

# SCREENING PER INFLUENZA IN DIECI ALLEVAMENTI SUINI DELLA LOMBARDIA

## *FLU SCREENING IN TEN SWINE FARMS LOCATED IN LOMBARDY*

GUADAGNINI G.<sup>1</sup>, PONZONI D.<sup>1</sup>, OTTOLINI F.<sup>1</sup>, COSSETTINI C.<sup>2</sup>, ZANNI F.<sup>3</sup>,  
CHIAPPONI C.<sup>3</sup>, PROSPERI A.<sup>3</sup>, LUPPI A.<sup>3</sup>

*<sup>1</sup> PigVet, Brescia; <sup>2</sup>Chemifarma S.P.A.; Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna-OIE Reference Laboratory for swine influenza*

**Parole Chiave:** Virus Influenzale, sierologia, isolamento virale

**Key Words:** Flu virus, serology viral isolation

### RIASSUNTO

Lo screening per influenza eseguito in 10 allevamenti della Lombardia ha coinvolto 5 aziende con vaccinazione dei riproduttori e 5 aziende che non vaccinavano i riproduttori. Sono stati eseguiti 1200 campioni di sangue e 900 tamponi nasali, rispettivamente 120 campioni di sangue per allevamento, prelevando 30 scrofe e 90 suinetti a 30, 60 e 90 giorni di vita, e 90 tamponi prelevando i soli suinetti in svezzamento. Il confronto tra gruppi, vaccinati e non, ha sottolineato una maggior positività sierologica dei gruppi provenienti da aziende vaccinate per tutti i 4 sottotipi sia nel caso dei soli riproduttori sia nel caso dei suinetti.

L'analisi dei gruppi a diversa età ha mostrato una percentuale di positività sierologica significativa nei suini di 90 giorni, rispetto ai gruppi precedenti. L'analisi diretta per la ricerca di virus ha determinato la presenza di virus influenzali nel 70% degli allevamenti, senza una differenza significativa tra aziende vaccinate e non vaccinate. L'isolamento virale ha evidenziato la presenza di 2 allevamenti con la contemporanea circolazione di 2 sottotipi influenzali.

### ABSTRACT

The flu screening was performed in 10 farms located in Lombardy, Italy. Selected farms were divided in 5 farms vaccinating sows and 5 farms not performing the vaccination on sows. One thousand and two hundred of serum samples and 900 nasal swabs were performed divided in 120 serum samples and 90 nasal swabs per farm. Serum was collected from sows (30) and from pigs at 30, 60 and 90 days, 30 per each group. Nasal swabs were collected only from pigs. Comparison between groups derived from vaccinated farms and not vaccinated farms showed a higher positivity for vaccinated farms group for all 4 subtypes, both for sows and piglets.

Comparison among pigs at different ages showed a significant higher positivity in the 90 days group and the direct diagnosis for flu virus showed that in 70% of farms was possible to detect one or more strains. Vaccinated farms and not vaccinated farms did not show a significant difference in viral circulation. Viral isolation highlighted different subtypes circulating in two farms.

### INTRODUZIONE

Il complesso della malattia respiratoria (PRDC) è uno dei principali problemi sanitari e coinvolge numerosi agenti eziologici con forte impatto sia di tipo produttivo che economico negli allevamenti suini. Tra i numerosi patogeni coinvolti, troviamo, senza dubbio, i virus influenzali.

In Italia, le forme endemiche rappresentano il 16% dei casi di influenza segnalati nei suini ed i ceppi attualmente circolanti nella popolazione suina sono H1N1, H1N2, H3N2 e H1N1 pandemico (H1N1pdm). Studi genetici approfonditi sui virus recentemente rilevati sul territorio hanno mostrato una importante circolazione di virus geneticamente riassortanti.

Infezioni ricorrenti sono all'origine di eventi di riassortimento che generano nuovi ceppi virali. Negli allevamenti intensivi le infezioni sostenute da virus influenzali suini tipo A (swIAV) avvengono tutto l'anno, probabilmente favorite dalle condizioni ambientali caratteristiche degli allevamenti intensivi. Nei mesi invernali, inoltre, possono essere diagnosticate infezioni con virus influenzali di origine umana. Nella sua forma classica, swIAV è responsabile di infezioni sporadiche negli allevamenti suini, che colpisce temporaneamente gran parte della popolazione suina nell'allevamento infetto. Tuttavia, una circolazione virale persistente tra fasi epidemiche è stata descritta in allevamenti europei, in particolar modo a ciclo chiuso. Queste forme endemiche causano focolai ripetuti in gruppi di animali successivi causando problemi a livello sanitario in un contesto di PRDC.

