

**Valutazione dello stato zoonosanitario e immunitario per la individuazione di parametri “in campo” del benessere del coniglio allevato**

**M. Cerioli<sup>1</sup>, R. Brivio<sup>2</sup>, C. Salogni<sup>1</sup>, G. Grilli<sup>3</sup>, A. Lavazza<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia Romagna, Laboratorio di Microscopia Elettronica; <sup>2</sup>Veterinario S.A.T.A. Servizio Assistenza Tecnica Allevamenti - Sezione conigli - Regione Lombardia; <sup>3</sup>Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria - Sezione di Anatomia Patologica e Patologia Aviare -Università degli Studi di Milano - Facoltà di Medicina Veterinaria

*Corresponding Author:* Dr. Antonio Lavazza, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Laboratorio di Microscopia Elettronica, via Bianchi 7/9, 20124 Brescia (Italy) - Tel. +39 030 2290298 – Fax. +39 030 2290535 – Email: [alavazza@bs.izs.it](mailto:alavazza@bs.izs.it)

**ABSTRACT:** Health and zootechnical survey to evaluate “on field” parameters assessing the welfare of industrial rabbit farming. *Our study aims to set up a record for defining some health and zootechnical parameters able to contribute to evaluating the welfare of industrial rabbit farming. Samples were taken in 8 farms to investigate the health and immunological conditions. The enteric problems were the most relevant in rabbit farming being *E. coli* isolated from almost 50% of 154 rabbit examined. Sera were taken from 30 days old rabbit, which resulted negative for anti RHDV antibodies, with the only exception of one farm that resulted positive with low titres (1/20-1/80) probably due to maternal antibodies, and from 60 days old rabbits, which in two farms showed anti-RHDV antibodies (titres 1/80-1/640) thus suggesting the presence of “natural antibodies” probably induced by rabbit calicivirus (RCV). Low titres (1/10-1/20) of maternal anti-myxomatosis antibodies were detected in 30 days whilst the older non vaccinated rabbits were all negative. An high prevalence (60%) for *E. cunicoli* was found in most farms. In addition to health and zootechnical parameters, more data referred to environmental situation as well as biochemical and haematological parameters will be in the future considered to better define the rabbit welfare conditions in industrial farms.*

*Keywords:* monitoring, health and zootechnical parameters, diagnosis, welfare

**INTRODUZIONE** – La coniglicoltura nazionale si trova a dover fronteggiare in ambito comunitario le proposte di revisione della normativa sull'allevamento del coniglio industriale con particolare riferimento al rispetto dei fabbisogni essenziali ed al mantenimento dello stato di benessere.

Lo scopo per cui è stata intrapresa una ricerca specifica, di cui in questo lavoro si riportano alcuni dati parziali relativi alla valutazione dello stato zoonosanitario e immunitario, è quello di cercare di fornire degli elementi di supporto che attestino la possibilità di poter produrre, bene e nel pieno rispetto della salute e del benessere degli animali, anche in un contesto zootecnico di tipo industriale.

In tal senso si è cercato di approfondire le conoscenze sul benessere animale attraverso idonei strumenti di monitoraggio al fine di minimizzare gli effetti negativi legati al

sistema di allevamento e migliorare nel contempo l'efficienza degli allevamenti e le performances degli animali. E' stato approntato un protocollo per il rilevamento di una serie di parametri legati all'allevamento industriale, nelle sue differenti tipologie. Nel corso di periodiche visite era previsto l'esecuzione di una serie di rilievi atti a documentare e valutare 1) lo stato sanitario, 2) lo stato immunitario e biochimico clinico e 3) la situazione ambientale.

In questo primo lavoro riportiamo i dati relativi alla sola valutazione dello stato zoonosanitario e immunitario. Infatti, sebbene i primi risultati dei campionamenti eseguiti per la determinazione dei parametri biochimici ed ematologici e per la documentazione della situazione ambientale permettano fin da ora di correlare le variazioni di alcuni parametri ad errori gestionali, eventi ambientali o fatti patologici, tuttavia si ritiene necessario acquisire una massa di dati più significativa per meglio definire i limiti di utilizzo e l'applicabilità pratica di tali metodi.

