. (1988), Capitolo 8: Alimentazione, in *Tecnologie Avicole*, Giavarini I., EDAGRICOLE.
- Hoerr F.J. (1997), Capitolo 36: Veleni e tossine, in *Patologia Aviare*, Calnek B.W., X Edizione, PICCIN.
- Langè E. (1968), Capitolo 13: Nutrizione del pollame, in *Trattato di avicoltura*, Ghigi A., UNIONE TIPOGRAFICO-EDITRICE TORINESE.
- Ley D.H., Yoder H.W. Jr. (1997), Capitolo 9: Micoplasmici, in *Patologia Aviare*, Calnek B.W., X Edizione, PICCIN.

- Marelli S.P. Capitolo 3: Genetica e selezione, in *Avicoltura e Coniglicoltura*, a cura di Cerolini S., Marzoni Fecia di Cossato M., Romboli I., Schiavone A., Zaniboni , Point Veterinaire Italie.
- Martin A. M. (2006), Bronchite Infettiva Aviare. Situazione attuale. Europa – Usa, www.wpsa-aeca.com/img/informacion/wpsa1153334246a.doc
- Marvil P., Knowles N.J., Mockett A.P.A., Britton P., Brown T.D.K., Cavanagh D., Avian encephalomyelitis virus is a picornavirus and is most closely related to hepatitis A virus, *Journal of General Virology* (1999), 80, 653–662, Great Britain.
- McDuogald L.R., Reid W.M., Capitolo34: Protozoi, in *Patologia Aviare*, Calnek B.W., X Edizione, PICCIN.
- McFerran J.B. (1997), Capitolo 23: Infezioni da Adenovirus, in *Patologia Aviare*, Calnek B.W., X Edizione, PICCIN.
- Meluzzi A (2008), Capitolo 11: Allevamento della gallina ovaioia, in *Avicoltura e Coniglicoltura*, a cura di Cerolini S., Marzoni Fecia di Cossato M., Romboli I., Schiavone A., Zaniboni , Point Veterinaire Italie.
- Pascucci S. (2005), Le salmonellosi nell'allevamento avicolo, www.agraria.it/silviopascucci/salmo_brescia_05.pdf
- Principato M., Asdrubali (1996), Capitolo 9: Malattie da Artropodi, in *Patologia aviare*, Asdrubali G., Pitagora Editrice Bologna.
- Portz C., Beltrão N., Furian T.Q., Júnior A.B., Macagnan M., Griebeler J., Lima Rosa C.A., Colodel E.M., Driemeier D., Back A., Barth Schatzmayr O.M., Canal C.W., Natural infection of turkeys by infectious laryngotracheitis virus, *Veterinary Microbiology* 2008 Sep 18;131(1-2):57-64.
- Reid W.M., McDougald L.R., Capitolo 33: Parassiti interni, in *Patologia Aviare*, Calnek B.W., X Edizione, PICCIN.
- Riddel C. (1997), Capitolo 35: Malattie dello sviluppo, malattie metaboliche e miscellanea, in *Patologia Aviare*, Calnek B.W., X Edizione, PICCIN.

- Ruff M.D., Norton R.A., (1997), Capitolo 33: Parassiti interni, in *Patologia Aviare*, Calnek B.W., X Edizione, PICCIN.
- Shane S.M (1997), Capitolo 10: Campylobacteriosi, in *Patologia Aviare*, Calnek B.W., X Edizione, PICCIN.
- Schiavone A. (2008), Capitolo 8: Nutrizione e alimentazione degli avicoli, in *Avicoltura e Conigliicoltura*, a cura di Cerolini S., Marzoni Fecia di Cossato M., Romboli I., Schiavone A., Zaniboni L, Le Point Vétérinaire Italie.
- Toplu N., Alcigir G., Avian encephalomyelitis in naturally infected pigeons in Turkey, *Avian Pathology* 2004 Jun;33(3):381-6.
- Urquhart G.M., Armour J., Duncan J.L., Dunn A.M., Jennings F.W (1996), Capitolo 1: Elmintologia Veterinaria, in *Parassitologia Veterinaria*, a cura di Genchi C., UTET.
- Zanella A. (2005), Patologie virali quali cause di calo dell'ovodeposizione, *Zootecnica International*, Dicembre 2005, pag 42-51.
- www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?version=2008 consultato il 05/05/2009
- www.oie.int/eng/info_ev/en_AI_avianinfluenza.htm consultato il 05/05/2009
- www.izsvenezie.it/dnn/Default.aspx?tabid=269 consultato il 15/05/2009
- www.izsvenezie.it/dnn/Areetematiche/Zoonosi/Campilobacteriosi/tabid/338/Default.aspx consultato il 20/05/2009