Inoltre, la ricerca dei virus influenzali per via indiretta, tramite indagine sierologica da sangue, risulta talvolta difficoltosa, rispetto ad altre malattie del suino. Questo è dovuto principalmente alla complessità antigenica dei sottotipi influenzali circolanti, che si ripercuote sulla sensibilità del test sierologico impiegato, ossia dell'inibizione dell'emoagglutinazione.

Nel presente studio, in 10 allevamenti del nord Italia, con diverso stato sanitario (vaccinati e non vaccinati per influenza), è stato eseguito un campionamento di sangue su suini riproduttori e suinetti, per evidenziare la presenza di anticorpi per influenza H1N1 avian-like (H1N1), H1N2 human-like (H1N2), H3N2, e H1N1pdm. Parallelamente nei suini di 30, 60, 90 giorni è stato eseguito il prelievo di tamponi nasali per indagini virologiche.

## MATERIALI E METODI

Durante l'autunno 2020, tra settembre ed ottobre, è stato eseguito uno screening su 10 allevamenti suini ubicati in Lombardia. Gli allevamenti selezionati sono stati divisi in due categorie: riproduttori vaccinati e riproduttori non vaccinati per influenza.

I 5 allevamenti della categoria riproduttori vaccinati eseguivano profilassi per influenza con vaccino trivalente a tappeto ogni 4 mesi, mentre gli altri non eseguivano e non hanno eseguito in passato alcuna profilassi vaccinale per influenza.

Gli allevamenti selezionati si dividono in riproduzione a ciclo aperto, riproduzione a ciclo chiuso e riproduzione con svezzamento ed ingrasso in diverso sito (multisito) (Tabella 1).

AZIENDA	TIPOLOGIA	SITI	SCROFE	SVEZZATI E GRASSI
F1	RIPRODUZIONE CICLO APERTO	UNICO	760	4000
F2	RIPRODUZIONE CICLO CHIUSO	UNICO	600	6000
F3	RIPRODUZIONE CICLO CHIUSO	UNICO	250	3200
F4	RIPRODUZIONE CICLO APERTO	MULTISITO	160	1700
F5	RIPRODUZIONE CICLO CHIUSO	UNICO	350	5300
F6	RIPRODUZIONE CICLO APERTO	UNICO	850	3000
F7	RIPRODUZIONE CICLO APERTO	MULTISITO	600	4000
F8	RIPRODUZIONE CICLO APERTO	MULTISITO	800	8000
F9	RIPRODUZIONE CICLO APERTO	UNICO	600	3500
F10	RIPRODUZIONE CICLO APERTO	UNICO	380	2100

**Tabella 1.** Descrizione degli allevamenti campionati

**Table 1.** Farms' description

Gli allevamenti 1,6,7,9,10 eseguono la vaccinazione dei riproduttori a tappeto ogni 4 mesi con vaccino trivalente mentre gli altri 5 allevamenti non eseguono alcun tipo di profilassi vaccinale per influenza.

Il protocollo di studio ha previsto il campionamento di 30 scrofe e di 3 gruppi di suini con 3 differenti età per un totale di 120 campioni per allevamento, ossia 300 scrofe e 900 suinetti provenienti dai 10 allevamenti arruolati. Trenta suinetti sono stati campionati allo svezzamento, con età di circa 28 giorni, trenta suinetti con età degli animali di circa 60 giorni di vita e trenta suinetti di circa 90 giorni.

I campioni sono stati conferiti presso la sezione diagnostica di Parma dell'IZSLER e qui processati. I prelievi dei riproduttori e dei suinetti sono stati eseguiti nella medesima giornata. Il prelievo è stato eseguito mediante uso di provette senza anticoagulante e mediante portaghi munito di ago di diversa misura in base all'età e alla categoria dei suini campionati. I suinetti sono stati campionati con l'impiego di tamponi nasali sterili "Cliniswab", in plastica, puntale in viscosa e provetta contenente terreno di trasporto. I tamponi sono stati analizzati in pool di 5, eseguendo quindi 18 pool per ogni allevamento, divisi in 3 gruppi di 6 pool in base all'età dei suini campionati.

