

# PROGRAMMA DI ERADICAZIONE DI *ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE* IN UN ALLEVAMENTO SUINO

## *ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE* ERADICATION PROGRAM IN A PIG HERD

ARIOLI E.<sup>2</sup>, CALEFFI A.<sup>2</sup>, LUPPI A.<sup>1</sup>, BONILAUDI P.<sup>1</sup>, MAIOLI G.<sup>1</sup>, DOTTORI M.<sup>1</sup>, MARCO E.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

<sup>2</sup> Gruppo Veterinario Suinicolo Mantovano, <sup>3</sup> marco i collell s.l. Barcellona

**Parole chiave:** *Actinobacillus pleuropneumoniae*, eradicazione, suino

**Key words:** *Actinobacillus pleuropneumoniae*, eradication, pig

### RIASSUNTO

Gli Autori descrivono i risultati dell'applicazione di un programma di eradicazione per *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) in un allevamento suino italiano, dove la pleuropneumonia da APP costituiva il problema più importante dal punto di vista delle perdite sul ciclo produttivo. Nell'allevamento in esame un ceppo di APP biotipo 1 sierotipo 9 è stato ripetutamente isolato nel periodo 2005-2008. Nello stesso periodo, le indagini sierologiche per la ricerca di anticorpi nei confronti di APP, hanno sempre evidenziato elevate sieroprevalenze negli animali di tutte le categorie produttive. Il programma di eradicazione ha previsto l'impiego del depopolamento parziale delle scrofe e completo degli animali al di sotto di 10 mesi d'età; inoltre è stato associato a vari trattamenti antibiotici con enrofloxacin e fluorfenicolo nelle scrofe e con tulatromicina nei suinetti. Gli antibiotici impiegati sono stati scelti sulla base dei risultati delle MIC (minima concentrazione inibente) eseguite sul ceppo di APP ripetutamente isolato. Il livello di biosicurezza è stato valutato all'inizio del programma di eradicazione ed implementato durante tutto il suo svolgimento, con lo scopo di ridurre il rischio di reintroduzione di APP nell'allevamento. I rilievi clinici e di laboratorio dopo l'inizio del programma di eradicazione non hanno evidenziato la circolazione di APP nell'allevamento stesso. I risultati dell'applicazione della griglia SPES (sistema di valutazione delle pleuriti al macello), su polmoni provenienti da partite di suini prima e dopo l'attuazione del programma di eradicazione, hanno evidenziato rispettivamente una elevata incidenza delle pleuriti dorso-caudali, fortemente indicative di precedenti pleuropneumoniti da APP (grado 2,3 e 4) nei primi e la totale assenza nei secondi. I dati produttivi dell'allevamento (indice di conversione, omogeneità delle partite al macello, durata del ciclo produttivo, ecc.) hanno subito un notevole miglioramento in seguito all'applicazione del programma di eradicazione.

### ABSTRACT

The Authors describe the *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) eradication program application results in a pig Italian herd in which APP disease had a very important economic impact reducing pig production. From 2005 to 2008 APP biovar 1 serotype 9 was isolated repeatedly from the herd and a very high seroprevalence for APP was observed. The

eradication program used partial depopulation of sow and a complete depopulation of animal under 10 months of age, coupled with treatment with enrofloxacin and florfenicol in sow and tulatromycin in piglets. The antimicrobials were selected on the basis of MIC (minimal inhibitory concentration) results of APP strain isolated in the herd. The level of bio-security was considered before eradication and implemented during the program application, in order to reduce the risk of APP reinfection in the herd.

Twelve months after the starting of the eradication program, the clinical and laboratory findings suggested that the APP eradication had succeeded in this herd. The comparative application and results of slaughterhouse pleurisy evaluation system (SPES) on lungs belonging to batches of pigs before and after the application of the eradication program showed a high and absent incidence of pleural lesions associated to APP infection (grade 2, 3 and 4) respectively. Production data showed an improvement after the eradication program application.

## **INTRODUZIONE**

*Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) è l'agente eziologico della pleuropneumonia suina, una malattia respiratoria molto diffusa tra gli allevamenti suini del nord Italia, dove si producono animali fino ad un peso di 160 Kg ed oltre. APP è classificato in due biotipi, di cui il primo nicotinammide adenine dinucleotide – NAD dipendente e in 15 sierotipi. Ogni sierotipo è in grado di produrre diverse tossine denominate ApxI, ApxII, ApxIII e ApxIV, considerate i principali fattori responsabili delle lesioni necrotico-emorragiche caratteristiche della pleuropneumonia suina. In generale i ceppi di APP appartenenti ai sierotipi 1,5,9 e 11 producono le tossine ApxI e ApxII; quelli inclusi nei sierotipi 2,3,4,6,8 e 15 producono la tossina ApxII ed ApxIII; i ceppi appartenenti ai sierotipi 7,12 e 13 solo la tossina ApxII e infine i sierotipi 10 e 14 producono esclusivamente la tossina ApxI. La tossina ApxIV, caratterizzata da lieve attività emolitica, viene invece prodotta da tutti i sierotipi. La variabilità nelle caratteristiche di virulenza tra i ceppi appartenenti a diversi sierotipi sarebbe da relazionare alla capacità di questi di produrre le tossine sopracitate.

