

## DESCRIZIONE DI UN FOCOLAIO DI INFLUENZA (A/H1N2) IN UN ALLEVAMENTO A CICLO CHIUSO

### *DESCRIPTION OF AN INFLUENZA (A/H1N2) OUTBREAK IN A FARROW-TO-FINISH HERD*

BARDINI R.<sup>1</sup>, LEOTTI G.<sup>2</sup>, NIGRELLI A.D.<sup>3</sup>, ROSIGNOLI C.<sup>3</sup>, FONI E.<sup>4</sup>,  
SARLI G.<sup>5</sup>, MORANDI F.<sup>5</sup>, GALUPPINI A.<sup>6</sup>, ZAMPERLIN D.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trouw Nutrition, San Zeno di Mozzecane (VR); <sup>2</sup>Merial Italia, Milano; <sup>3</sup>IZSLER Mantova;  
<sup>4</sup>IZSLER Parma; <sup>5</sup>Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna;  
<sup>6</sup>Medico Veterinario, Casalmoro (MN)

**Parole chiave:** suino, Influenza, PRDC, patologia riproduttiva, H1N2.

**Key words:** pig, Influenza, PRDC, reproductive disorders, H1N2.

**Riassunto.** Gli Autori descrivono un focolaio di Influenza suina, sotto-tipo H1N2, in un allevamento a ciclo chiuso che ha coinvolto i suini destinati all'ingrasso ed anche il parco riproduttori, con sintomatologia a carico dell'apparato respiratorio e riproduttivo. Il focolaio si è protratto per oltre un mese con coinvolgimento, in momenti successivi, di tutti i settori dell'allevamento. Le ricerche di laboratorio effettuate hanno evidenziato unicamente la presenza di virus influenzale, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasteurella multocida*. La diagnosi di Influenza si è basata, oltre che su rilievi di natura clinica ed anatomo-patologica, del supporto di tecniche di laboratorio (RT-PCR da tamponi nasali, isolamento virale, esame istopatologico) ed anche di un Kit rapido che è stato utilizzato direttamente in allevamento (mediante tampone nasale). Gli Autori hanno quantificato in 129€ per ogni scrofa presente l'ammontare complessivo dei danni economici, rilevati nell'arco di tempo qui considerato, indotti da questo focolaio di Influenza (A/H1N2).

**Abstract.** The Authors describe an outbreak of swine influenza, subtype H1N2, in a farrow-to-finish herd. Finishers as well as breeders were involved in the outbreak, with respiratory and reproductive symptoms. The outbreak lasted for more than one month, involving all herd sectors in succession. Laboratory investigations identified the presence of Influenza virus, *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Pasteurella multocida*. The diagnosis of swine influenza was based on anatomopathological findings, laboratory investigations (RT-PCR from nasal swabs, virus isolation, histopathology), and a rapid diagnostic kit used on farm (through nasal swabs). The Authors calculated that this outbreak of influenza (type A/H1N2), in its duration, caused a total loss of €129 for each present sow.

### INTRODUZIONE

Il virus dell'influenza suina (SIV) è da sempre considerato uno dei più importanti agenti eziologici di malattia respiratoria in questa specie animale ed ha una diffusione elevata in molti paesi (Van Reeth et al., 2008).

Tale virus, considerato uno degli attori principali del cosiddetto complesso respiratorio del suino (PRDC), ha un'azione patogena primaria ed una riconosciuta azione "door-opener" come recentemente messo in evidenza in Italia (Gradassi et al., 2009) ed in altri paesi europei (considerato in Olanda responsabile del 44% dei focolai di malattia respiratoria nei suini in accrescimento) (Loeffen et al., 1999).

Le manifestazioni cliniche della forma classica di tale malattia sono note, ma l'influenza

nel suino spesso si manifesta in forme cliniche meno caratteristiche, come quella subclinica tipica degli allevamenti a ciclo chiuso ove il virus può permanere a lungo e dare luogo a manifestazioni cliniche ripetute nel tempo (Olsen et al., Diseases of Swine, 2006), oppure la cosiddetta forma “enzootica”, che colpisce tipicamente i suini di 6-7 settimane di vita, specialmente, quando le pratiche di “tutto-pieno/tutto-vuoto” non possono essere applicate compiutamente (Guilmoto et al., 2003). Recentemente un’ampia indagine di campo effettuata nel nostro paese ha evidenziato una notevole percentuale di diffusione dei virus influenzali nei suini in fase di svezzamento; tali virus sono stati isolati (o messi in evidenza) prevalentemente in seguito ad episodi clinici di forme respiratorie: ben il 54% delle positività totali ai SIV era concentrata in questa fascia di animali (Gradassi et al., 2009). E’ utile a tal proposito ricordare che un esteso monitoraggio sierologico di campo effettuato recentemente in Italia sulla durata degli anticorpi di origine materna evidenziò notevoli differenze di questo rilievo tra i diversi allevamenti analizzati (Candotti et al., 2003).

