

MICOBATTERIOSI AVIARE: QUADRI ANATOMO-PATOLOGICI A CONFRONTO

Tonellato F. R.¹, Moronato M.L.¹, Zanardello C.², Sturaro A.¹, Catania S.³, Gobbo F.¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, SCT1- Laboratorio di Medicina Aviare, U.O. Micoplasmici- Legnaro (PD);

²Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, SCS3- Laboratorio di Istopatologia- Legnaro (PD);

³Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, SCT1- Laboratorio di Medicina Aviare, Verona

Summary

*Avian mycobacteriosis is a chronic infectious disease affecting all bird species. During the years 2011-2016, 17 cases of avian mycobacteriosis have been diagnosed by our laboratory in different aviary species. At necropsy, three different Gross pathology presentations of avian mycobacteriosis have been identified: tubercular, paratubercular and atypical mycobacteriosis. If the tubercular and paratubercular forms are easily detectable in poultry and free-ranging species, atypical mycobacteriosis mainly affects pet birds and may be underestimated for the absence of tubercular lesions at necropsy and by animals reduced size. This study reports interesting Gross-pathology findings in pet birds in case of mycobacteriosis, like the constant presence of tiny and nodular, lardaceous lesions in canaries (*Serinus canaria*) and the “Tiger-striped lung,” in goldfinches (*Carduelis carduelis*).*

*Findings of avian mycobacteriosis in synanthropic species like pet birds must be considered from a public health point of view: *M. genavense*, described as the principal agent of avian mycobacteriosis in these species, is actually a full-blown agent of infections in immunocompromised humans. Based on previous considerations, intra-vitam diagnosis needs to be implemented in pet birds, for example through the application of novel biomolecular techniques.*

In the meanwhile, prevention should be considered as a milestone in ornamental birds and veterinarians should promote and support educational measures with owners and retailers.

INTRODUZIONE

La micobatteriosi è una malattia ad andamento cronico e depauperante sostenuta negli uccelli principalmente da *Mycobacterium avium subsp. avium* (sierotipi 1,2,3) e *Mycobacterium intracellulare*, inclusi insieme nel *Mycobacterium Avium – Intracellulare Complex* -MAI-).

Circa un'altra ventina di micobatteri sono stati individuati nel corso degli anni come responsabili di micobatteriosi aviare, e tra questi *Mycobacterium genavense* desta sempre più interesse nel comparto degli uccelli da compagnia/ornamentali (*pet birds*). Tutte le specie aviari sono suscettibili all'infezione, sviluppando quadri clinici comuni quali progressivo dimagrimento e consunzione (*chronic wasting syndrome*), abbattimento, letargia ed immunosoppressione. I quadri anatomopatologici riferibili a tubercolosi possono invece differenziarsi in funzione della specie batterica coinvolta, la specie animale e la via di infezione. Si possono infatti definire tre principali

manifestazioni anatomico-patologiche: una forma classica tubercolare (simile alla tubercolosi dei mammiferi), una para-tubercolare ed una atipica.

I micobatteri del complesso MAI sono descritti in letteratura come principali agenti di micobatteriosi nelle specie ad attitudine terricola, quali il pollame e gli animali da cortile, che sviluppano forme tubercolari o para-tubercolari della malattia. La localizzazione prevalentemente a livello gastroenterico in questi animali può essere imputabile al loro stretto contatto con il suolo, al loro comportamento alimentare, e alla via di trasmissione oro-fecale di micobatteri quali *M. avium subsp. avium* ed *M. intracellulare*, altamente resistenti nel terreno. La presenza di tubercoli in altre sedi (come per esempio l'apparato respiratorio) suggerisce inoltre la possibile infezione per via respiratoria, condizione compatibile anche con elevate cariche di micobatteri a livello ambientale.

