

# BRONCOPOLMONITE VERMINOSA FATALE DA *METASTRONGYLUS ELONGATUS* IN UN SUINO CO-INFETTATO DA CIRCOVIRUS SUINO TIPO 2

## *FATAL PARASITIC BRONCHOPNEUMONIA BY METASTRONGYLUS ELONGATUS IN A PORCINE CIRCOVIRUS TYPE 2 INFECTED PIG*

MARRUCHELLA G., SPERANZA R.

*Università degli Studi di Teramo, Facoltà di Medicina Veterinaria, Dipartimento di Scienze Biomediche Compare, Piazza Aldo Moro 45, 64100, Teramo ([gmarruchella@unite.it](mailto:gmarruchella@unite.it))*

**Parole chiave:** suino, broncopolmonite, nematodi, *Metastrongylus elongatus*, circovirus suino tipo 2.

**Key words:** *swine, bronchopneumonia, nematodes, Metastrongylus elongatus, porcine circovirus type 2.*

**Riassunto.** L'infezione sostenuta da PCV2 ha diffusione cosmopolita e le patologie ad essa correlate sono attualmente considerate tra quelle a più elevato impatto economico nella suinicoltura mondiale. PCV2 svolge un ruolo importante nell'eziologia del "complesso delle patologie respiratorie del suino", agendo spesso in stretta associazione con altri patogeni. Si riporta di seguito un episodio di co-infezione da PCV2 e *Metastrongylus elongatus* osservato in un suino deceduto spontaneamente ed appartenente ad un piccolo allevamento rurale. Le parassitosi bronco-polmonari da *Metastrongylus* spp. rappresentano ancora oggi una problematica sanitaria di una certa rilevanza negli allevamenti suinicoli "outdoor". La nostra recente esperienza suggerisce che tale problematica può essere amplificata in presenza di specifiche infezioni concomitanti (es. da PCV2) in grado di agire in modo sinergico.

**Summary.** *PCV2 infection is worldwide distributed and PCV2-associated diseases are considered among the most economically relevant concerns affecting the global swine industry. PCV2 is known to play a role in porcine respiratory disease complex, usually in close association with a large plethora of other etiologic agents. We describe herein a fatal parasitic broncho-pneumonia by Metastrongylus elongatus in a PCV2-infected pig. Metastrongylosis could still represent a major concern in outdoor herds. Our recent experience suggests that concurrent infections – such as PCV2 – could trigger metastrongylosis thus resulting in severe, and sometime fatal, pulmonary disease.*

### INTRODUZIONE

Il circovirus suino tipo 2 (*Porcine Circovirus type 2*, PCV2) è un piccolo virus a DNA monocatenario circolare, privo di *envelope*, classificato nella famiglia *Circoviridae* (gen. *Circovirus*). L'infezione sostenuta da PCV2 ha diffusione cosmopolita e le patologie ad essa correlate ("PCV2-associated diseases", PCVAD) sono attualmente considerate tra quelle a più elevato impatto economico nella suinicoltura mondiale (Gillespie *et al.*, 2009).

PCV2 è stato inizialmente riconosciuto quale agente causale della "sindrome da deperimento organico multisistemico post-svezzamento" del suino ("*post-weaning multisystemic wasting syndrome*", PMWS). Tuttavia, negli ultimi vent'anni il novero delle PCVAD si è notevolmente ampliato, comprendendo entità clinico-patologiche quali la sindrome dermatite-nefrite [("*porcine dermatitis and nephropathy syndrome*", PDNS (Rosell *et al.*, 2000)], l'enterite granulomatosa (Jensen *et al.*, 2006), turbe della sfera riproduttiva (West *et al.*, 1999) e dell'apparato respiratorio (Kim *et al.*, 2003), la linfadenite necrotizzante (Kim & Chae, 2005) ed alcune malattie

neurologiche (Correa *et al.*, 2007; Seeliger *et al.*, 2007). Una mole crescente di dati suggerisce che le infezioni sostenute da PCV2 vengono spesso complicate dall'intervento di altri agenti patogeni: virus (Pogranichniy *et al.*, 2002), batteri (Pallarès *et al.*, 2002), miceti (Clark, 1997), protozoi (Klein *et al.*, 2010).