L’influenza del suino ha inoltre spesso delle conseguenze importanti anche sulla sfera riproduttiva, ove tale virus può essere responsabile, anche se per via indiretta (rialzo termico), di aborti, natimortalità, infertilità, nascita di nidiate di piccola taglia, ipogalassia, infertilità temporanea dei verri (Olsen et al., Diseases of Swine, 2006).

In Italia sono presenti e circolanti tutti e tre i sottotipi di SIV del suino (H1N1, H1N2, H3N2): l’incidenza degli ultimi 10 anni (dati IZSLER) dei tre sottotipi nei casi di malattia respiratoria è stata del 46% per H1N1, 28% per H1N2 e del 26% per H3N2; gli isolamenti dell’anno 2009 hanno comunque evidenziato una maggior frequenza di H1N2 rispetto al passato (19 isolati sui 54 totali di virus influenzale; 21 H1N1 e 13 H3N2) in tendenza con quanto già da tempo è registrato negli altri paesi europei: il sottotipo H3N2 non è più isolato in determinati paesi (Francia, Gran Bretagna) (Van Reeth et al., 2008; Foni et al., 2010).

Dal punto di vista diagnostico l’Influenza suina riconosce come metodica di riferimento l’isolamento virale (VI) il quale, oltre che a partire da organi, è anche pienamente utilizzabile con prelievi effettuati “in vivo”, mediante tamponi nasali (Barigazzi et al., 2003), RT-PCR, Sierologia (IHA ed Elisa), Immunofluorescenza, istologia ed immunisto chimica.

Recentemente lo studio dei virus influenzali si avvale anche di avanzate tecniche di analisi genetica ed inoltre sono stati recentemente impiegati dei Kit rapidi (Test Elisa su membrana) da utilizzare in campo su materiale organico prelevato mediante tamponi nasali.

Il tampone nasale su animali con Temperatura elevata (T°), pur essendo estremamente utile ai fini diagnostici delle forme influenzali, è però una pratica veterinaria ancora non adeguatamente sfruttata nel nostro paese.

L’incidenza economica dell’Influenza è considerata da tempo rilevante (Olsen et al., Diseases of swine, 2006; Gradassi et al., 2009), ma non sono molti i lavori reperibili in letteratura che quantifichino i danni economici indotti da un focolaio di Influenza suina (Olsen et al., Diseases of swine, 2006; Madec et al., 1992).

## **MATERIALI E METODI**

### *Caratteristiche dell’allevamento ove si è verificato il focolaio di Influenza*

Allevamento a ciclo chiuso, di 350 scrofe e rimonta interna (a parte l’acquisto annuale di 2 o 3 verri), con invio al macello dei suini grassi all’età di 9-10 mesi di vita (circuiti dei Prosciutti DOP). Tale allevamento non è indenne da malattia di Aujeszky, ma la circolazione di ADv è sotto controllo, PRRS positivo e caratterizzato da un buon livello di management. L’allevamento è collocato in un’area pianeggiante a poche centinaia di metri da un fiume di medie dimensioni ed a qualche chilometro in linea d’aria da due laghetti utilizzati per la caccia alle anatre selvatiche, che arrivano numerose nell’area; nel raggio di 2 o 3 chilometri è situato inoltre anche un allevamento di tacchini ed uno di suini all’ingrosso.

I suini sono di una razza ibrida commerciale.

### *Sistema di raccolta dei dati*

Tutti i dati raccolti in allevamento sono stati forniti dal veterinario aziendale, dai proprietari dell'allevamento, compresa la giovane figlia dell'allevatore, Medico Veterinario anch'ella, che ci ha fatto avere alcuni rapporti scritti, documenti cartacei ed informatici.

