

COMUNICAZIONE 6

INFEZIONE DA *HAFNIA ALVEI* IN GALLINE OVAIOLE

P. Casagrande Proietti, F. Passamonti, M.P. Franciosini, E. Del Rossi, G. Asdrubali

*Dipartimento di Scienze Biopatologiche Veterinarie, Sezione di Patologia e Igiene Veterinaria
Università degli Studi di Perugia*

Parole chiave: galline ovaiole, *Hafnia alvei*

***Hafnia alvei* infection in pullets in Italy**

Key words: pullets, *Hafnia alvei*

Summary: This paper reports the first outbreak in Italy caused by *Hafnia alvei* in pullets. The cloudy swelling and the fatty degeneration of liver associated with splenic lymphocytic depletion were the most prominent lesions. The organism was identified by biochemical and by a *Hafnia* specific bacteriophage test. Laying hens and pullets were experimentally infected by the oral and intraperitoneal route. The clinical and pathological effects were similar to those observed in naturally infected subjects.

Correspondence: Patrizia Casagrande Proietti- Dipartimento di Scienze Biopatologiche Veterinarie, Sezione di Patologia e Igiene Veterinaria, Università degli Studi di Perugia- Facoltà di Medicina Veterinaria, Via S. Costanzo, 4- 06100, Perugia. E-mail patricasagrande@libero.it

Introduzione

Hafnia alvei è un germe gram negativo anaerobio facoltativo, che appartiene alla famiglia delle Enterobacteriaceae. È diffuso nell'ambiente, in particolare nel terreno, nei liquami e nell'acqua. In letteratura, sono riportati casi di setticemia nelle trote e in galline ovaiole (3), di aborti nel cavallo, di forme respiratorie nelle capre e di mastiti nelle mucche (1). In medicina umana il microrganismo è stato associato a gastroenterite, a setticemia e ad infezioni urinarie (2). *Hafnia alvei* è considerato un patogeno opportunista che possiede meccanismi di virulenza sovrapponibili a quelli di altri enteropatogeni.

Con il presente lavoro si vuole descrivere un episodio morboso di notevole gravità insorto in un allevamento di galline ovaiole riconducibile ad infezione da *Hafnia alvei*.

Materiali e metodi

L'episodio manifestatosi durante il periodo invernale, ha colpito un allevamento di ovaiole costituito da circa 11000 pollastre non ancora entrate in deposizione, allevate in batteria. Le galline erano distribuite in un capannone unico e divise in due gruppi, ciascuno costituito rispettivamente da 5.580 soggetti di 18 settimane e da 5.780 soggetti di 12 settimane. Sono stati colpiti dalla malattia esclusivamente i soggetti del secondo gruppo che hanno presentato anoressia, abbattimento, penne arruffate, diarrea. I soggetti, sottoposti a terapia con amoxicillina, hanno presentato alla fine dell'episodio, mortalità elevata che ha raggiunto il 20,7%.

Esami anatomoistopatologici.

Dai soggetti sottoposti ad esame necroscopico sono stati prelevati campioni di fegato, cuore, milza, rene, polmoni, intestino, fissati in formalina tamponata al 10% e colorati con ematossilina-eosina, previa inclusione in paraffina.

Esami microbiologici.

Campioni di fegato, cuore, polmone, rene, milza, intestino, ovaio e cervello, sono stati seminati per impronta su piastre di agar sangue, e MacConkey agar messe ad incubare per 24 h a 37°C in condizioni di aerobiosi. Gli stessi campioni sono stati seminati per l'eventuale isolamento di *Salmonella* spp., per cui sono stati impiegati terreni di arricchimento quali Brodo Selenite Cisteina e Rappaport-Vassiliadis, e terreni selettivi come Brilliant Green, Hektoen Enteric

Agar, e Kliger Iron Agar (Oxoid). Le piastre sono state messe ad incubare per 24 h a 37°C in condizioni di aerobiosi. I microrganismi isolati sono stati identificati tramite sistemi biochimici miniaturizzati (API 20 E e Rapid 20E).