**MATERIALI E METODI** – Si sono individuati 8 allevamenti di varie tipologie (industriali “classici” e non convenzionali) e per ciascuno si è compilata una scheda anamnestica con indicati tipo di allevamento, di struttura e di gestione, piani di profilassi e metafilassi adottati, dati produttivi e riproduttivi. Ciascun sopralluogo aveva cadenza almeno mensile e prevedeva il rilievo di specifici parametri programmati mentre ogni altra “anormalità” (es. > mortalità) era subito investigata.

La documentazione dello stato sanitario prevedeva l'esecuzione di esami necroscopici, periodici e/o conseguenti ad aumento di mortalità o comparsa di sintomi, con successivi esami batteriologico, parassitologico e virologico, quest'ultimo eseguito da contenuti intestinali anche in assenza di chiare lesioni riferibili ad enterite. Era previsto anche l'esame parassitologico da pool di feci dalla lettiera per rilevare la carica parassitaria ambientale e l'esecuzione di tamponi nasali, vaginali e rettali da animali di diverse età, scelti a random fra quelli in buono stato di salute. Infine è stata rilevata la presenza di miceti, in soggetti di età diverse con o senza lesioni apparenti, attraverso la semina di peli su terreni DTM e Sabouraud.

Ai fini della documentazione dello stato immunitario in ogni allevamento sono stati effettuati prelievi di sangue per rilevare, in ELISA, il titolo anticorpale anti-Malattia Emorragica Virale (MEV) (Capucci e Lavazza, 2004) e Myxomatosi (MIXO) ed anti-*Encephalitozoon cuniculi* (EC) mediante CIA test (Waller, 1977). Al fine di determinare alcuni parametri di tipo biochimico (elettroforesi delle proteine sieriche, battericidia sierica, lisozima, AST-GOT, AST-GPT, CK, LDH), il siero di sangue prelevato è stato suddiviso in più aliquote e per la determinazione di alcuni valori ematologici (WBC, NDIF, LDIF, MDIF, EDIF, VDIF, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, PLT, MPV, PCT, PDW) sono stati effettuati prelievi di sangue con provette contenenti EDTA.

Documentazione della situazione ambientale. La rilevazione della temperatura e dell'umidità era effettuata con termoigrometro HI 9065 a sonda (PBI International), quella della concentrazione di ammoniaca con un rilevatore di gas, il sistema CMS (Dräger). Anche in questo caso si sono previsti dei rilievi “standard” in tre punti diversi della corsia centrale di ogni capannone ma, in base alla ventilazione e alla strutturazione tipici di ogni allevamento e alla percezione olfattiva, sono stati effettuati dei campionamenti aggiuntivi sia in punti diversi dell'allevamento sia in concomitanza con operazioni di gestione quali ad esempio la pulizia delle fosse. Per la determinazione della carica microbica si sono effettuati tamponi ambientali con l'utilizzo del SAS, uno

strumento che aspira un certo volume di aria e la convoglia sulla piastra di terreno desiderata: il PCA per la determinazione della carica batterica ed il Sabouraud per la rilevazione delle muffe.

**RISULTATI E DISCUSSIONE** – 154 soggetti sono stati sottoposti ad esame anatomopatologico. All'esame batteriologico è stato isolato *E.coli* in quasi il 50% dei soggetti, la maggior parte di età compresa tra 35-65 gg. Solo sporadicamente si isolava *Cl. perfringens*. E' stata dimostrata la presenza di *Staphylococcus aureus* (13.6%) dalle fattrici con mastiti o da lesioni cutanee e intestinali dei coniglietti del nido. Raramente sono stati riscontrati conigli con sintomatologia respiratoria con isolamento di *Pasteurella multocida* in 8,4% dei casi esaminati. Con esami virologici in 2 allevamenti è stato possibile accertare la presenza di rotavirus, in concomitanza con la comparsa di quadri di enterite. I tamponi rettali eseguiti su circa 70 soggetti per ogni allevamento sono risultati positivi per *E.coli* in 3 allevamenti con un 10% di conigli positivi tutti asintomatici ad eccezione di 2 animali appartenenti ad un unico allevamento che presentavano diarrea con imbrattamento perineale. In 2 allevamenti è stato possibile l'isolamento dai tamponi nasali di soggetti sani di batteri potenzialmente patogeni quali *Staphylococcus aureus*, *Bordetella* spp. e *Pasteurella multocida*. Tutti i campioni da tamponi vaginali sono risultati negativi, comprendendo tra questi anche quelli eseguiti su soggetti con problemi di infertilità.