La micobatteriosi atipica viene definita così proprio per l'assenza di lesioni tubercolari macroscopicamente evidenti a carico di organi interni, tale quadro risulta il predominante nel settore ornamentale e *M. genavense* è stato descritto come il micobatterio prevalente nei passeriformi da voliera.

Considerando l'assenza di lesioni macroscopiche e le piccole dimensioni corporee di alcune di queste specie ornamentali, è presumibile che la micobatteriosi in questo settore sia sottostimata. Inoltre considerando i *pet birds* come specie sinantropiche il potenziale zoonotico delle micobatteriosi aviare non va sottovalutato, poiché membri del complesso MAI e *M. genavense* sono stati riportati come agenti capaci di indurre malattia in persone immunodepresse (anziani, persone HIV-sieropositive o sottoposte a chemioterapia o trapianto).

Lo scopo del presente lavoro è quello di condividere la presentazione anatomopatologica di diversi casi di TBC aviare (2011-2016) nella sue diverse tre forme e nello specifico di riportare importanti rilievi patologici nel settore ornamentale *in primis* nel cardellino (*Carduelis carduelis*) e poi nel canarino (*Serinus canaria*) dove la forma atipica è la predominante, cercando di fornire "un segna passi" al clinico e al patologo per l'inclusione della tubercolosi/micobatteriosi nella lista della Diagnosi Differenziale.

MATERIALI E METODI

Le carcasse di specie aviari inviate al Laboratorio di Medicina Aviare dell'IZSVE e destinate ad esame autoptico vengono sottoposte a specifici *panels di tests* diagnostici definiti in base alla specie, alla categoria produttiva, all'età e alla sindrome riscontrata in sede autoptica. Alla necropsopia della carcassa seguono esami ad ampio spettro includendo indagini parassitologiche, microbiologiche, virologiche, istopatologiche, etc. etc.

Nello specifico in caso di lesioni macroscopiche di aspetto tubercolare o comunque di sospetto di micobatteriosi aviare, porzioni degli organi affetti vengono fissate in formalina 10% ed inviate al Laboratorio SCS3 di Istopatologia per approfondimenti diagnostici.

Qual ora la sezione di tessuto (E-E) evidenzi quadri microscopici compatibili o sospetti di micobatteriosi aviare, il laboratorio procede in un secondo tempo all'esame istochimico tramite colorazione di Ziehl-Neelsen (Z-N), considerata un *golden standard* per la diagnosi di tubercolosi poiché consente di evidenziare i micobatteri come bacilli acido-resistenti di colore rosso.

RISULTATI

Durante gli anni 2011-2016, gli animali risultati positivi a micobatteriosi sono stati in tutto 17, pari a 1/273 (0,36%) pappagalli (*Amazona autumnalis*), 3/2.320 (0,12%) polli (*Gallus gallus*), 1/533 (0,18%) tacchino (*Meleagris gallopavo*), 5/96 (5,20%) cardellini (*Carduelis carduelis*), 2/209 (0,95%) passeriformi, nello specifico un ciuffolotto (*Pyrrhula pyrrhula*) e un organetto (*Acanthis flammea*), 1/583 (0,17%) canarini (*Serinus canaria*), 1/170 (0,58%) germano reale (*Anas platyrhynchos*) e 3/12 (25%) gru (*Grus carunculata*, *Balearica regulorum*).

L'esame autoptico ha rilevato in tutti i soggetti un grave stato di emaciazione, caratterizzato da marcata prominenza sternale, grave atrofia dei muscoli pettorali e totale assenza di grasso a livello periviscerale. Imbrattamento della regione pericloacale e scadente qualità del piumaggio sono altri segni riportati frequentemente. A seconda delle specie aviare coinvolta, tuttavia, i rilievi anatomopatologici sono stati differenti.