Per confermare l'identificazione del microrganismo isolato è stato utilizzato un batteriofago specifico per *H. alvei* (fago 1672 ATCC) che ne consente una rapida differenziazione da *Salmonella* spp. Allo scopo sono state seminate piastre di Nutrient agar con *Hafnia* e piastre con altri germi quali *Salmonella* spp., *Klebsiella* spp., *E. coli.*, utilizzate come controllo. Dopo aver aggiunto il fago le piastre sono state messe ad incubare a 37° C per 48-72 ore. Il fago 1672 determina placche di lisi soltanto in presenza di ceppi di *Hafnia*.

Il microrganismo isolato ed identificato come *Hafnia alvei* è stato utilizzato per effettuare una infezione sperimentale con una dose di microrganismi di 2×10^9 come descritto da Real *et al.* (1997).

Risultati

Reperti anatomopatologici

Il reperto più caratteristico è quello di un notevole aumento di volume del fegato (Fig.1) e della milza. Il fegato, in particolare, si presenta di colore più pallido, occupando talvolta tutta la cavità addominale mentre la milza raggiunge spesso dimensioni di 3-4 volte la norma. Nella maggior parte dei casi è apprezzabile anche enterite catarrale.

Reperti istologici

Le lesioni istopatologiche osservate sui campioni di organi si collocano nel quadro comune delle infezioni setticemiche sostenute da batteri della Fam. Enterobacteriaceae.

La lesione più caratteristica è rappresentata da degenerazione torbido-grassa del fegato associata spesso a necrosi focale, periangiocolite, infiltrazione linfo-monocitaria diffusa e presenza di centri di aggregazione batterica nelle strutture duttali e negli spazi porto-biliari. La milza mostra evidenti fenomeni di deplezione linfocitaria (Fig. 2) e foci di necrosi fibrinoide associata volte a splenite granulomatosa.

Reperti microbiologici

Gli esami batteriologici effettuati hanno consentito di isolare in purezza da tutti i campioni di organi esaminati un germe gram negativo bastoncellare che sul MacConkey cresce con colonie piccole e traslucide, lattosio negative, non produttrici di H₂S. Il

microorganismo isolato è stato identificato attraverso prove biochimiche come *Hafnia alvei*; il test con il batteriofago 1672 ha consentito di evidenziare nelle piastre di Nutrient agar, seminate con *Hafnia*, placche di lisi che al contrario non è stato possibile osservare in quelle seminate con altri batteri. I risultati relativi alla infezione sperimentale sono espressi nella tabella 1.

Discussione

I risultati ottenuti ci consentono di trarre alcune considerazioni sull'episodio sopra descritto. Innanzi tutto è da rilevare che tale forma morbosa, fino ad oggi, non è stata segnalata nel nostro Paese, ed è la prima osservazione in pollastre non ancora in deposizione. A differenza di quanto osservato da Real *et al.*, (1997) che hanno descritto un caso di setticemia con elevata mortalità in galline ovaiole di 30 settimane, l'infezione ha interessato un gruppo di pollastre di 12 settimane, con mortalità che ha raggiunto nel nostro caso il 20,7%. Per quanto riguarda i sintomi da noi riscontrati, è da notare che sono poco caratteristici e del tutto sovrapponibili ad una forma setticemica riconducibile a *Salmonella spp.*, mentre le lesioni sono da considerare piuttosto particolari per l'aspetto del fegato ed il notevole aumento di volume della milza. Anche da un punto di vista batteriologico *Hafnia alvei* e *Salmonella spp.* sono molto simili; crescono infatti entrambi su agar MacConkey formando colonie difficilmente distinguibili morfologicamente e inoltre, possiedono caratteristiche biochimiche simili. Ne consegue che l'applicazione del test biochimico API 20 E può essere considerato il primo passo verso la diagnosi, che dovrebbe essere confermata o mediante l'utilizzo del batteriofago specifico per l'*Hafnia*, come da noi effettuato o mediante sistemi di identificazione più sensibili come il Sistema Microscan WalkAway (4). Un'ulteriore considerazione merita di essere fatta sul ruolo patogeno svolto da *Hafnia alvei*. Esso è considerato un germe patogeno opportunista in numerose specie. Non escludendo tale eventualità, è da sottolineare che nell'episodio da noi osservato è verosimile pensare che l'agente in causa possa determinare la malattia senza l'intervento di fattori predisponenti come farebbe supporre quanto verificatosi nell'infezione sperimentale. Nell'episodio insorto naturalmente è comunque stato isolato il microorganismo in purezza da tutti gli organi, così come nella prova sperimentale, che ha confermato l'elevata patogenicità del germe; è stato possibile, infatti, riprodurre sperimentalmente in modo costante ed identico i sintomi clinici e le lesioni anatomo-patologiche osservate in campo.