I pool sono stati testati per swIAV con metodica RT-PCR real-time sul gene codificante la proteina matrice. In caso di positività, si è effettuata la tipizzazione virale con multiplex RT-PCR così come descritto in precedenza (Chiapponi et al., 2017).

I campioni di sangue sono stati testati per la ricerca di anticorpi diretti contro virus influenzali suini mediante test di inibizione dell'emoagglutinazione (HI) utilizzando virus di riferimento (ceppi standard) circolanti sul territorio italiano: A/swine/Italy/311368/2013 H1N1 avian-like, A/swine/Italy/284922/2009 H1N2 human-like, A/swine/Italy/311349/2013 H3N2 e A/swine/Italy/282866/2013 H1N1pdm (OIE, 2018).

I risultati sono stati espressi in titoli da negativo a 1/640, con diluizioni intermedie nella prima fase descrittiva, mentre nella valutazione statistica tra gruppi sono stati considerati i campioni come positivi o negativi, indipendentemente dal titolo rilevato.

Al fine di valutare la significatività statistica dei risultati ottenuti tra i gruppi di suini provenienti da allevamenti vaccinati e non e tra le età dei suini campionati, è stata impiegata la regressione logistica lineare.

Sono stati considerati statisticamente significativi valori di  $p < 0,05$ .

## RISULTATI

### Analisi sierologica

L'analisi sierologica eseguita con test HI su tutti i campioni, scrofe e suinetti, ha evidenziato la positività anticorpale nella maggior parte dei soggetti campionati, con una percentuale di positività ad almeno un sottotipo del 72,7% (873/1200).

Valutando ogni sottotipo singolarmente, possiamo riscontrare le percentuali di positività, divise per titolo rilevato, illustrate nella Tabella 2.

	MEDIA			
	H1N1 F1-F10	H1N2 F1-F10	H3N2 F1-F10	H1N1 PAN F1-F10
<b>1/20</b>	7,17%	14,33%	19,08%	13,42%
<b>1/40</b>	6,58%	9,83%	13,75%	8,92%
<b>1/80</b>	5,42%	8,00%	12,42%	5,58%
<b>1/160</b>	2,42%	5,42%	7,92%	3,42%
<b>1/320</b>	0,92%	1,08%	1,17%	0,95%
<b>1/640</b>	0,08%	0,50%	0,33%	0,08%
<b>NEG</b>	77,42%	60,75%	46,58%	67,92%

**Tabella 2.** Sieroprevalenza del campione analizzato.

**Table 2.** Serological prevalence of the sample.

Nel gruppo dei riproduttori vaccinati, si rileva per il sottotipo H1N1 che il 47% dei soggetti non presenta anticorpi, mentre per H1N2 il 19% e per H3N2 l'8% non presentano anticorpi rilevabili con i ceppi standard impiegati nella prova sierologica (Tabella 3).

Negli allevamenti con riproduttori non vaccinati si rileva comunque presenza di anticorpi, soprattutto a basso titolo, anche se la maggior parte dei campioni risulta negativo.

Se analizziamo solamente i riproduttori, dividendoli tra allevamenti vaccinati e allevamenti non vaccinati, notiamo una significativa differenza ( $P < 0,0001$ ) tra i due gruppi come riportato in Tabella 4.

	H1N1		H1N2		H3N2	
	Az. vaccinate	Az. non vaccinate	Az. vaccinate	Az. non vaccinate	Az. vaccinate	Az. non vaccinate
1/20	11,33%	7,33%	22,67%	16,00%	12%	24,67%
1/40	16,67%	0%	20%	7,33%	18%	6%
1/80	18,67%	0%	22,67%	0%	30%	0,67%
1/160	4%	0%	13,33%	0%	31,33%	2%
1/320	1,33%	0%	2%	0%	0,67%	0%
1/640	0,67%	0%	0%	0%	0%	0%
NEG	47,33%	92,67%	19,33%	76,67%	8%	66,67%

**Tabella 3.** Sieroprevalenza dei riproduttori campionati divisi in sottotipi e tra allevamenti vaccinati e non.

**Table 3.** Serological prevalence of sows, considering the influenza subtypes and vaccinated/non-vaccinated status of the herds