### *Tamponi nasali*

La prima tappa dell'accertamento diagnostico è stata realizzata direttamente in allevamento, dal veterinario aziendale, con l'ausilio di un apposito "Kit di campo" (Merial® Flu Kit ) che contiene tutto il necessario per effettuare correttamente un prelievo di materiale organico mediante tampone nasale; in tale Kit è inserito anche un test rapido (FLU DETECT™ Swine, Synbiotics, Lione-Francia) che consente di rilevare la presenza di Virus influenzale di Tipo A da tamponi nasali ed è utilizzabile anche direttamente in allevamento. In tutti i casi comunque si è proceduto con l'invio al laboratorio di tamponi nasali classici per le indispensabili ricerche diagnostiche successive effettuate dagli IZSLER.

### *Accertamenti diagnostici*

Gli accertamenti diagnostici sono stati eseguiti in tre diversi laboratori:

*-IZSLER Mantova:* presso la Sezione di Mantova dell' IZSLER sono state effettuate indagini su 3 apparati respiratori e 6 tamponi nasali.

Sugli apparati respiratori si è proceduto al rilievo delle lesioni macroscopiche. Successivamente sono stati prelevati campioni di tessuto polmonare, dalle zone interessate dai processi patologici, per la ricerca di *Mycoplasma hyopneumoniae*, PRRSV, PCV2, virus della Pseudorabbia e virus influenzale tipo A mediante diversi test PCR (Calsamiglia M. et al., 1999; Persia D. et al., 2001; Faccini S. et al., 2009; Ma W. et al., 2008; Spackman E. et al., 2002).

Sui tamponi nasali portati in laboratorio sono state ricercati i virus (PRRSV, Influenza A e Pseudorabbia) con le stesse metodiche PCR utilizzate per i tessuti polmonari.

Parte degli estratti ottenuti dai polmoni e dai tamponi utilizzati per la PCR e risultati positivi al virus influenzale tipo A, sono stati inviati all' IZSLER di Parma per la tipizzazione e caratterizzazione del ceppo.

Campioni di tessuto polmonare sono stati fissati in formalina e inviati al Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna per indagini istopatologiche.

*-IZSLER Parma:* i tamponi sono stati sottoposti a prove di isolamento virale su uova embrionate di pollo e colture cellulari, utilizzando linee stabilizzate MDCK e CACO2 (Chiapponi et al., 2010). Il sottotipo virale degli stipiti isolati è stato identificato tramite inibizione dell'emoagglutinazione (IEA) utilizzando sieri iperimmuni di suino nei confronti di virus di referenza e di stipiti di campo dei sottotipi H1N2, H3N2, H1N1 e vH1N1 pandemic 2009 (OIE 2008) e tramite tecnica PCR (Chiapponi et al., 2003).

*-Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna:* campioni di 3 polmoni fissati in formalina durante la necropsia effettuata presso la sezione di Mantova dell'IZSLER sono stati inclusi in paraffina. Due sezioni seriali di 4 micron di spessore sono state usate per la colorazione ematossilina-eosina.

## **RISULTATI**

### *Descrizione del caso clinico*

Le prime manifestazioni cliniche di natura respiratoria "influenza-like", sono state rilevate ai primi di Ottobre 2010 con una sintomatologia non eclatante, che interessava esclusivamente il settore dei grassi e dei magroni: il veterinario effettuò dei tamponi nasali per la ricerca di SIV e/o altri virus con esito negativo.

Dopo circa una settimana il settore delle scrofe andò incontro a rilevanti problematiche di natura riproduttiva: aborti, parti prematuri e riassorbimenti anche precoci, problematiche

che interessarono tutti gli stadi di gestazione. La problematica di natura riproduttiva continuò per una decina di giorni circa con problematiche che si erano anche estese ai suinetti neonati (disvitalità). Il Veterinario effettuò dei prelievi di sangue sulle scrofe ed in particolare su quelle che avevano abortito: le analisi in PCR esclusero viremia da PRRSv, tutti i sieri erano Aujeszky gE negativi, mentre i titoli per SIV evidenziarono dei titoli medio-alti (fino ad 1: 640). In seguito a tale rilievo il Veterinario consigliò di effettuare un richiamo di tutto il parco riproduttori con la vaccinazione antinfluenzale (associata al vaccino contro la Malattia di Aujeszky) mediante un nuovo vaccino (GRIPOVAC® 3, Merial, Lione, Francia) contenente tutti e tre (H1N1, H1N2, H3N2) i sottotipi circolanti in Italia negli allevamenti di suini: tale allevamento aveva già iniziato a vaccinare le scrofe con un vaccino associato Aujeszky-Influenza nel mese di Gennaio 2010 e dopo i due interventi della vaccinazione di base era stato effettuato il primo richiamo ad Aprile-Maggio, ma il vaccino antinfluenzale utilizzato inizialmente conteneva solamente i due sottotipi H1N1 e H3N2. Contestualmente le scrofe furono sottoposte ad un trattamento sintomatico antipiretico (Paracetamolo a 1000 ppm via alimento) ed antibiotico (Tiamfenicolo per 5 giorni al dosaggio di 800 ppm via alimento).