Esistono tuttavia delle differenze in termini di virulenza all'interno dello stesso sierotipo, come ad esempio si osserva per il sierotipo 2 (i ceppi francesi ad alta virulenza differiscono da quelli isolati in Canada e USA che sono caratterizzati da bassa virulenza) o per il sierotipo 3, ad alta virulenza in Gran Bretagna e a bassa virulenza in altri paesi Europei. La malattia è stata descritta in tutta Europa così come negli Stati Uniti, Canada, Messico, Sud America, Giappone e Australia (Sørensen et al., 2006) con prevalenze dei singoli sierotipi che differiscono a seconda delle aree geografiche considerate. Per quanto riguarda l'Italia i sierotipi isolati con maggiore frequenza sono il 2, il 7 ed il 9 (dati non pubblicati).

APP è responsabile di gravi forme cliniche acute, caratterizzate da elevata mortalità negli animali colpiti, tuttavia il superamento della fase acuta comporta lo sviluppo di lesioni croniche che si manifestano come gravi pleuriti fibrose a localizzazione dorso-caudale, che compromettono seriamente la carriera produttiva dell'animale (Sørensen et al., 2006; Pinton et al., 1993). Uno dei principali problemi nel controllo della malattia è costituito dalla gravità delle lesioni che rendono inefficaci i trattamenti con antibiotici verso cui APP mostra sensibilità in vitro. Oltre ai quadri clinici descritti precedentemente è possibile incontrare la forma sub-clinica, in cui gli animali non presentano i caratteristici sintomi né le suggestive lesioni anatomopatologiche polmonari al macello. L'identificazione degli allevamenti che presentano la forma sub-clinica è di fondamentale importanza per il controllo della malattia, considerando che la presenza di animali portatori costituisce la principale fonte di trasmissione dell'infezione tra gli allevamenti.

APP è da considerare probabilmente uno dei patogeni che presenta il maggior impatto

economico sulla suinicoltura mondiale. Le perdite economiche causate da APP sono il risultato della somma di numerosi fattori come l'aumento della mortalità in allevamento, la riduzione della crescita degli animali con conseguente mancata uniformità delle partite colpite, lo scadente indice di conversione dell'alimento e l'incremento dei costi per i trattamenti terapeutici e profilattici (Losinger, 2005).

Sebbene le misure più appropriate per il controllo della malattia, sia da un punto di vista sanitario che economico siano ancora materia di discussione, è possibile distinguerle in tre grandi gruppi: interventi terapeutici mirati, protocolli di vaccinazione e piani di eradicazione, in quest'ultimo caso seguendo l'esempio di paesi del Nord Europa che già da alcuni anni hanno intrapreso la strada dell'eradicazione per importanti patologie batteriche come la dissenteria emorragica da *Brachyspira hyodysenteriae*, l'ileite da *Lawsonia intracellularis*, la polmonite enzootica da *Mycoplasma hyopneumoniae* e la pleuropolmonite da APP.

Nel presente lavoro si riporta l'esperienza condotta nell'eradicazione di APP in un allevamento suino, descrivendo le operazioni condotte nel raggiungimento dell'obiettivo ed i dati preliminari sui benefici ottenuti in termini produttivi ed economici.

## **MATERIALI E METODI**

### *Allevamento*

L'azienda oggetto del presente lavoro era composta da una entità produttiva in cui venivano allevate 1100 scrofe, 2000 capi in svezzamento, 1800 capi "in messa a terra", 1600 capi in magronaggio e 4500 animali all'ingrasso. Inoltre l'azienda era ed è dotata di un sito 2 da 1900 capi ubicato a circa un km dalla scrofaia e da due siti 3, il primo ospitante 1700 capi ed il secondo 3000 capi a circa 5 km dall'azienda principale.

La gestione della scrofaia, nel periodo precedente l'applicazione del protocollo di eradicazione di APP era in banda settimanale e lo svezzamento a 28 giorni portava alla produzione di lotti da 500 suinetti che per 4 settimane alimentavano gli svezzamenti e successivamente le strutture di magronaggio ed ingrasso interni alla scrofaia e per le 4 settimane successive il sito 2 esterno e le strutture di ingrasso e magronaggio dei siti 3 esterni. L'azienda praticava esclusivamente un'auto-rimonta interna e anche la produzione di seme per la fecondazione artificiale era affidata ad un centro verri aziendale composto da 8 animali.

In tutte le strutture veniva praticato il tutto-pieno/tutto-vuoto per settore o capannone evitando quindi il flusso continuo, in modo da ridurre il rischio delle infezioni intra-gruppi da APP.

### *Piano vaccinale e strategie di controllo di APP pre-eradicazione*

Nell'allevamento veniva praticato un piano vaccinale nei confronti di APP che ha subito nel corso degli anni variazioni di "timing" sia in seguito ad una comparsa più tardiva della forma clinica sia sulla base dei risultati degli screening sierologici longitudinali, atti a verificare la fine della immunità materna nei suinetti. Inizialmente, infatti, veniva attuato un piano vaccinale classico con due interventi, rispettivamente a 6 e 9 settimane di età, in quanto la comparsa della malattia era precoce e cioè intorno a 12/14 settimane di vita. Con il passare del tempo, come accennato, la sintomatologia faceva la sua comparsa sempre più tardivamente e di conseguenza il piano vaccinale è stato modificato spostando i due interventi vaccinali a 14 e 17 settimane. Oltre alla vaccinazione per APP veniva applicato nei suinetti un piano vaccinale nei confronti di *M. hyopneumoniae*, del virus della malattia di Aujeszky e nell'ultimo anno anche di *Circovirus* tipo 2. Nella scrofaia un piano vaccinale mirato prevedeva interventi per rinite atrofica, mal rosso e parvovirosi ed una vaccinazione a tappeto trimestrale per malattia di Aujeszky e PRRS.