Nei polli affetti da micobatteriosi, lesioni tubercolari di aspetto tipico sono state evidenziate esclusivamente a livello di apparato gastroenterico, milza e fegato compresi (forma paratubercolare). Questi organi, oltre ad essere aumentati notevolmente di dimensioni, manifestavano una completa alterazione dell'architettura per la presenza di diffusi tubercoli di colorito *beige*-giallastro di dimensioni estremamente variabili infiltranti i parenchimi. L'intestino presentava inoltre pareti ispessite soprattutto a livello prossimale, contenuto luminale liquido ed eventuali tubercoli prominenti il lume. L'esecuzione di approfondimenti istopatologici (E-E) da campioni di fegato, milza ed intestino ha evidenziato in tutti gli organi lesioni nodulari multiple di aspetto granulomatoso, caratterizzate da un centro necrotico circondato da macrofagi epitelioidi e cellule giganti multinucleate. L'esame istochimico (Z-N) ha indicato la presenza di batteri acido-resistenti riferibili a *Mycobacterium spp.* nel citoplasma di macrofagi e cellule giganti multinucleate.

Nelle specie quali tacchino, gru e germano reale le lesioni tubercolari si estendevano a più apparati, coinvolgendo anche il sistema respiratorio e nello specifico il parenchima polmonare (forma tubercolare); nelle gru degno di nota è il riscontro di lesioni caratteristiche anche a carico dei sacchi aerei, oltre che a livello del parenchima renale e timico. L'esame istologico in queste specie è stato eseguito a partire da campioni di milza, fegato e polmone evidenziando in quest'ultimo caso la presenza di una polmonite/broncopolmonite granulomatosa associata alla presenza di bacilli acido-resistenti. Nel caso delle gru positive, sono stati effettuati ulteriori approfondimenti biomolecolari (RFLP-PCR) che hanno consentito di identificare *Mycobacterium avium subsp. avium* come l'agente responsabile del quadro tubercolare.

Negli uccelli ornamentali, o *pets* (canarino, cardellino, organetto, ciuffolotto e pappagallo) raramente è stato possibile evidenziare la presenza di lesioni macroscopiche a livello viscerale (forma atipica), ad eccezione del canarino (*Serinus canaria*) nel quale sono state riportate piccole neoformazioni di aspetto nodulare e peduncolate a carico della parete degli stomaci ghiandolare e/o muscolare, in prossimità dell'apparato gastroenterico e dell'apparato riproduttore. Tali neoformazioni nella maggior parte dei casi si presentavano non capsulate e di aspetto simil-lardaceo alla superficie di taglio; inoltre in tutti gli uccelli da voliera risultati positivi a micobatteriosi si notava epato-splenomegalia (associata in

alcuni casi a pallore, in altri a congestione dei parenchimi) ed enterite catarrale. Nel cardellino (*Carduelis carduelis*) peculiare è stato il costante riscontro di cianosi del becco ed un *pattern* polmonare caratteristico a carico della porzione dorsale dell'organo: "Tiger-striped lung" caratterizzato da aree di congestione/emorragia polmonare alternate ad aree di pallore del parenchima, tali da conferire all'organo un aspetto tigrato. Il medesimo *pattern* è stato confermato in sede microscopica, con aree di infiltrazione macrofagica del parenchima polmonare alternate ad aree di emorragia e con presenza di bacilli acido-resistenti in sede macrofagica. Tutti gli animali appartenenti alla specie cardellino risultati positivi condividevano una anamnesi clinica di depauperamento cronico e progressivo, emaciazione, recidiva alle infezioni con scarsa risposta alle terapie farmacologiche.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

L'applicazione di specifici protocolli diagnostici ha permesso di confermare la presenza di micobatteri negli avicoli rurali e negli animali da compagnia, e al contrario di escluderne la presenza nel settore avicolo industriale, dove tale malattia può considerarsi eradicata soprattutto in funzione del lungo periodo d'incubazione, delle moderne tempistiche di allevamento e delle misure di biosicurezza applicate.