Pochi giorni dopo aver effettuato la vaccinazione e gli interventi sopra citati le gravi problematiche riproduttive cessarono, ma nel frattempo una grave e diffusa sintomatologia respiratoria “Influenza-like” si manifestò nel settore magronaggio-ingrasso (suini con pesi vivi variabili da 50 a 100 kg): nonostante l'immediato intervento con farmaci antipiretici (Acido Acetilsalicilico al dosaggio di mg 1000/40 kg di peso vivo) ed antibiotici (Tiamfenicolo per 5 giorni al dosaggio di 800 ppm via alimento) le manifestazioni cliniche si aggravarono e persisterono per almeno una settimana, con una sintomatologia caratterizzata anche da una riduzione del consumo alimentare che arrivava fino a percentuali dell'80%.

Il 9 di novembre l'allevatore effettuò il richiamo di vaccinazione del parco riproduttori con il vaccino antinfluenzale più sopra citato.

Nel periodo dal 7 al 18 novembre la grave sintomatologia “Influenza-like”, caratterizzata da anoressia, dispnea, ipertermia, scolo nasale limpido ed abbondante su qualche soggetto, tosse secca “urlata” e poco produttiva, qualche vomito facilmente legato alla tosse, si spostò nel settore del secondo ingrasso (suini di peso vivo attorno a 120 kg) e si diffuse rapidamente (4 o 5 giorni) a tutti i suini grassi presenti.

Il 12 novembre il veterinario aziendale eseguì in allevamento, dopo aver effettuato i tamponi nasali, il Test rapido su cinque suini grassi (8 mesi di vita circa) e rilevò 5/5 positività (figura n° 1) delle apposite strisce reattive, con una prima conferma della diagnosi clinica di Influenza formulata dopo esame clinico dei suini colpiti. Al fine di validare in laboratorio la prima indicazione fornita dal Kit rapido, dopo quattro giorni furono effettuati n° 5 tamponi nasali in suini dello stesso settore, ma più giovani dei precedenti ed un tampone nasale da una scrofa con temperatura (aveva abortito da poco). Furono portati al locale laboratorio diagnostico (IZSLER Mantova) anche alcuni polmoni prelevati in azienda, dopo effettuazione di autopsia da parte del veterinario.

Tutti e sei i tamponi nasali risultarono altamente positivi per Influenza al test di RT-PCR; dopo l'esame anatomopatologico dei polmoni, che confermava la presenza di un diffuso edema interlobulare, Broncopolmonite apicale sub-acuta/cronica con presenza di lesioni “*mycoplasma like*” (lesioni a manicotto caratteristiche della Polmonite enzootica), associata a focolai multipli lobulari di polmonite acuta nei lobi diaframmatici, i test in PCR effettuati sugli organi confermarono la positività per Influenza (figura n°2) e *Mycoplasma hyopneumoniae*, mentre risultarono negativi per altri agenti eziologici (PRRSv, Aujeszky, PCV2); l'esame batteriologico permise di isolare, da un polmone, una *Pasteurella multocida*.

Nell'ultima settimana di Novembre il quadro clinico aziendale cominciò a migliorare gradualmente, ma essendo ancora presenti suini con T° ed un consumo alimentare ancora ridotto, furono continuate le terapie sintomatiche ed antibiotiche.

Il 25 novembre, dopo autopsia, fu portato all' IZSLER di Mantova un polmone di un giovane suino per ulteriori accertamenti: polmonite apicale cronica e negatività completa alla ricerca virale mediante diversi test PCR per SIV ed ancora una volta per PRRS, Aujeszky, PCV2, mentre fu isolata un'altra *Pasteurella multocida*.