L'allevamento praticava il tutto-pieno/tutto-vuoto per settore o capannone, con annessa "welcome therapy" impiegando trattamenti antibiotici "intermittenti" ad attività batteriostatica

nei confronti di APP durante le fasi di magronaggio. Quest'ultima pratica aveva lo scopo di permettere la circolazione del patogeno con conseguente infezione degli animali e la produzione da parte di questi di anticorpi specifici senza che si manifestasse la forma clinica.

*Diagnosi della malattia ed indagini pre e post-eradicazione*

Nell'allevamento in questione la pleuropolmonite da APP era storicamente presente e negli ultimi anni la sua incidenza aveva mostrato un incremento, sino a diventare il problema più importante dal punto di vista delle perdite sul ciclo produttivo. Nel periodo pre-eradicazione sono stati impiegati metodi diagnostici diretti ed indiretti, per conoscere la natura e l'entità del problema sanitario, gli stessi impiegati durante e dopo l'applicazione del protocollo di eradicazione per mantenere monitorata la situazione sanitaria dell'allevamento. Le indagini sopraccitate sono state condotte presso l'Istituto Zooprofilattico della Lombardia e dell'Emilia Romagna (IZSLER), Sezioni di Reggio Emilia, Mantova e Parma.

La ricerca di APP è stata eseguita attraverso la semina, su apposito terreno colturale, di materiale patologico prelevato da polmoni presentanti caratteristiche lesioni riferibili a pleuropolmonite fibrino-necrotico-emorragica (nel periodo pre-eradicazione) e su tutti i polmoni di animali morti con sintomatologia respiratoria (periodo post-eradicazione) (tabella 1). L'esame colturale è stato eseguito, come da procedure standardizzate presso i laboratori dell'IZSLER, su agar sangue addizionato con nicotinammide adenine dinucleotide – NAD e successiva incubazione in termostato a CO<sub>2</sub> alla temperatura di 37°C per 48 ore. Dopo opportuna incubazione le colonie tipiche, per morfologia riferibili ad APP, sono state sottoposte ai seguenti test di conferma:

- valutazione microscopica tramite colorazione di Gram;
- test biochimici (test dell'ureasi, della fermentazione del trealosio e mannitolo secondo metodica standardizzata);
- test microbiologico (semina su agar siero per la determinazione del biotipo).

Per la determinazione del sierotipo è stata impiegata una metodica di sieroagglutinazione impiegando anti-sieri policlonali di coniglio prodotti nei confronti dei singoli sierotipi di APP. Dai ceppi di APP isolati è stata testata la sensibilità agli antibiotici attraverso l'allestimento di antibiogrammi e MIC (minima concentrazione inibente) impiegando metodiche standardizzate presso la Sezione di Parma dell'IZSLER.

Tabella 1: Numero totale di conferimenti (polmoni/carcasse) inviati con anamnesi di patologia respiratoria presso l'IZSLER provenienti dall'allevamento in esame dal 2005 al 2009.

Table 1: Samples sent to the IZSLER laboratories with respiratory medical history from 2005 to 2009.

ANNO*	N° conferimenti	N° di polmoni/ carcasse
2005	5	23
2006	6	11
2007	5	5
2008	10	25
2009	1	5

Le indagini sierologiche per la ricerca di anticorpi nei confronti di APP sono state eseguite durante il periodo 2005-2009 impiegando differenti kit ELISA:

- test ELISA indiretta HIPRA che effettua una rilevazione anticorpale senza differenziazione dei sierotipi fornendo un risultato qualitativo (positivo-negativo);
- il test ELISA indiretta BOMMELI/IDEXX che evidenzia anticorpi nei confronti della tossina Apx-IV e che fornisce sempre un risultato qualitativo;
- kit ELISA indiretta Vetquinol in grado di fare una parziale sierotipizzazione in quanto riunisce i sierotipi 1-9-11, i sierotipi 4-7 ed il sierotipo 2 rispettivamente in tre differenti kit.

I prelievi di sangue sono stati effettuati negli animali presenti nel magronaggio, nell'ingrasso e nei riproduttori. Nella tabella 2 si riporta il dato relativo ai campioni di sangue sottoposti ad indagini sierologiche nei periodi pre e post-eradicazione.

Tabella 2: Numero totale di conferimenti per indagini sierologiche inviati presso l'IZSLER, provenienti dall'allevamento in esame dal 2005 al 2009.

Table 2: Blood samples sent to the IZSLER laboratories for APP serological investigation from 2005 to 2009.

ANNO*	ESAMI SIEROLOGICI PER APP	
	N° prelievi	N° campioni
2005	6	200
2006	6	132
2007	8	442
2008	5	130
2009	7	204

\*Periodo 2005-2008 pre-eradicazione; 2009 post-eradicazione

Sia nelle fasi precedenti sia in quelle successive all'applicazione del protocollo di eradicazione sono state valutate al macello le lesioni pleuriche croniche utilizzando il metodo recentemente implementato e denominato "SPES" (Slaughterhouse Pleurisy Evaluation System - Sistema di valutazione al macello delle pleuriti) (Dottori et al., 2007 e 2008; Merialdi et al., 2008). La griglia S.P.E.S. è stata applicata nel 2005 a 428 polmoni, nel 2007 a 101 polmoni e nel 2009 a 279 polmoni, con la valutazione nella stessa seduta di due partite composte da 144 e 135 polmoni provenienti rispettivamente da uno degli allevamenti che ospitava ancora animali positivi e dal sito APP free.