Az. vaccinate (si/no)		H1N1			H1N2			H3N2			H1N1pan	
		Pos	Neg		Pos	Neg		Pos	Neg		Pos	Neg
		si %	47,33		si %	80,67		19,33	si %		92	8
	no %	23,33	76,67	no %	23,33	76,67	no %	33,33	66,67	no %	8,67	91,33

**Tabella 4.** Analisi statistica dei campioni delle scrofe divisi tra aziende vaccinate e non, per tutti i sottotipi

**Table 4.** Statistical analysis of the sow samples, divided from vaccinated farms and not for all subtypes

L'analisi dei riproduttori, per quanto riguarda i risultati della sierologia per H1N1pdm è stata dapprima eseguita aggregata, poiché nessun allevamento risulta vaccinato con il sottotipo pandemico. Il 68% dei campioni risulta negativo ma si rilevano positività superiori o uguali a 1/160 nel 4% circa dei campioni eseguiti (Tabella 5).

In seguito, applicando la divisione precedentemente utilizzata tra allevamenti vaccinati con vaccino trivalente e non, abbiamo rilevato una significativa differenza tra i due gruppi ( $P < 0,0001$ ).

Gli allevamenti non vaccinati presentano il 91% dei campioni negativi, mentre il gruppo vaccinato con vaccino trivalente presenta il 46% di campioni negativi verso il sottotipo pandemico (Tabelle 4 e 5).

	H1N1pdm	H1N1pdm	
		Riproduttori (VACC. Trivalente)	Riproduttori (non VACC)
1/20	11,33%	16,67%	6%
1/40	8,67%	15,33%	2%
1/80	7,67%	14,67%	0,67%
1/160	2,67%	5,33%	0%
1/320	1%	2%	0%
1/640	0%	0%	0%
NEG	68,67%	46%	91,33%

**Tabella 5.** Sieroprevalenza dei riproduttori campionati per H1N1pdm e divisione tra allevamenti vaccinati con vaccino trivalente e non vaccinati.

**Table 5.** Serological prevalence of sows to H1N1pdm non vaccinated and vaccinated with swine influenza trivalent vaccine.

I campionamenti eseguiti sui suinetti sono stati divisi nei due gruppi, con riproduttori vaccinati e non vaccinati ed in seguito sono stati suddivisi ulteriormente in tre gruppi in base all'età degli animali campionati (30gg, 60gg e 90gg) (Tabelle 6 e 7).

Az. vaccinate (si/no)	H1N1		H1N2		H3N2		H1N1pdm	
	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg
	si %	26,22	73,78	46	54	75,78	24,22	34,22
no %	13,56	86,44	20,89	79,11	28,22	71,78	30,44	69,56

**Tabella 6.** Prevalenza sierologica nei confronti dei vari sottotipi tra suinetti di aziende vaccinate e non.

**Table 6.** Serological prevalence of different swIAV subtypes of pigs belonging to vaccinated and not vaccinated farms.

La prevalenza sierologica dei sottotipi H1N1, H1N2, H3N2, indipendentemente dall'età di prelievo dei suinetti, mostra una differenza altamente significativa ( $P < 0,0001$ ) tra il gruppo vaccinato e il gruppo non vaccinato.

Invece, non si rileva differenza significativa tra il gruppo vaccinato e quello non vaccinato per il sottotipo H1N1pdm (Tabella 6).

età' del suinetto al prelievo in gg	H1N1		H1N2		H3N2		H1N1pdm	
	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg
30 gg (%)	9,67	90,33	24,33	75,67	61,33	38,67	17,67	82,33
60 gg (%)	5,33	94,67	11	89	33,33	66,67	21	79
90 gg (%)	44,67	55,33	65	35	61,33	38,67	58,33	41,67

**Tabella 7.** Analisi statistica dei campioni dei suinetti divisi per età di prelievo considerando tutti i sottotipi

**Table 7.** Statistical analysis of nurseries pigs divided for pig age, considering all subtypes

Per il sottotipo H1N2 il numero di campioni positivi a 30 giorni è maggiore del numero dei positivi a 60 giorni ( $P < 0,001$ ) ed il numero dei positivi a 90 giorni è superiore sia ai positivi a 30 giorni sia ai positivi a 60 giorni.

Nei sottotipi H1N1 e H1N1pdm il numero dei campioni positivi a 90 giorni è significativamente maggiore dei campioni a 30 e 60 giorni ( $P < 0,0001$ ).