#### *Accertamenti diagnostici eseguiti da IZSLER Parma*

I liquidi allantoidei e i sovranatanti cellulari di MDCK e CACO2 risultarono positivi per la presenza di virus emoagglutinante in cinque dei sei tamponi inoculati: il solo campione dal quale non fu possibile isolare il virus era quello dell'unica scrofa sottoposta ad analisi. Il test di IEA condotto con sieri iperimmuni nei confronti dei sottotipi H1N2, H3N2, H1N1 e vH1N1 pandemico 2009 permisero di identificare gli isolati come virus influenzale suino riferibili al sottotipo H1N2: anche la prova di tipizzazione tramite reazione PCR confermò l'appartenenza degli stipiti isolati al sottotipo H1N2. Le prove di caratterizzazione genetica condotte hanno permesso di inquadrare gli isolati nel gruppo dei virus influenzali suini H1N2 circolanti recentemente in Italia (Moreno, 2009).

#### *Accertamenti diagnostici eseguiti dalla Università di Bologna*

L'esame istologico permise di identificare una broncopolmonite cronica caratterizzata dalla presenza di numerosi granulociti neutrofili, sia nei lumi bronchiali/bronchiolari che negli alveoli, contenenti anche un essudato sieroso o talvolta fibrinoso. In aree non interessate da un chiaro processo broncopneumonico era apprezzabile il coinvolgimento dei piccoli bronchi e dei bronchioli, che mostravano necrosi dell'epitelio congiuntamente ad un essudato di neutrofili intraluminale e di scarsi linfociti nell'interstizio (bronchiolite necrotizzante) (figura 3). Una flogosi acuta con granulociti e linfociti era presente anche nella lamina propria e nella sottomucosa dei grossi bronchi (Figura 4). La bronchiolite necrotizzante è fortemente suggestiva di infezione da virus influenzali.

#### *Impatto economico del focolaio*

Per il calcolo, non certamente facile e sempre opinabile, delle perdite subite in seguito a questo grave e prolungato focolaio di Influenza (A/H1N2), ci avvaliamo dell'uso di una tabella che elenca sinteticamente le singole perdite produttive da un lato ed il loro impatto economico dall'altro.

Infine, uniformandoci a criteri spesso adottati dalla letteratura (Drèau et al., 2010), abbiamo suddiviso le perdite economiche per ognuna delle scrofe presenti, in modo da rendere più immediato e confrontabile l'impatto economico di questo focolaio.

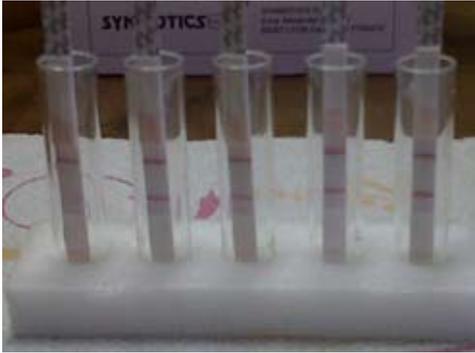
Le partite dei suini colpiti dalla forma influenzale hanno raggiunto il peso di macellazione 15-20 giorni più tardi rispetto alle partite precedenti, dato in linea con quanto riportato dalla letteratura nei casi di episodi influenzali che colpiscono i suini da ingrasso (Olsen et al., Diseases of swine, 2006) (figura 5).

**Tabella 1:** Perdite produttive e relativo impatto economico del focolaio di Influenza (A/H1N2)  
**Table 1:** Productivity losses caused by the Influenza (A/H1N2) outbreak and relative economic impact