Il metodo S.P.E.S. impiegato si basa sull'assegnazione di un punteggio da 0 a 4 in base alla presenza, all'estensione ed alla posizione delle pleuriti osservate sui 2 polmoni di ogni animale direttamente in catena di macellazione (tabella 3).

Tabella 3: Griglia di valutazione S.P.E.S. in sintesi.

Table3: The S.P.E.S. grid for chronic pleurisy (CP) score.

Punteggio	Lesione
0	Assenza di lesioni
1	Lesioni pleuriche di tipo aderenziale tra le porzioni crani ventrali dei lobi anteriori, intermedi e diaframmatici, oppure aderenza di modesta entità, monolaterale e ventrale di un lobo diaframmatico.
2	Lesione/i aderenziale/i di lieve o media estensione localizzate ad uno dei lobi diaframmatici con carattere di cronicità (lacinie e fibrina in assenza di essudazione ed abbondante tessuto di granulazione).
3	Lesioni dello stesso tipo 2, ma bilaterali; lesioni monolaterali ad un lobo diaframmatico con notevole estensione.
4	Lesioni gravi per estensione (almeno 1/3 di entrambi i lobi diaframmatici) e/o per acuzie (essudazione ed abbondante tessuto di granulazione).

Per ogni partita la griglia S.P.E.S. è in grado di fornire sostanzialmente due tipi di informazioni: il valore medio S.P.E.S. (SPES) che permette di ottenere un punteggio che descrive in generale lo stato della partita, e l'indice APPI (*Actinobacillus pleuropneumoniae* Index) che fornisce informazioni sulla prevalenza e sulla gravità delle pleuriti dorso-caudali, fortemente indicative di precedenti pleuropolmoniti da APP.

#### *Dati produttivi dell'allevamento*

I dati produttivi dell'allevamento nel periodo pre-eradicazione erano pesantemente condizionati dalla malattia respiratoria determinata da APP che inesorabilmente colpiva tutti i lotti in produzione. Inoltre il danno negli ultimi anni era aggravato dal fatto che la malattia faceva la sua comparsa a pesi molto elevati, non prima degli 80 kg, causando quindi un danno economico particolarmente rilevante. Durante gli episodi di malattia era "normale" avere un 10% di mortalità e praticamente un arresto dell'accrescimento di almeno 20/30 giorni, era infatti molto frequente che le partite necessitassero di almeno 310 giorni di vita per poter essere vendute. Inoltre gli animali dei lotti colpiti restavano fortemente disomogenei con conseguenti difficoltà al momento del carico per il macello.

#### *Piano di eradicazione*

Il piano di eradicazione si è basato sull'applicazione di tre principi fondamentali:

- il depopolamento parziale dell'allevamento;
- il trattamento antibiotico degli animali;
- l'applicazione di rigide misure di biosicurezza, compreso il monitoraggio della situazione sanitaria dell'allevamento e il ripopolamento con l'immissione di animali "patogen free" in azienda.

Nell'applicazione del depopolamento parziale, siccome l'azienda praticava un piano di autorimonta, per ovviare al rischio di mantenere in allevamento animali di età inferiore a 10 mesi e quindi probabili eliminatori, si decise di eliminare tutti gli animali che non avessero raggiunto questa età al momento dell'inizio del piano di eradicazione. Si decise inoltre di

eliminare i verri impiegati per la produzione del seme passando quindi all'acquisto del seme da una struttura esterna. Sempre in questo contesto l'azienda decise di passare dal sistema di gestione a banda settimanale a quella tri-settimanale, questo sia per mantenere lotti di una certa consistenza che per aumentare la distanza di età tra i lotti riducendo il rischio delle infezioni orizzontali. Con lo scopo di ottenere il completo svuotamento dell'azienda principale nel giro di 9 mesi, i suinetti svezzati vennero trasferiti esclusivamente nel sito 2 esterno. A questo scopo l'azienda venne trasformata in un sito 1, passando da 1100 a 450 scrofe in quanto la capacità dei siti esterni non era in grado di accogliere la produzione di un numero superiore di scrofe. Questa operazione ha consentito la trasformazione dell'azienda da ciclo chiuso ad unico sito in un'azienda multisede.

Nel corso dell'attuazione del piano di eradicazione, la proprietà decise di acquistare un ulteriore sito della capacità di 2000 capi svezzamento, 1200 capi magronaggio e di 6000 capi ingrasso. Questo nuovo sito, che potremmo definire 2/3, fu impiegato per accogliere i suinetti nati dal momento dell'eradicazione in poi.

Eseguito il de popolamento (giorno 0), iniziò all'interno dell'azienda (sito 1), dove erano rimasti esclusivamente le scrofe, i verri "ruffiani" ed i suinetti lattanti, un trattamento antibiotico con le modalità di seguito indicate:

-giorno 0: somministrazione per via IM di 5 mg/kg di enrofloxacin in tutte le scrofe e di 2,5 mg/kg di tulatromicina nei suinetti.

-giorno 5: somministrazione per via IM di 5mg/kg di enrofloxacin in tutte le scrofe

-giorno 10: somministrazione per via IM di 2,5 mg/kg di tulatromicina in tutti i suinetti

-allo svezzamento dei suinetti: somministrazione per via IM di 2,5 mg/kg di tulatromoicina negli svezzati.