Per quanto riguarda il sottotipo H3N2, i campioni risultati positivi a 30 giorni sono numericamente gli stessi registrati a 90 giorni (184), ed entrambi sono significativamente maggiori rispetto a quanto osservato a 60 giorni ( $P < 0,0001$ ) (Tabella 7).

Analizzando il numero di campioni positivi per un solo sottotipo o più sottotipi, è stato riscontrato che nelle aziende vaccinate la percentuale di campioni positivi a più sottotipi (53,6%) è significativamente maggiore rispetto alle aziende non vaccinate (42,4%) ( $P = 0,005$ ).

### Analisi virologica

I 900 tamponi totali sono stati raggruppati in 180 pool, e di questi, 34 sono risultati positivi (18,88%) in RT-PCR per swIAV. La positività ai virus influenzali ha riguardato 7 aziende su 10 (70%) (Tabelle 8 e 9).

RIPRODUTTORI VACCINATI						
Età	N.pool	F1	F6	F7	F9	F10
30 gg	1	P	N	N	N	N
	2	N	N	N	N	N
	3	N	N	N	P	N
	4	N	N	N	P	N
	5	N	N	N	P	N
	6	N	N	N	P	N
60 gg	7	P	P	N	N	P
	8	N	P	N	N	P
	9	N	P	N	N	N
	10	N	N	N	N	N
	11	P	P	N	N	P
	12	N	P	N	N	P
90 gg	13	N	P	N	N	N
	14	N	N	N	N	N
	15	N	N	N	N	N
	16	N	N	N	N	N
	17	N	N	N	N	N
	18	N	P	N	N	N

**Tabella 8.** Positività virologiche nei pool di 5 tamponi analizzati nelle aziende che vaccinano i riproduttori

**Table 8.** Virological positivity of nasal swabs analyzed in pool of 5 collected in vaccinated farms

Analizzando le aziende che vaccinano i riproduttori (Tabella 8), notiamo che 4 aziende su 5 presentano circolazione virale e che il 20% dei campioni analizzati risulta positivo. Dividendo per fasce di età abbiamo osservato la circolazione virale, a 30, 60, 90 giorni in 2, 3 e 1 azienda rispettivamente.

RIPRODUTTORI NON VACCINATI						
Età	N. pool	F2	F3	F4	F5	F8
30 gg	1	P	N	N	P	N
	2	P	N	N	N	N
	3	N	N	N	P	N
	4	P	N	N	N	N
	5	P	N	N	N	N
	6	P	N	N	P	N
60 gg	7	N	N	N	N	N
	8	N	N	N	N	N
	9	N	N	N	N	N
	10	N	N	P	N	N
	11	P	N	N	N	N
	12	P	N	N	N	N
90 gg	13	N	N	P	N	N
	14	N	N	N	N	N
	15	N	N	N	N	N
	16	P	N	N	N	N
	17	P	N	N	N	N
	18	P	N	P	N	N

**Tabella 9.** Positività virologiche nei pool di 5 tamponi analizzati nelle aziende che non vaccinano i riproduttori.

**Table 9.** Virological positivity of nasal swabs analyzed in pool of 5 collected in non vaccinated farms

Nelle aziende con riproduttori non vaccinati sono stati rinvenuti 16 pool positivi sui 90 analizzati con una percentuale di positività del 17,78% (tabelle 9 e 10).

Az. vaccinate (si/no)	esito tampone nasale (Pos/Neg)		
		Neg	Pos
	si %	80	20
no %	82,22	17,78	

**Tabella 10.** Presenza di esito positivo o negativo al tampone nasale in aziende vaccinate e non

**Table 10.** positive or negative nasal swamp related to vaccinated or not farms

Non si rileva una differenza significativa relativa al fattore riproduttori vaccinati e non, per quanto riguarda la circolazione virale nei suinetti. Se consideriamo le fasce di età vi sono due aziende che presentano circolazione di virus influenzali nei suinetti svezzati di 30 giorni circa, due aziende con circolazione nei suinetti di 60 giorni e due aziende con circolazione nel gruppo a fine svezzamento (Tabella 9).

I pool risultati positivi sono quindi stati analizzati e tipizzati al fine di definire la tipologia dei sottotipi isolati (Tabella 11).