La broncopolmonite verminosa (BPV) del suino è sostenuta da nematodi appartenenti al genere *Metastrongylus*, i quali impegnano il lume dei bronchi e dei bronchioli in prossimità dei margini caudo-dorsali di entrambi i polmoni. La BPV occorre esclusivamente laddove i suini hanno libero accesso al suolo e possono, pertanto, entrare in contatto con gli ospiti intermedi del parassita (lombrichi di terra). Le manifestazioni cliniche sono solitamente lievi o del tutto assenti e si osservano per lo più nei soggetti giovani (4-6 mesi di età) (Stewart & Hoyt, 2006).

Si riporta di seguito un episodio di co-infezione da PCV2 e *Metastrongylus elongatus* osservato in un suino deceduto spontaneamente ed appartenente ad un piccolo allevamento rurale.

## MATERIALI E METODI

Un suino di circa 4 mesi di età, deceduto spontaneamente dopo aver mostrato gravi disturbi respiratori e progressivi segni di deperimento, è stato conferito presso il “Dipartimento di Scienze Biomediche Comparete dell'Università degli Studi di Teramo” e sottoposto ad indagine necroscopica. Il soggetto in questione proveniva da un piccolo allevamento “outdoor” nel quale si osservavano da alcuni mesi sindromi respiratorie croniche (tosse grassa, dispnea) e ridotte *performances* produttive. Le manifestazioni cliniche interessavano soggetti di tutte le età (dimostrandosi più gravi nei suini di 4-6 mesi) con elevata morbilità e bassa mortalità. In precedenza, non era stato eseguito alcun approfondimento diagnostico. Tuttavia, si era osservato un miglioramento parziale e transitorio a seguito di terapie antibiotiche individuali ad ampio spettro.

Durante la necroscopia, si è proceduto al campionamento di una vasta gamma di tessuti che sono stati fissati in formalina e processati come di *routine* per le successive indagini istologiche. In particolare, sono stati prelevati campioni rappresentativi di tutti i lobi di entrambi i polmoni, destinati anche alle indagini batteriologiche.

I nematodi bronco-polmonari prelevati in sede necroscopica sono stati fissati in etanolo 70% per la successiva caratterizzazione su base morfologica.

Sezioni di parenchima polmonare e linfonodale sono state, inoltre, sottoposte ad indagini immunoistochimiche volte ad evidenziare gli antigeni di PCV2. Tali indagini sono state eseguite seguendo un protocollo pubblicato e disponibile in letteratura (Kennedy *et al.*, 2000).

## RISULTATI

All'esame esterno, il suino oggetto di studio appariva estremamente emaciato. Le lesioni macroscopiche più rilevanti interessavano i polmoni, che apparivano entrambi non collassati, di colore grigio-rossastro e di consistenza aumentata. All'apertura della trachea e dei bronchi si notava la presenza di un gran numero di nematodi (*Metastrongylus* spp.) frammisti ad abbondante essudato catarrale.

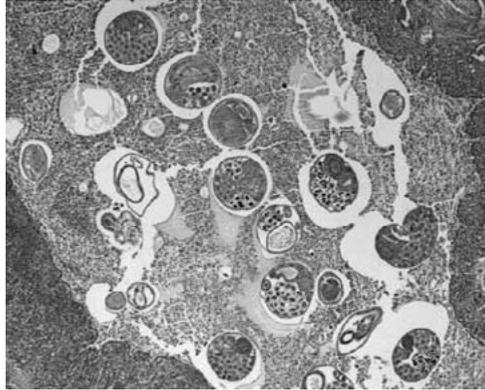
I linfonodi tracheo-bronchiali erano aumentati di volume ed edematosi. Sulla superficie epatica si notava la presenza delle cosiddette “macchie bianche”, riferibili alla migrazione delle larve di *Ascaris suum*.

Istologicamente, si è osservata la presenza di numerosi parassiti adulti nel lume di bronchi e bronchioli, circondati da un infiltrato infiammatorio costituito in larga parte da granulociti eosinofili e, in minor misura, da granulociti neutrofilii, macrofagi e linfociti (Fig. 1). In tutti i campioni di tessuto polmonare si evidenziava una grave alveolite, caratterizzata dalla presenza di abbondante infiltrato infiammatorio strettamente associato alla presenza di un gran numero di uova e larve parassitarie [3-5 per campo visivo ad alto ingrandimento (Ob. X40)]. Talvolta, l'infiammazione assumeva i caratteri tipici della polmonite interstiziale. Di comune riscontro la

presenza di vaste aree di necrosi, contenenti residui parassitari e colonie batteriche, nonché di granulomi e di essudato purulento. A livello linfonodale era presente una marcata deplezione linfocitaria. Al centro di numerosi follicoli, come pure nei seni peri-trabecolari, si osservavano numerose cellule giganti multinucleate ed epiteliodi.