Per ottimizzare e facilitare le operazioni di somministrazione dei farmaci tutte le scrofe in box vennero trasferite in gabbia singola. Il giorno 0, oltre al trattamento per via parenterale, negli animali in gestazione iniziò anche un trattamento antibiotico con fluorfenicolo al dosaggio di 10 mg/kg di p.v. per via orale attraverso il mangime della durata di 10 giorni. Questo trattamento è stato previsto per ovviare ad eventuali sviste o dimenticanze, che avrebbero potuto portare alla mancata somministrazione parenterale della terapia ad alcuni animali.

La scelta degli antibiotici da somministrare per il programma di eradicazione è stata guidata dai risultati delle MIC eseguite presso la Sezione di Parma (IZSLER), su ceppi di APP isolati da 6 conferimenti di polmoni di animali morti per pleuropolmonite (vedi risultati). Oltre al dato fornito dalla MIC è stata considerata la capacità battericida del prodotto nei confronti di APP, nonché il volume di inoculo per kg di peso vivo (per facilitarne la somministrazione nelle scrofe) e l'azione long-acting della molecola scelta (per ridurre il numero di interventi da praticare nei suinetti).

La scelta della molecola da somministrare per os è stata condizionata, oltre che dal valore della MIC, dalla sua disponibilità come forma farmaceutica e dalla esperienza aziendale di efficacia sul patogeno negli episodi di malattia manifesta. Allo scopo di preservare il sito 1 da eventuali reinfezioni causate dall'introduzione di APP dai siti esterni, nei quali erano ancora presenti animali che presentavano la forma clinica, venne recintata tutta la scrofaia per evitare l'entrata al personale non addetto. Venne predisposto inoltre che anche i silos del mangime venissero riforniti dall'esterno e venne attuata una formazione sul personale sul tema della biosicurezza perché dopo l'eradicazione sarebbero coesistiti 3 siti contenenti animali potenzialmente infetti da APP e il sito 1 con animali APP "free", andando a sottolineare l'assoluta necessità per tutti di cambiarsi gli indumenti e le calzature ed evitare di entrare nel sito 1 se in precedenza si era visitato uno dei siti esterni. Completato il trattamento antibiotico sono state acquistate circa 750 scrofette "free" da *Herpesvirus* della malattia di Aujeszky, PRRSV ed APP.

## RISULTATI

Nell'allevamento in esame, come già accennato in precedenza, il "problema" pleuropolmonite era storicamente presente, come confermato dai dati relativi agli isolamenti di APP eseguiti presso l'IZSLER nel periodo pre-eradicazione considerato (2005-2008) (tabella 4). Da metà marzo 2009, nel sito 2/3 di nuova acquisizione che riceve i suinetti prodotti nel periodo successivo all'eradicazione non sono state osservate manifestazioni cliniche o lesioni anatomopatologiche riferibili a pleuropolmonite da APP. A confortare questo dato si aggiunge che dal raggiungimento dello stato di eradicazione della pleuropolmonite, l'unico focolaio di malattia respiratoria osservato è stato monitorato inviando materiale patologico presso i laboratori dell'IZSLER per indagini batteriologiche. Queste ultime non hanno evidenziato la presenza di APP.

Tabella 4: Ceppi di APP isolati da polmoni/carcasse inviati con anamnesi di patologia respiratoria presso l'IZSLER provenienti dall'allevamento in esame e suddivisi per anno.

Table 4: APP strains isolated from samples sent to the IZSLER laboratories with respiratory medical history from 2005 to 2009.

ANNO	N° conferimenti	N° di polmoni/carcasse	Isolamento di APP*
2005	5	23	(3) biotipo 1 sierotipo 2, 9, 7
2006	6	13	(7) biotipo 1 sierotipo 9
2007	5	5	(2) biotipo 1 sierotipo 9
2008	10	25	(5) biotipo 1 sierotipo 9
2009	1	5	-

\* Indicato tra parentesi il numero di isolamenti di ceppi di APP per anno.

Come è possibile osservare dall'analisi della tabella 4 il sierotipo di APP isolato negli ultimi tre anni nell'allevamento in esame è stato esclusivamente il 9, biotipo 1. Questo ceppo è stato impiegato per l'allestimento delle MIC che in base ai risultati forniti hanno permesso la scelta degli antibiotici impiegati nel protocollo di eradicazione.

Nel periodo 2005-2008 i risultati delle indagini sierologiche per la ricerca di APP hanno evidenziato una attiva circolazione del patogeno con sieroprevalenze dell'80-90% negli animali nella fase di magronaggio (50-70 kg) e nella fase di ingrasso (80-120 kg). La positività sierologica per APP raggiungeva prevalenze del 100% nella popolazione dei riproduttori e di conseguenza si osservava la presenza di anticorpi colostrali fino a 70-100 giorni di vita nel 90-100% dei suinetti. Per quanto riguarda i risultati delle indagini sierologiche successivamente al raggiungimento dell'eradicazione si sottolinea come nelle 7 sessioni di prelievi eseguiti a partire dal mese di luglio 2009 su partite di animali di 150 giorni d'età non è mai stata evidenziata la presenza di anticorpi nei confronti di APP. Inoltre i controlli sierologici eseguiti sulle scrofette APP free introdotte nel sito 1 e quindi conviventi con la popolazione di scrofe che hanno subito i trattamenti antibiotici previsti dal protocollo di eradicazione non hanno presentato né manifestazioni cliniche né sier conversionsi per APP.