L'esame parassitologico da pool di feci dalla lettiera ha permesso di rilevare la presenza pressoché costante in 3 dei 4 allevamenti controllati di una quantità di oocisti di coccidi da lieve a modica rispettivamente nei riproduttori e nel reparto ingrasso. In un unico allevamento tutti i controlli effettuati hanno sempre fornito esito negativo.

L'isolamento dei miceti del genere *Tricophyton* era possibile in un solo allevamento nel quale peraltro erano anche presenti quadri clinici evidenti.

Per quanto riguarda la risposta immunitaria nei confronti della MEV in conigli di 30gg, ovvero in quella fascia di età in cui sono rilevabili soprattutto anticorpi passivi di origine materna, si sono sempre osservati titoli negativi (<1/10) tranne che in un allevamento dove erano evidenti titoli positivi bassi (1/20-1/80) di accertata origine materna. Diverso è stato il riscontro di positività nei soggetti di 60gg soprattutto tenendo conto del fatto che in nessun caso i soggetti all'ingrasso venivano vaccinati e che solitamente gli anticorpi passivi scompaiono entro i 50gg di età, anche nel caso di nidiate nate da riproduttori con titoli elevati. Infatti, mentre in 2 allevamenti si osservavano, come atteso, titoli pressoché negativi, in altri 2 si sono rilevati titoli anticorpali notevolmente più alti fino ad un massimo di 1:1280, con prevalenza di titoli compresi tra 1/80 e 1/640 e ciò è quasi certamente da attribuire alla presenza in azienda del virus apatogeno RCV (Capucci *et al.*, 1996) in analogia a quanto osservato in precedenza in altre aziende italiane (Capucci *et al.*, 2004). Per quanto concerne il titolo anti-Mixo, a 30 gg erano rilevabili anticorpi di origine passiva in percentuale (20-55%) variabile in funzione del piano vaccinale applicato nei riproduttori. A controprova dell'origine passiva di tali anticorpi era il fatto che in assenza di vaccinazione nell'ingrasso a 60gg tutti i soggetti avevano titoli negativi (<1/10). L'elevata prevalenza per anticorpi anti-*E. cunicoli* (fino al 60% tra i riproduttori) ribadisce l'importanza di tale patogeno opportunista noto come potenziale agente deprimente le produzioni (Saviotti *et al.*, 2000).

In conclusione, i risultati preliminari qui riportati permettono di fissare i principali parametri e rilievi da acquisire per documentare la situazione sanitaria e immunologica

e, a nostro avviso, sono coerenti e preludio per la realizzazione dello scopo principale del progetto impostato, ovvero quello di ottenere uno strumento oggettivo di facile applicazione in condizioni di campo per valutare il benessere dei conigli allevati industrialmente.

**BIBLIOGRAFIA** – **Capucci, L.**, Fusi, P., Lavazza, A., Pacciarini, M.L., Rossi, C., 1996. Detection and preliminary characterization of a new rabbit calicivirus related to rabbit haemorrhagic disease virus but non pathogenic. *J. Virol.*, 70:8614–8623. **Capucci, L.**, Lavazza, A., 2004. Chapter 2.8.3. "Rabbit Haemorrhagic Disease", in "Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals". 5° edizione. OIE, Paris pp.950-962. **Capucci, L.**, Cerrone A., Botti, G., Mariani, F., Batoli, M., Lavazza, A., 2004. Results of seroepidemiological surveys for the detection of natural antibodies induced by the nonpathogenic rabbit calicivirus (RCV) in meat rabbit. Proceeding of the 8th Congress of World Veterinary Rabbit Association (WRSA), Puebla, Mexico. 7-11 September 2004 pp. 477-483. **Saviotti, M.**, Tamba, M., Gallazzi, D., Lavazza, A., 2000. Further data on the diffusion of Encephalitozoon cuniculi in Italian rabbitries. Proceeding of the 7<sup>th</sup> World Rabbit Congress 4-7 July 2000 Valencia (Spain) *World Rabbit Science* 8 suppl 1. Vol. B. pp. 355-362. **Waller, T.**, 1977. The india-ink immunoreaction: a method for the rapid diagnosis of encephalitozoonosis. *Lab. Anim.* 11:93-97.