Periodo	Categoria animali	Morti*	Danni riproduttivi*		Costo economico delle terapie	Impatto economico perdite produttive*
			Parti prematuri Aborti	Riassorbimenti		
1-18 Ott.	Scrofe	2	43	21	500€ Paracetamolo	550 suinetti X 30€
19 Ott. 20 Nov.	Scrofe	-	2	-	500€ Paracetamolo	
						16.500€
22 -30 Ott.	Grassi	-	-	-	400€ Ac, Acetilsalicilico 800€ Tiamfenicolo	7.000 kg di Peso vivo in meno per mortalità x €1.440**
1-10 Nov.	Grassi	20	-	-	900€ Ac.Acetilsalico 1.600€ Tiamfenicolo	
11-20 Nov.	Grassi	40	-	-	900€ Ac. Acetilsalicilico 1.400€ SDM+TMP	
21-30 Nov.	Grassi	30+30 scarti)	-	-	-	
25-31 Ott.	Svezamento Magronaggio	-	-	-	500€ Ac.Acetilsalicilico 700€ Tiamfenicolo	
8-20 Nov.	Svezamento Magronaggio	20	-	-	500€ A.Acetilsalicilico 1.000€ Tiamfenicolo	
					<b>Totale spesa terapie</b>	9.700€
<b>Spesa smaltimento carcasse</b>			<b>7 tonnellate di carcasse x144€</b>			<b>1.000€</b>
<b>Spesa per antibiotici iniettabili</b>			<b>Tiamfenicolo, Ampicillina, cortisonici</b>			<b>1.130€</b>
<b>Mancato accrescimento dei suini in crescita</b>			<b>N° 2.500 suini x 0,5 kg/die x 7 giorni: 12.500 kg di mancato incremento nel periodo x 1,25€ (Prezzo p.v.)</b>			<b>15.625€</b>
<b>Mancato consumo di mangime per la ragione di cui sopra (da detrarre)</b>			<b>Grassi: -300 q di mangime x 23€</b>			<b>- 6.900€</b>
			<b>Magroni: -40 q di mangime x 40€</b>			<b>-1.600€</b>
<b>PERDITE ACCORPATE E SUDDIVISE PER OGNI SCROFA PRESENTE (N°350)</b>						<b>129€</b>

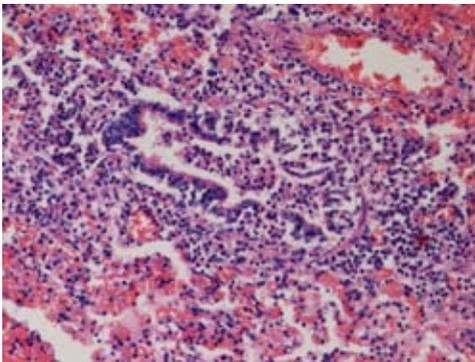
\*Le perdite qui calcolate sono quelle eccedenti le perdite storiche aziendali del periodo esaminato.

\*\*Questo prezzo è dato dalla somma del prezzo di mercato+premio+recupero IVA.



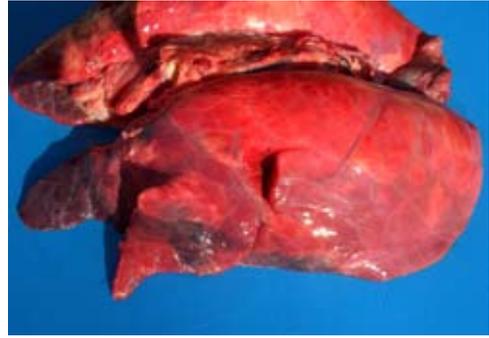
**Figura 1.** Kit rapido: 5/5 positivi per Influenza suina (2 linee rosa)

**Figure 1.** Quick test: 5/5 positive for swine influenza (2 pink/purple bands)



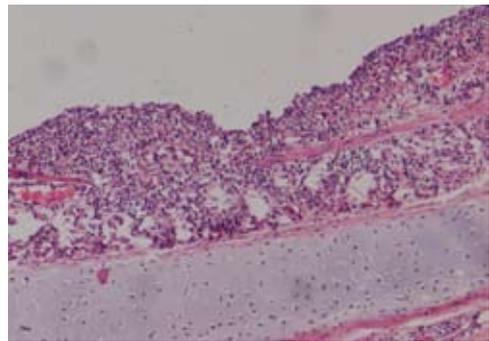
**Figura 3.** Suino. Polmone. Bronchiolite acuta con necrosi parziale dell'epitelio, detriti necrotici nel lume e cellule infiammatorie (granulociti neutrofili e linfociti) peribronchiolari. Iperemia alveolo-settale ed iniziale alveolite nel parenchima circostante. Ematossilina-eosina, 20x.

**Figure 3.** Swine. Lung. Acute bronchiolitis. Intraluminal necrotic debris and peribronchiolar infiltration by granulocytes and lymphocytes. Hyperemia of alveolar septa and alveolitis in the surrounding lung parenchyma. Haematoxylin-eosin, 20x.



**Figura 2.** Focolaio di Influenza suina: polmoni.

**Figure 2.** Swine Influenza outbreak: lungs.



**Figura 4.** Suino. Polmone. Bronchite acuta con infiltrato infiammatorio nella lamina propria e nella sottomucosa. Ematossilina-eosina, 10x.