Nel periodo pre-eradicazione la valutazione delle lesioni pleuriche e l'applicazione della griglia S.P.E.S. su 3 partite di suini al macello, ha evidenziato una elevata incidenza delle pleuriti dorso-

caudali di classe 2, 3 e 4 da considerarsi come il risultato della cronicizzazione di pleuropolmoniti da APP. Risultati sovrapponibili sono stati ottenuti dallo score polmonare eseguito dopo l'eradicazione su animali che ancora provenivano dai siti che contenevano animali "non APP free".

A conferma del risultato conseguito con l'eradicazione appare interessante confrontare gli indici SPES ed APPI tra le partite di polmoni di suini appartenenti ai gruppi sopraccitati con le prime 2 partite provenienti dal sito APP free.

Confrontando gli indici APPI e SPES indicati nella tabella 5 si può evidenziare come sussistano differenze statisticamente significative tra le partite APP "free" e quelle non APP "free".

Tabella 5: Risultati dell'applicazione della griglia S.P.E.S. e del calcolo degli indici SPES ed APPI tra le partite esaminate nel periodo 2005-2009.

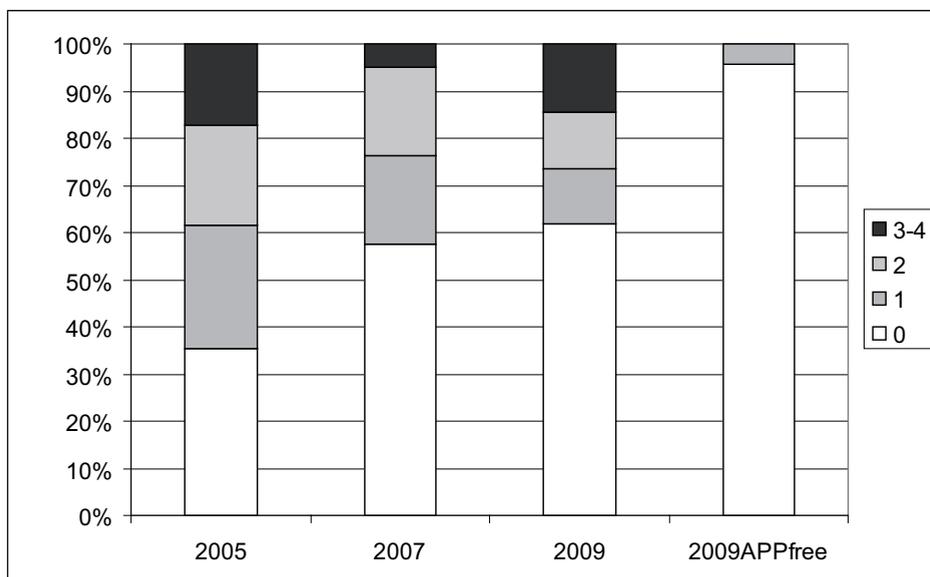
Table 5: S.P.E.S grid results and correlations among SPES/APPI values between batches evaluated from 2005 to 2009.

Anno	SPES media	APPIIndex
2005	1,26 <sup>a</sup>	1,02
2007	0,71 <sup>b</sup>	0,52
2009	0,81 <sup>b</sup>	0,68
2009 free	0,04 <sup>c</sup>	0

<sup>a,b,c</sup>=a lettera differente corrisponde differenza statisticamente significativa nella media SPES,  $p < 0.01$  test Kruskal-Wallis.

Grafico 1. Distribuzione cumulata in colonna di tutti i polmoni analizzati tramite griglia S.P.E.S. nell'allevamento in esame nel periodo 2005-2009.

Figure 1. Distribution of pleural scores (S.P.E.S. grid) of lungs belonging to pigs of the herd from 2005 to 2009.



L'ultimo anno prima dell'eradicazione di APP l'allevamento ha svezzato circa 22000 suini e di questi circa 17800 sono arrivati ad essere venduti al macello (perdita del 20% circa). L'80% della mortalità totale si verificava nella fase di ingrasso dai 70 kg ai 160 kg, mentre il restante 20% avveniva durante le fasi di svezzamento e prima fase di magronaggio. Ovviamente la causa di una così alta mortalità all'ingrasso non era solo imputabile ad APP, tuttavia la pleuropolmonite era responsabile di circa il 70% della mortalità totale all'ingrasso, ovvero il 10,5% sul ciclo mentre le altre cause rappresentavano solo il 30%, ovvero il 5,5% della mortalità sul ciclo. Alle perdite dovute all'elevata mortalità negli animali da 70 kg fino al peso di macellazione si aggiunga la riduzione degli incrementi ponderali giornalieri negli animali che superavano la forma acuta della malattia e la formazione di partite disomogenee, con conseguenti deprezzamenti e detrazioni al macello.

La prima partita APP free arrivata alla fine del ciclo produttivo, ha avuto una percentuale di perdite totali (morti e scarti) sul ciclo del 5,2%, un accrescimento medio giornaliero dal giorno dello svezzamento alla consegna della partita di 0,66 kg e un peso medio di vendita di 163 kg. Il secondo lotto ha conseguito una percentuale di perdite del 7,7%, un accrescimento medio giornaliero di 0,66 kg e un peso medio di 163,9 kg. A questo va aggiunto che le partite hanno avuto una ottima uniformità di peso alla macellazione, in quanto il 95,4% delle carcasse erano all'interno della finestra di peso ottimale per il macello, questo senza praticare selezione dei soggetti al momento del carico. A questo va aggiunto che le performances di crescita ottenute negli animali provenienti dal sito 1 dopo l'eradicazione di APP hanno permesso di ridurre di circa 5 settimane la durata del ciclo produttivo se comparato alla produzione nel periodo pre-eradicazione. Sebbene non sia stato possibile eseguire una valutazione statistica dei dati a disposizione prima e dopo l'eradicazione, appare evidente un consistente miglioramento dei parametri produttivi nel secondo periodo rispetto al primo.