Nei 17 casi di infezione da *Mycobacterium spp.* (2011-2016) è stato possibile discriminare i tre principali quadri anatomopatologici di tubercolosi riportati in letteratura: la forma tubercolare, para-tubercolare, ed in fine negli uccelli ornamentali quella atipica. In quest'ultimi, e nello specifico nel cardellino e canarino, si sono rilevati dei quadri anatomopatologici piuttosto frequenti e specifici, che dovrebbero indirizzare il patologo alla inclusione della tubercolosi/micobatteriosi aviare nella lista della Diagnosi differenziale.

L'evidenza di elevate positività nel settore ornamentale e quindi in uccelli sinantropi, fa emergere la necessità di approfondire le conoscenze anche in queste specie animali non convenzionali, delucidando la/le specie di micobatteri coinvolti, la patogenesi della malattia e il loro possibile ruolo zoonotico. Ne consegue che le metodiche biomolecolari ad oggi disponibili dovrebbero essere implementate per essere fruibili anche per la diagnosi *intra vitam* di specie animali ornamentali di piccolissime dimensioni (come fringillidi e passeriformi) in cui esame clinico e manipolazione non sono sempre eseguibili.

Allo stato attuale, ed in attesa dunque di una futura evoluzione delle metodiche diagnostiche, la prevenzione acquisisce un ruolo ancor più essenziale: il veterinario in questo contesto dovrebbe promuovere azioni di divulgazione e formazione a proprietari, collezionisti e rivenditori in merito ad aspetti sanitari e di biosicurezza.

BIBLIOGRAFIA

1. TELL LA, WOODS L, CROMIE RL. Mycobacteriosis in birds. *Rev Sci Tech* 2001;20(1):180-203
2. MANAROLLA G, LIANDRIS E, PISONI G, et al. Avian Mycobacteriosis in Companion Birds: 20-Year Survey. *Vet Microbiol* 2009;133:323-27
3. SHIVAPRASAD H L, PALMIERI C. Pathology of mycobacteriosis in birds. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract* 2012;15(1):41-55
4. DHAMA K, MAHENDRAN M, TIWARI R, et al. Tuberculosis in Birds: Insights into the *Mycobacterium avium* Infections. *Vet Med Int* 2011;712369

5. MILTON F, FRANSON C., TECHNICAL EDITORS. Tuberculosis. In: Field Manual of Wildlife Diseases: General Field Procedures and Diseases of Birds. Washington, D.C. :U.S. Dept. of the Interior, U.S. Geological Survey :,1999:93-8
6. MADANI SA, HADDAD-MARANDI MR, ARABKHAZAELI F. Concurrent atypical diffused tuberculosis and macrorhabdosis in a canary (*Serinus canaria*). *Vet Res Forum* 2015;6(1):89-93.
7. OIE. Avian Tuberculosis. *OIE Terrestrial manual 2014*;chapter 2.3.6
8. SLANY M, ULMANN V, SLANA I. Avian Mycobacteriosis: Still Existing Threat to Humans. *BioMed Res Int* 2016;4387461.
9. SCHRENZEL MD. Molecular epidemiology of Mycobacteriosis in Wildlife and pet animals. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract* 2012;15(1):1-23
10. COUSINS DV, WHITTINGTON R, MARSH I, et al. Mycobacteria distinct from *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis isolated from the faeces of ruminants possess IS 900 -like sequences detectable by IS 900 polymerase chain reaction: implications for diagnosis. *Mol Cell Probes* 1999;13:431-42
11. TELL LA, FOLEY J, NEEDHAM ML, et al. Diagnosis of avian mycobacteriosis: comparison of culture, acid fast-stains and polymerase chain reaction for the identification of *Mycobacterium avium* in experimental inoculated japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Avian Dis* 2003;47(2):444-52
12. SCHMITZ A, KORBEL R, THIEL S, et al. High prevalence of *Mycobacterium genavense* within flocks of pet birds. *Vet Microbiol* 2018;218:40-44