**Figure 4.** Swine. Lung. Acute bronchitis showing inflammatory infiltrate in both lamina propria and submucosa. Haematoxylin-eosin, 20x.



**Figura 5.** Focolaio di Influenza suina: suini con febbre e riduzione del consumo di mangime

**Figure 5.** Swine Influenza outbreak: pigs with fever and feed-intake reduction

## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Questo focolaio conferma l'attualità e importanza delle infezioni da virus influenzale nei suini, in quanto le manifestazioni cliniche sono state gravi e prolungate e si sono estese a gran parte dei settori di questo allevamento a ciclo chiuso. E' inoltre importante rilevare che tale virus, pur non avendo un'azione diretta e specifica sull'apparato riproduttore, si è rivelato in grado, in questo episodio, di determinare ingenti perdite anche nel settore riproduttivo.

Il virus influenzale che ha determinato tale focolaio è del sottotipo H1N2, un virus isolato sempre più spesso nel nostro paese, forse anche grazie a delle caratteristiche antigeniche piuttosto differenziate dagli altri sottotipi circolanti che ne facilitano la diffusione (Foni et al., 2010). Siamo a conoscenza che in anni recenti l'introduzione di tale sottotipo di virus influenzale in grandi allevamenti da riproduzione è stato in grado di indurre nei riproduttori delle serie e gravi conseguenze cliniche ed economiche, anche in allevamenti vaccinati da tempo contro i due sottotipi "classici" di virus influenzale (H1N1 e H3N2): l'episodio qui segnalato sembra riprodurre tali situazioni. Nel caso specifico l'introduzione nel solo parco riproduttori di un nuovo vaccino contenente anche il sotto-tipo H1N2, affiancato ad opportune terapie sintomatiche ed antibiotiche, ha coinciso con la risoluzione delle problematiche riproduttive: è interessante rilevare che, invece, nel settore della produzione (magroni e grassi), non vaccinati contro nessun virus influenzale, la sintomatologia si è protratta maggiormente nonostante l'applicazione tempestiva delle misure sintomatiche e terapeutiche più sopra citate.

Infine alcune considerazioni sulla diagnosi: le tecniche diagnostiche attualmente a disposizione del Veterinario per la conferma di un sospetto su base clinica di Influenza sono diverse, efficaci (VI, RT-PCR, Kit rapidi, ecc) e disponibili in molti laboratori diagnostici, ma certamente la raccolta di materiale organico da suini con T° effettuata in allevamento e tempestivamente (la durata di emissione virale dalle cavità nasali non sembra andare oltre i 7-8 giorni) (Olsen et al., Diseases of swine, 2006), mediante idonei tamponi nasali, è certamente da privilegiare ed incentivare.

Le moderne tecniche di analisi genetica, inoltre, possono far luce su molti aspetti di natura epidemiologica (in questo caso specifico ci siamo chiesti ad esempio da dove sia arrivato il virus che ha determinato questo grave episodio, in quanto l'allevamento introduce solo pochi verri l'anno, o se i vicini laghi frequentati da uccelli selvatici o gli altri allevamenti vicini, tacchini e suini, possano rappresentare dei reali fattori di rischio) ed essere in grado di aiutare il veterinario nella identificazione dei fattori di rischio e nella conseguente applicazione di misure idonee al controllo aziendale della Influenza suina, la cui importanza nel nostro paese è spesso sottovalutata.

## BIBLIOGRAFIA

- Van Reeth K., Brown IH., Dürrwald R., Foni E., Labarque G., Lenihan P., Maldonado J., Markowska-Daniel I., Pensaert M., Pospisil Z., Koch G.. (2008) "Seroprevalence of H1N1, H3N2 and H1N2 influenza viruses in pigs in seven European countries in 2002-2003". *Influenza and Other Respiratory Viruses*. May; 2 (3),99-105.
- Gradassi M., Sozzi M., Zanoni M., Salogni C., Cordioli P., Alborali L..(2009) "Il virus influenzale suino (SIV) e le principali associazioni virali, batteriche e da *Mycoplasma hyopneumoniae*". Atti XXXV Meeting annuale SIPAS,229-239.
- Loeffen W.L.A., Kamp E.M. ed alt.(1999) "Survey of infectious agents involved in acute respiratory diseases in finishing pigs". *Vet.Rec* 145, 175-180.
- Guilmoto H.(2003) "La grippe dans l'espece porcine". Atti del Congresso AFMVP 2003, 5-12.
- Candotti P., Foni E., Leotti G., Joisel F., Longo S., Rota Nodari S.. (2003) "Serological prevalence for swine influenza virus in pigs between 3 and 15 weeks of age in italian farms: evaluation of a maternal antibody decay curve". 4<sup>th</sup> International Symposium on Emerging and Re-emerging