## **DISCUSSIONE e CONCLUSIONI**

Nel presente lavoro sono stati riportati i risultati del piano di eradicazione per APP applicato ad un allevamento suino del Nord Italia. Dall'analisi di questi appare importante sottolineare gli aspetti sanitari, gestionali ed economici connessi all'applicazione del piano sopraccitato. Dal punto di vista prettamente sanitario è importante sottolineare come la presenza di APP nell'allevamento in esame avesse un notevole impatto sulle perdite totali dell'allevamento, influenzando inoltre la produzione fino alla macellazione con ritardi nella crescita degli animali e la presenza di partite di suini disomogenee al macello. Occorre sottolineare che tutti gli interventi terapeutici e di profilassi praticati fino al momento dell'eradicazione non avevano sortito risultati soddisfacenti e che l'intervento di eradicazione, nel caso specifico era probabilmente rimasta l'unica soluzione nonostante i costi necessari per la sua messa in opera. L'applicazione congiunta del depopolamento parziale dell'allevamento, di un trattamento antibiotico mirato e l'applicazione di rigide misure di biosicurezza, compreso il monitoraggio della situazione sanitaria dell'allevamento e l'immissione di animali "patogen free" in azienda hanno permesso di raggiungere l'obiettivo eradicazione, come evidenziato dalle indagini ciniche, anatomopatologiche, batteriologiche e sierologiche che hanno dimostrato l'assenza di circolazione di APP negli animali svezzati dal raggiungimento dell'eradicazione ad oggi. Occorre tuttavia molta cautela nel considerare il risultato raggiunto come definitivo, trattandosi in realtà di una situazione in continua evoluzione, anche in relazione ad alcuni aspetti legati all'epidemiologia della malattia. Questi ultimi, come la presenza di carriers, animali infetti ma sub-clinici che albergano APP a livello delle prime vie respiratorie e delle tonsille, così come l'esistenza di animali infetti ma sieronegativi, descritta più volte in letteratura, possono essere alla base della reintroduzione del patogeno in allevamento (Fittipaldi N. et al, 2003; Chiers K. Et al., 2002).

In questo contesto anche l'applicazione ed il mantenimento di attente misure di biosicurezza sono da ritenersi una condizione fondamentale per evitare la reintroduzione del patogeno dopo l'eradicazione. Tra i diversi fattori di rischio appare importante sottolineare la tipologia di allevamento, in quanto gli allevamenti da ingrasso o gli allevamenti a ciclo chiuso che acquistano comunque una certa percentuale di animali dall'esterno da destinare all'ingrasso, sono soggetti ad un rischio maggiore di introduzione di APP dopo l'eradicazione. Questo può portare ad un flusso di animali infetti o potenzialmente tali tra le strutture invianti e quelle che ricevono gli animali. Al contrario le aziende a ciclo chiuso che producono autonomamente gli animali da destinare all'ingrasso, come l'allevamento oggetto del lavoro, sono soggette ad un rischio di reintroduzione inferiore rispetto ad altre tipologie di allevamento (Hege R. et al., 2002). Un'altro punto critico alla base della possibile reintroduzione di APP in allevamento dopo l'eradicazione è legato al trasporto degli animali. I mezzi di trasporto, a seconda della tipologia di allevamento, vengono a contatto con le strutture dell'azienda in più momenti del ciclo produttivo (scarico animali da destinare all'ingrasso, carico di animali da trasportare al macello ecc.). A questo proposito sono di fondamentale importanza le pratiche di disinfezione e pulizia dei mezzi di trasporto e delle strutture dell'allevamento (Hege R. et al., 2002).

Per quanto riguarda le performances di crescita ottenute negli animali provenienti dal sito 1 dopo l'eradicazione di APP si sottolinea l'importanza dell'accorciamento del ciclo produttivo, permettendo di sfruttare in modo più efficace le strutture da ingrasso e di conseguenza di ottenere un abbassamento dei costi fissi che gravano su ogni capo prodotto. Purtroppo non è stato possibile verificare quanto sia il miglioramento relativo alla conversione alimentare, ma vista la notevole riduzione del numero di giorni necessari per raggiungere il peso di macellazione è possibile stimare un recupero di 0.3/0.4 punti di indice di conversione, che corrispondono a 110/120 kg di mangime consumati in meno per raggiungere lo stesso peso. Un altro enorme vantaggio che si è ottenuto grazie alla eradicazione è sicuramente l'abbattimento dei costi dei trattamenti di profilassi vaccinale e dei trattamenti antibiotici sia di massa che singoli, visti non solo dal punto di vista del puro costo dei prodotti utilizzati ma anche dalla riduzione del numero di ore di lavoro che la pratica dei trattamenti iniettabili comporta. Inoltre visto l'età avanzata a cui i capi venivano colpiti non erano infrequenti i ritardi di consegna al macello per rispettare i tempi di sospensione dei trattamenti terapeutici.