Bibliografia

1. Binde M., Hermansen O. (1982). *Hafnia alvei* in mastitis secretion, a case report. Nordisk Veterinaermedicin. 94, 569-570.
2. Ramos A., Damaso D. (2000). Extraintestinal infection due to *Hafnia alvei*. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. Dis. 19, 708-710.
3. Real F., Fernandez A., Acosta F., Acosta B., Castro P., Deniz S., and J. Oros. (1997). Septicemia associated with *Hafnia alvei* in laying hens. Avian Diseases 41,741-747.
4. Rodriguez L. A., Vivas J., Gallardo C.S., Acosta F., Barbeyto L., and Real F. (1999). Identification of *Hafnia alvei* with the MicroScan WalkAway System. Journal of Clinical Microbiology . Dec. 4186-4188.

Figura 1. Aumento di volume del fegato in galline infette da *Hafnia alvei*.

Figure 1 .Enlargment of the liver in egg laying hens infected with *Hafnia alvei*.



Figura 2. Milza con evidente deplezione linfocitaria in galline infette da *Hafnia alvei*. Ematossilina-eosina

Figure 2. Severe lymphocytic depletion of the spleen in egg laying hens infected with *Hafnia alvei* . HE

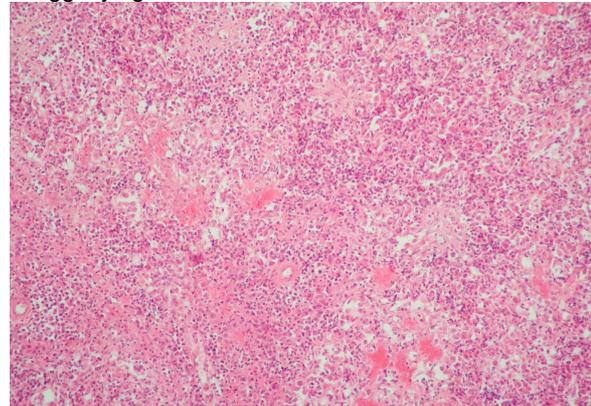


Tabella 1. Risultati relativi all'infezione sperimentale di pollastre e di galline ovaiole con *Hafnia alvei*.

Table 1. Results of the experimental infection of pullets and laying hens with *Hafnia alvei*

N.sogg. inoc.	Via * Inoc.	Segni clinici	Esito inf. (giorniP.I)	Les ioni	R.** germe
1 poll.	IP	+	Morta (6)	+	+
2 poll.	IP	+	Morta (8)	+	+
3 pol.	IP	+	Morta (8)	+	+
4 poll.	O	+	Morta (6)	+	+
5 poll.	O	-	Morta (23)	-	-
6 poll.	O	-	Sopp. (28)	-	-
7 gall.	IP	+	Morta (6)	+	+
8 gall.	IP	+	Morta (6)	+	+
9 gall.	IP	+	Morta (9)	+	+
10 gall.	O	+	Morta (6)	+	+
11 gall.	O	+	Morta (6)	+	+
12 gall.	O	+	Morta (6)	+	+
13 contr.	IP	-	Sopp. (28)	-	-
14 contr.	IP	-	Sopp. (28)	-	-
15 contr.	O	-	Sopp. (28)	-	-
16 contr.	O	-	Sopp. (28)	-	-

*IP=intraperitoneale, O= orale

**Reisolamento del germe da fegato, milza, rene, cuore, intestino, cervello, ovaio, polmoni.