- pig diseases, Roma-29 Giugno/2 Luglio 2003, 272-273.
- Olsen C.W.,Brown I.H.,Easterday B.C.,Van Reeth K.,(2006) "Swine Influenza".Diseases of swine,8<sup>th</sup> edition,469-482.
- Foni E., Chiapponi C., Sozzi E., Barbieri I., Moreno A.M., Merenda M., Luppi A., Alborali L., Cordioli P."Caratterizzazione di virus influenzali circolanti nel suino negli anni 2008-2009 in Italia"(2010).Atti XXXVI Atti Sipas, 159-166.
- Barigazzi G, Foni E.,Chiapponi C., Leotti G., Longo S., Joisel F. (2003) "Use of a standard Kit for the diagnosis of respiratory viral infections in pigs". ". 4<sup>th</sup> International Symposium on Emerging and Re-emerging pig diseases, Roma-29 Giugno/2 Luglio 2003, 268-269.
- Madec et al. (1992) "Updated according to 2008 economic data". INRA Prod.Animale, France, 5(2)149-16.
- Dréau D., Perrreul G., Laval A.. (2010) « Primo-infezione d'un cheptel de truie par le virus grippal dans une zone de faible densité porcine en 2010 ». Atti del Congresso AFMVP 2010,Parigi, 104.
- Chiapponi C, Zanni I, Garbarino C, Barigazzi G, Foni E. (2010) Comparison of the usefulness of the CACO-2 cell line with standard substrates for isolation of swine influenza A viruses. J Virol Methods Jan;163(1):162-5. Epub 2009 Sep 23.
- Spackman E, Senne DA, Myers TJ, Bulaga LL, Garber LP, Perdue ML, Lohman K, Daum LT, Suarez DL. (2002)Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes. J Clin Microbiol. Sep;40(9):3256-60.
- Chiapponi C., Fallacara F. and Foni E. (2003) Subtyping of H1N1, H1N2 and H3N2 swine Influenza Viruses by two multiplex RT-PCR 4th International Symposium on Emerging and Re-Emerging Pig Diseases PRRS-PMWS-Swine Influenza. Roma 29 Giugno-2 Luglio. 257-258
- OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, Fifth Edition. Office International des Epizooties , Paris
- Moreno A, Barbieri I, Sozzi E, Lelli D, Fontana R, Alborali L, Cordioli P (2009) Virus influenzali suini H1N2 in Italia: presenza di ceppi riassortanti. Atti XI Congresso Nazionale S.I.Di.L.V., 25. Parma 30 settembre 2009
- Spackman E., Senne D.A., Myers T.J., Bulaga L.L., Garber L.P., Perdue M.L., Lohman K., Daum L.T., Suarez D.L. (2002) Development a real time revers transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes. J. Clin. Microbiol. 40: 3256-3260.
- Calsamiglia M, Pijoan C, Trigo A. (1999) Application of a nested polymerase chain reaction assay to detect Mycoplasma hyopneumoniae from nasal swbs. J. Vet. Diagn. Invest. 11 (3):246-251  
J Vet Diagn Invest. 1999 May;11(3):246-51
- Ma W, Lager KM, Richt JA, Stoffregen WC, Zhou F, Yoon KJ. (2008) Development of real-time polymerase chain reaction assays for rapid detection and differentiation of wild-type pseudorabies and gene-deleted vaccine viruses. J Vet Diagn Invest. 2008 Jul;20(4):440-7.
- Faccini S., Rosignoli C., Franzini G., Nigrelli A. (2009) Studio preliminare sull'importanza del metodo d'estrazione del DNA per la titolazione di PCV2 con real-time PCR. Atti SIPAS 2009, pp 243-248.
- Persia D., Pacciarini M.L., Cordioli P., Sala G. (2001) Evaluation of three RT-PCR assay for the detection of porcine and respiratory syndrome virus (PRRSV) in diagnostic samples, International Symposium of Veterinary Laboratory Diagnosticians and OIE Seminar on Biotechnology.