SOTTOTIPI					
<b>F1</b>	H1avN2				
<b>F2</b>	H1avN1	H1huN2	H1hu-N non tip.	H1huN2/N1	H1huN2
<b>F4</b>	H1N1pdm				
<b>F5</b>	H1avN1	H1av-N non tip.			
<b>F6</b>	H1avN1	<b>H1huN2</b>			
<b>F9</b>	H1huN2				
<b>F10</b>	H1avN1	H non tip. N1			

**Tabella 11.** Tipizzazione dei sottotipi circolanti negli allevamenti. H1hu: H1 human-like, H1av: H1 avian-like, H1hu-N non tip.: H1 human-like N non tipizzabile, H non tip. N1: H non tipizzabile N1

**Table 11.** Typing of circulating subtypes isolated in different farms. H1hu: H1 human-like, H1av: H1 avian-like, H1hu-N non tip.: H1 human-like N non typeable, H non tip. N1: H non typeable N1.

In due allevamenti (F2 e F6) sono stati rilevati due diversi sottotipi (H1N1 e H1N2) in diversi pool analizzati.

## DISCUSSIONE

Dall'analisi sierologica eseguita su campioni ematici prelevati in suini riproduttori e suinetti di 30, 60 e 90 giorni d'età in dieci allevamenti della Lombardia, si osserva che il sottotipo H3N2 è risultato essere quello caratterizzato da maggiore sieroprevalenza, seguito dal sottotipo H1N2, H1N1pdm e H1N1avian like.

Il confronto tra il gruppo vaccinato con vaccino trivalente e quello non vaccinato evidenzia, nei riproduttori campionati, una maggior presenza di campioni positivi nel primo gruppo, e questa situazione si verifica per tutti i tre sottotipi (H3N2, H1N2, H1N1avian like) seppur in misura differente. Tale situazione è compatibile con la produzione di anticorpi negli animali vaccinati che si associa all'impossibilità di discriminare la sieropositività di tipo vaccinale. Nei riproduttori, è da sottolineare che il 47% dei soggetti nel gruppo vaccinato non presentava positività anticorpale per il sottotipo H1N1 utilizzato nel test. La prevalenza di campioni negativi per lo stesso sottotipo si assestava invece al 92% nel gruppo non vaccinato.

Per quanto riguarda il sottotipo H1N1pdm, nei riproduttori si osserva positività sierologica nel 33% dei campioni aggregati, tuttavia, dividendo i campioni nei due gruppi, vaccinati con vaccino trivalente e non, possiamo notare come la positività del gruppo vaccinato sia significativamente superiore, nonostante nel vaccino trivalente non sia contenuto il sottotipo

pandemico; tale situazione potrebbe essere dovuta ad una certa immunità crociata con il sottotipo H1N1 avian-like.

L'analisi dei campioni eseguiti sui suinetti evidenzia una situazione comune in tutti i sottotipi; infatti, i gruppi campionati a 90 giorni presentano un numero significativamente superiore di campioni positivi rispetto agli altri gruppi di età di campionamento e questo è riconducibile alla circolazione attiva del virus influenzale nel gruppo.

Dall'analisi dei tamponi nasali si evince circolazione virale negli allevamenti campionati, infatti, ben 34 pool sui 180 analizzati (70%) hanno mostrato positività per virus influenzali. Questa circolazione virale è stata rilevata in 4 aziende su 5 che vaccinano i riproduttori e in 3 su 5 di quelle che non li vaccinano. Il numero dei pool positivi è di 18 per le aziende che vaccinano i riproduttori e 16 per le aziende che non vaccinano. Per quanto riguarda la rilevazione di circolazione virale non c'è differenza significativa tra le aziende che vaccinano riproduttori e quelle che non vaccinano ( $P=0,3$ ).

Questo è stato osservato da altri Autori che descrivono come la circolazione virale non sia influenzata dal fattore vaccinazione, riportando che la circolazione negli allevamenti vaccinati e non vaccinati, non sia risultata statisticamente differente (Cador et al., 2017). La vaccinazione dei riproduttori non sembra quindi influenzare la circolazione virale nei suinetti in svezzamento (Ryt-Hansen et al., 2019).

I sottotipi maggiormente rilevati con l'indagine virologica sono risultati essere H1N1 e H1N2. Questo dato è in contrasto con il risultato dell'indagine sierologica che ha invece evidenziato una maggiore sieroprevalenza nei confronti del sottotipo H3N2 che tuttavia è noto essere il sottotipo geneticamente meno variabile e verso il quale è plausibile trovare una maggiore immunità sia in animali vaccinati che non vaccinati. La maggiore variabilità dei ceppi H1N1 e H1N2, oltre a favorirne la circolazione, rende meno efficace il loro monitoraggio con metodi sierologici.