In conclusione, l'eradicazione di importanti patologie batteriche come la pleuropolmonite, che incidono negativamente sulla produzione di numerose aziende suinicole, può rappresentare una soluzione applicabile e di successo quando le misure "classiche" di controllo di tali patologie, come la vaccinazione e l'impiego di trattamenti terapeutici mirati non sono in grado di sortire effetti soddisfacenti. Occorre comunque sottolineare come queste misure, definite "classiche" che permettono di stabilizzare lo stato sanitario degli animali siano, unitamente a piani di biosicurezza e di monitoraggio, fondamentali per il raggiungimento dell'eradicazione stessa.

## BIBLIOGRAFIA

1. Chiers, K., E. Donne, I. Van Overbeke, R. Ducatelle, and F. Haesebrouck. 2002. Evaluation of serology, bacteriological isolation and polymerase chain reaction for the detection of pigs carrying *Actinobacillus pleuropneumoniae* in the upper respiratory tract after experimental infection. *Vet. Microbiol.* 88:385–392.
2. Dottori M., Nigrelli A.D., Bonilauri P., Merialdi G., Gozio S., Cominotti F. (2007) S.P.E.S. (Slaughterhouse Pleurisy Evaluation System). Proposta per un nuovo approccio ispettivo delle lesioni polmonari in sede di macellazione. Atti del XXXIII convegno della Società di Patologia ed Allevamento dei Suini. Modena, 29-30 Marzo 2007, p. 141-148.

3. Dottori M., Nigrelli A.D., Bonilauri P., Merialdi G., Gozio S., Cominotti F. (2007) Proposta per un nuovo sistema di punteggiatura delle pleuriti suine in sede di macellazione. La griglia S.P.E.S. (Slaughterhouse Pleurisy Evaluation System). *Large Animal Review*, 13:161-165.
4. Merialdi G., Bonilauri P., Dottori M., Nigrelli A., Martelli P. (2008) Monitoraggio della patologia respiratoria attraverso la valutazione delle lesioni polmonari, pleuriche e della sierologia. *Atti XXXIV Meeting Annuale Società Italiana di Patologia ed allevamento dei suini, Salsomaggiore Terme (Parma), 13-14 Marzo 2008*, p. 319-326.
5. Dottori M., Bonilauri P., Merialdi G., Nigrelli A., Martelli P. (2008) Monitoring chronic pleurisy due to *Actinobacillus pleuropneumoniae* at slaughterhouse by a newly implemented scoring system. *Proceedings of the 20<sup>th</sup> IPVS Congress, Durban, South Africa, June 22-27, 2008; vol. 2: p. 230.*
6. Fittipaldi N., Broes A. Harel J., Kobisch M., Gottschalk M. (2003). Evaluation and Field Validation of PCR Tests for Detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in Subclinically Infected Pigs. *Journal of Veterinary Microbiology*, 41:5085-5093.
7. Hege R., Zimmermann W., Scheidegger R., Stärk K.D.C. (2002) Incidence of Reinfections with *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* in Pig Farms Located in Respiratory-Disease-Free Regions of Switzerland – Identification and Quantification of Risk Factors. *Acta vet. scand.* 2002, 43, 145-156.
8. Losinger W.C. (2005). Economic impacts of reduced pork production associated with the diagnosis of *Actinobacillus pleuropneumoniae* on grower/finisher swine operations in the United States. *Preventive Veterinary Medicine*, 68:181-193.
9. Merialdi G., Bonilauri P., Dottori M., Nigrelli A., Martelli P. (2008) Monitoring respiratory disease at slaughterhouse using lung and pleural lesions score and serology. *Proceedings of the 20<sup>th</sup> IPVS Congress, Durban, South Africa, June 22-27, 2008; vol. 2: p. 380.*
10. Moller, K., L. V. Andersen, G. Christensen, and M. Kilian. 1993. Optimization of the detection of NAD dependent Pasteurellaceae from the respiratory tract of slaughterhouse pigs. *Vet. Microbiol.* 36:261–271.
11. Sidibe, M., S. Messier, S. Lariviere, M. Gottschalk, and K. R. Mittal. 1993. Detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in the porcine upper respiratory tract as a complement to serological tests. *Can. J. Vet. Res.* 57:204–208.
12. Sørensen V., Jorsal S.E., Mousing J. (2006) Diseases of the respiratory system. In: *Diseases of Swine*, 9<sup>th</sup> ed., p. 149-177.
13. Pinton A.M., Mercy A.R., Backstrom L., Dial G.D. (1993) Disease surveillance at slaughter. In: *Diseases of Swine*, 7<sup>th</sup> ed., p. 969-987.
14. E. Nielsen, K.K.Kongsted and N. van Aken. (2002) Attempted elimination of *Actinobacillus pleuropneumoniae* (serovar 2&6) *Mycoplasma hyopneumoniae* and PRRS-eu by depopulation and tilmicosin treatment. *Proceedings of the 17<sup>th</sup> IPVS Congress, Ames, Iowa USA, June 2-5 ,2002; vol. 1: p. 276.*
15. K. Chiers, E. DonnŽ, I. Van Overbeke, R. Ducatelle and F. Haesebrouck. *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections in closed swine herds: infection patterns and serological profiles. *Proceedings of the 17<sup>th</sup> IPVS Congress, Ames, Iowa USA, June 2-5 ,2002; vol. 1: p. 181.*
16. M-T Chiou, S-P Chen, K-S Yeh, C-E Tsai. Antimicrobial susceptibility and MIC of swine *Actinobacillus pleuropneumoniae* . *Proceedings of the 17<sup>th</sup> IPVS Congress, Ames, Iowa USA, June 2-5 ,2002; vol. 2: p. 6.*