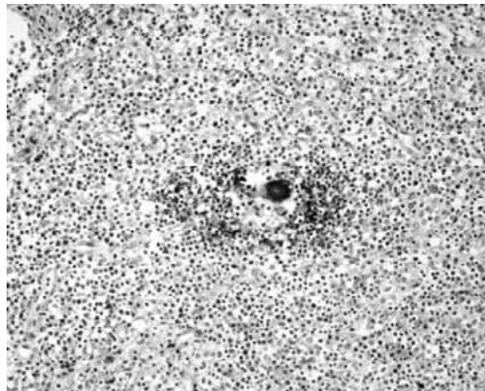
Le indagini batteriologiche hanno portato all'isolamento di streptococchi  $\beta$ -emolitici. Tutti i parassiti esaminati appartenevano alla specie *Metastrongylus elongatus*.

Le indagini immunohistochimiche hanno dimostrato la presenza di grandi quantità di antigeni di PCV2 in tutti i tessuti oggetto di studio. In sede linfonodale, l'immunoreattività coinvolgeva soprattutto macrofagi, elementi sinciziali e cellule follicolari dendritiche (Fig. 2). L'immunoreattività per PCV2 era intensa e specifica anche in sede polmonare all'interno di diversi citotipi (macrofagi alveolari, sincizi, cellule dell'epitelio bronchiale/bronchiolare).



**Fig.1. Suino. Polmone.** Il lume di un bronco contiene numerosi nematodi adulti, frammisti a muco ed abbondante infiltrato infiammatorio. Ematossilina-Eosina (Ob. X4).

**Fig. 1. Swine. Lung.** Bronchial lumen filled with lungworms, leucocyte infiltration and mucus. Hematoxylin and Eosin stain. Final magnification (Ob. X4).



**Fig. 2. Suino. Linfonodo tracheo-bronchiale.** Antigeni di PCV2 all'interno dei macrofagi e dei sincizi che infiltrano un follicolo linfatico. Immunohistochimica per PCV2, colorazione di contrasto con Ematossilina di Meyer (Ob. X20).

**Fig. 3. Swine. Lymph node.** Large amounts of PCV2 antigen within macrophages and syncytia, which densely infiltrated the germinal centre of a lymphoid follicle. Immunohistochemical technique with Meyer's haematoxylin counterstain. (Ob. X20).

## DISCUSSIONE

PCV2 svolge un ruolo importante nell'eziologia del "complesso delle patologie respiratorie del suino" ("Porcine Respiratory Disease Complex", PRDC) (Kim *et al.*, 2003), agendo spesso in stretta associazione con altri patogeni (Gillespie *et al.*, 2009). La patogenesi delle PCVAD è complessa e non ancora decifrata. Si ritiene che condizioni di immunostimolazione e di immunodepressione siano entrambe in grado di favorire la comparsa di PCVAD (Krakowka *et al.*, 2001; Segales *et al.*, 2004).

L'episodio qui descritto suggerisce un potenziale sinergismo d'azione fra PCV2 e parassiti (*Metastrongylus elongatus*). Come precedentemente ipotizzato da Klein *et al.* (2010), è ragionevole ritenere che l'intensa immunostimolazione indotta dai metastrongili possa aver favorito la replicazione di PCV2, aumentando il substrato cellulare specificamente utilizzato dal virus. D'altra parte, l'infezione sostenuta da PCV2 può aver compromesso la risposta immunitaria anti-parassitaria, con le conseguenze clinico-patologiche sopra descritte.

Le parassitosi bronco-polmonari da *Metastrongylus* spp. rappresentano ancora oggi una problematica sanitaria di una certa rilevanza negli allevamenti suinicoli "outdoor". Il ruolo eziologico dei metastrongili nell'episodio qui descritto è supportato dall'efficacia della terapia anti-parassitaria successivamente messa in atto. La nostra recente esperienza suggerisce che tale problematica può essere amplificata, oltre che dalla presenza di specifici fattori "manageriali" in grado di incrementare la carica parassitaria, anche dalla presenza di infezioni concomitanti in grado di agire in modo sinergico.

## RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano la Dott.ssa Barbara Paoletti (Dip.to Scienze Biomediche Compare, Università degli Studi di Teramo) per la caratterizzazione su base morfologica dei parassiti bronco-polmonari.

## BIBLIOGRAFIA

1. Clark EG (1997) Post-weaning multisystemic wasting syndrome. *Proceedings of the American Association of Swine Practitioners* 28, 499-501.
2. Corrêa AM, Zlotowski P, de Barcellos DE, da Cruz CE, Driemeier D (2007) Brain lesions in pigs affected with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 19, 109-112.
3. Gillespie J, Opriessnig T, Meng XJ, Pelzer K, Buechner-Maxwell V (2009) Porcine circovirus type 2 and porcine circovirus-associated disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 23,1151-1163.
4. Jensen TK, Vigre H, Svensmark B, Bille-Hansen V (2006) Distinction between porcine circovirus type 2 enteritis and porcine proliferative enteropathy caused by Lawsonia intracellularis. *Journal of Comparative Pathology* 135, 176-182.
5. Kennedy S, Moffett D, McNeilly F, Meehan B, Ellis J, Krakowka S, Allan GM (2000) Reproduction of lesions of postweaning multisystemic wasting syndrome by infection of conventional pigs with porcine circovirus type 2 alone or in combination with porcine parvovirus. *Journal of Comparative Pathology* 122, 9-24.
6. Kim J, Chung HK, Chae C (2003) Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory disease complex. *Veterinary Journal* 166, 251-256.
7. Kim J, Chae C (2005) Necrotising lymphadenitis associated with porcine circovirus type 2 in pigs. *Veterinary Record* 156, 1777-1778.
8. Klein S, Wendt M, Baumgärtner W, Wohlsein P (2010) Systemic toxoplasmosis and concurrent porcine circovirus-2 infection in a pig. *Journal of Comparative Pathology* 142, 228-234.

9. Krakowka S, Ellis JA, McNeilly F, Ringler S, Rings DM, Allan G (2001) Activation of the immune system is the pivotal event in the production of wasting disease in pigs infected with porcine circovirus-2 (PCV-2). *Veterinary Pathology* 38, 31-42.
10. Pallarés FJ, Halbur PG, Opriessnig T, Sorden SD, Villar D, Janke BH, Yaeger MJ, Larson DJ, Schwartz KJ, Yoon KJ, Hoffman LJ (2002) Porcine circovirus type 2 (PCV-2) coinfections in US field cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 14, 515-9.
11. Pogranichniy RM, Yoon KJ, Harms PA, Sorden SD, Daniels M (2002) Case-control study on the association of porcine circovirus type 2 and other swine viral pathogens with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 14, 449-456.
12. Rosell C, Segalés J, Ramos-Vara JA, Folch JM, Rodríguez-Arrijoja GM, Duran CO, Balasch M, Plana-Durán J, Domingo M (2000) Identification of porcine circovirus in tissues of pigs with porcine dermatitis and nephropathy syndrome. *Veterinary Record* 146, 40-43.
13. Seeliger FA, Brugmann ML, Kruger L, Greiser-Wilke I, Verspohl J, Segales J, Baumgartner W (2007) Porcine circovirus type 2-associated cerebellar vasculitis in postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS)-affected pigs. *Veterinary Pathology* 44, 621-634.
14. Segalés J, Domingo M, Chianini F, Majó N, Domínguez J, Darwich L, Mateu E (2004) Immunosuppression in postweaning multisystemic wasting syndrome affected pigs. *Veterinary Microbiology* 98, 151-158.
15. Stewart TB, Hoyt PG (2006) Internal parasites. In: *Disease of Swine*, 9th Edit., B Straw, JJ Zimmermann, S D'Allaire, DJ Taylor, Eds., Blackwell Publishing, Oxford, pp. 901-914.
16. West KH, Bystrom JM, Wojnarowicz C, Shantz N, Jacobson M, Allan GM, Haines DM, Clark EG, Krakowka S, McNeilly F, Konoby C, Martin K, Ellis JA (1999) Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 11, 530-532.