Risulta rilevante sottolineare che in nessuna di queste aziende è stata osservata una forma clinica con forme respiratorie, anoressia e ipertermia marcata, con diagnosi di influenza, durante il periodo dello studio.

Tale situazione sottolinea come la scelta di vaccinare i riproduttori sia stata fatta sulla base di segni riferibili ad influenza rilevati in passato ma anche a situazioni di rischio legate ad altre variabili aziendali che hanno portato il veterinario aziendale e l'allevatore ad inserire la vaccinazione per influenza nel piano vaccinale della mandria.

La sierologia, tuttavia, non sembra un adeguato sistema per stabilire il rischio di circolazione virale in azienda e necessita l'affiancamento della ricerca diretta del virus. La ricerca diretta, mediante tampone nasale, ha permesso di rilevare virus influenzali anche in aziende dove non era presente sintomatologia riferibile a influenza, confermando l'importanza e l'elevata frequenza della circolazione endemica dei virus influenzali negli allevamenti suini.

## **CONCLUSIONE**

I risultati del presente lavoro evidenziano la circolazione endemica di virus influenzali negli allevamenti campionati. In base a tale risultato, è importante considerare la vaccinazione dei riproduttori anche in assenza di casi clinici di influenza abbinando in condizioni particolari anche la vaccinazione dei suini da ingrasso. Infatti, negli allevamenti a ciclo chiuso, ma anche in quelli a ciclo aperto, che movimentano suini tra i 90 e i 100 giorni di età, possiamo incontrare una popolazione fortemente recettiva per i virus influenzali. La ricerca diretta del virus aiuta a comprendere quali siano i sottotipi circolanti e a valutare anche la necessità di utilizzo del ceppo vaccinale H1N1pdm che non è di norma abbinato agli altri sottotipi.

Considerando che ogni azienda necessita di un adeguato studio per il posizionamento della vaccinazione dei suinetti, l'aumento significativo di positività anticorpale a 90 giorni di vita

osservato nel presente lavoro, indica che la vaccinazione dei suinetti debba essere precoce, in modo che questi possano sviluppare una solida immunità prima dei 90 giorni di vita.

Visto il rinvenimento di virus influenzali già in suini a 30 giorni, il posizionamento della vaccinazione nei suinetti non può prescindere da un significativo campionamento mediante tamponi nasali per la ricerca diretta del virus.

La routine di allevamento spesso porta ad un posizionamento della vaccinazione per influenza nei suini da produzione in un periodo compreso tra i 56 e i 96 giorni di vita, con tendenza a posticipare il primo intervento attorno ai 70 giorni.

L'abbinamento della diagnosi indiretta e diretta sembra essere la migliore scelta per poter realmente comprendere la circolazione virale in un allevamento, scegliere il corretto vaccino e stabilirne il posizionamento.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Chiapponi, C., Ebranati, E., Pariani, E., Faccini, S., Luppi, A., Baioni, L., Manfredi, R., Carta, V., Merenda, M., Affanni, P., Colucci, M.E., Veronesi, L., Zehender, G., Foni, E., (2017). Genetic analysis of human and swine influenza A viruses isolated in Northern Italy during 2010-2015 Zoonoses Public. Health.
2. OIE (2018): Influenza A virus of swine (NB: Version adopted in May 2015). Chapter 3.8.7 in Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2019. [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.08.07\\_INF\\_A\\_SWINE.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.08.07_INF_A_SWINE.pdf)
3. Ryt-Hansen P., Larsen I., Sonne Kristensen C., Krog J.S., Wacheck S., Larsen L.E. (2019) “Longitudinal field studies reveal early infection and persistence of Influenza A virus in piglets despite the presence of maternally derived antibodies”. Veterinary Research 50,36 (2019)
4. Gramer M. (2012) “Flu control in young pigs – the role of maternal antibodies” NAVC Conference 2012 large animals
5. Cador C., Andraud M., Willem L., Rose N. (2017) “Control of endemic swine flu persistence in farrow-to-finish pig farms: a stochastic metapopulation modeling assessment”. Veterinary Research, BioMed Central, 2017, 48 (1), pp.58.