

MONITORAGGIO DELLA MALATTIA DI AUJESZKY IN POPOLAZIONI DI CINGHIALI (SUS SCROFA) DELLA REGIONE VENETO

MONITORING OF AUJESZKY DISEASE IN WILD BOAR (SUS SCROFA) POPULATIONS OF THE VENETO REGION

DI MARTINO, G.¹, ZULIANI, F.², BUNIOLO, F.¹, GUERRINI E.², CITTERIO, C.³, GRANZOTTO, F.⁴, REBECCHI, L.⁵, ADAMI, S.⁶, GUBERTI, V.⁷, BONFANTI, L.¹

¹Staff Direzione Sanitaria, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD);

²Laboratorio di Diagnostica Virologica e sierologica,

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD);

³SCT2 – sezione di Belluno, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD);

⁴ULSS 7 di Pieve di Soligo, Dipartimento di Prevenzione;

⁵ULSS 3 di Bassano, Dipartimento di Prevenzione;

⁶ULSS 22 di Bussolengo, Dipartimento di Prevenzione;

⁷Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale, Roma

Parole chiave: Aujeszky, cinghiale, sierologia, PCR, ganglio trigemino, *meat juice*

Key words: Aujeszky, wild boar, serology, PCR, trigeminal ganglia, *meat juice*

RIASSUNTO

La Malattia di Aujeszky (AD) è una malattia notificabile di rilevante impatto economico per il settore suinicolo. È sostenuta dal *Porcine herpesvirus 1*. Il cinghiale, quale *reservoir*, potrebbe rappresentare un costante pericolo per le popolazioni domestiche di reintroduzione della malattia in aree indenni. Per questo motivo risulta indispensabile che i piani di eradicazione della malattia prevedano il monitoraggio della malattia nelle popolazioni di cinghiali selvatici. La maggior parte degli Paesi comunitari ha raggiunto lo *status* di indennità o ha ottenuto il riconoscimento comunitario ai sensi del art. 9 della Dir. 64/432/CEE. La situazione nazionale non consente l'acquisizione dell'indennità se non in alcune particolari realtà territoriali, penalizzando economicamente il sistema produttivo a seguito delle limitazioni al commercio degli animali e dei prodotti derivati (produzioni DOP). Il presente lavoro è finalizzato alla valutazione delle positività sierologiche (su siero e *meat juice*) e virologiche (su tonsille e ganglio trigemino) nelle popolazioni di cinghiali della Regione Veneto. I risultati hanno evidenziato, su un totale di 140 cinghiali testati (52 in provincia di Treviso, 50 in provincia di Vicenza, 19 in provincia di Belluno e 19 in provincia di Verona), due sole positività virologiche su tonsilla, in soggetti tra uno e due anni di vita abbattuti nelle province di Treviso e Vicenza.

ABSTRACT

Aujeszky Disease (AD) is a notifiable disease with relevant economic impact in swine sector. It is caused by *Porcine herpesvirus 1*. The wild boar can act as a reservoir of the virus and has to be taken into account as a constant risk factor for the AD reintroduction in free areas. For this reason it is fundamental that the eradication plans include the monitoring of wild boar populations. Most of the Member States have achieved the EU AD Free Status or the acknowledgement in respect to the art. 9 of Directive 64/432/CEE. The national situation allows such achievement only in specific areas of the country, penalizing the economy of the productive system due to the trade limitations for animals and derived products (PDO or DOCG productions). The aim of this work was to investigate the Aujeszky status of the wild boar population living in the Veneto region

through serological (in serum and *meat juice*) and virological (in tonsils and trigeminal ganglia) test. Two out of 140 tested wild boars (52 in the province of Treviso, 50 in the province of Vicenza, 19 in the province of Belluno and 19 in the province of Verona) were found virus positive in the tonsils. Both animals belonged to the 1 to 2 years age class and were hunted in the provinces of Treviso and Vicenza.

INTRODUZIONE

L'agente eziologico della Malattia di Aujeszky (AD) è il *Porcine herpesvirus 1* (ADV), un virus appartenente alla famiglia *Herpesviridae*, sottofamiglia *Alphaherpesvirinae*, genere *Varicellovirus* (Mettenleiter *et al.*, 2000). Gli ospiti naturali sono il cinghiale e il suino domestico, ma il virus può infettare, a eccezione di umani e primati, numerosi altri mammiferi, che risultano ospiti a fondo cieco sviluppando una patologia neurologica letale prima dell'escrezione virale (Fenner *et al.*, 1987). ADV è un virus altamente neurotropo che, dopo una primaria replicazione a livello di mucosa nasofaringea, tonsille e epitelio olfattorio, invade il sistema nervoso centrale attraverso le vie nervose delle tonsille e del tratto respiratorio superiore, ove può persistere in forma latente (Ruiz-Fons *et al.*, 2007). La latenza è uno stato in cui il DNA virale persiste ma non genera infezione. Le basi molecolari di tale meccanismo risultano ancora largamente sconosciute (Mettenleiter *et al.*, 2000). I principali siti di latenza sono il ganglio trigemino, il bulbo olfattorio, le tonsille (Mettenleiter *et al.*, 2000) e i gangli sacrali (Romero *et al.*, 2003). La AD rappresenta oggi una delle più importanti patologie del suino domestico a livello mondiale, inclusa nell'elenco OIE delle malattie notificabili (Müller *et al.*, 2011). La malattia nel cinghiale è caratterizzata da un decorso generalmente asintomatico, in base ai ceppi coinvolti (Meng *et al.*, 2009) e questa popolazione selvatica potrebbe rappresentare il *reservoir* della malattia (Ruiz-Fons *et al.*, 2008), ma il quadro complessivo del ruolo epidemiologico svolto dalle popolazioni selvatiche europee non è ancora completamente chiarito (Müller *et al.*, 2011): sebbene infezioni sperimentali abbiano dimostrato la possibile trasmissione del virus da suini domestici a cinghiali e viceversa (Müller *et al.*, 2001), in taluni episodi è stato escluso il ruolo di *reservoir* del cinghiale sulla base di differenze biomolecolari dei ceppi virali isolati dalle due popolazioni (Müller *et al.*, 1997). In altri casi ancora (Capua *et al.*, 1997) è stata dimostrata l'appartenenza del virus isolato da un cinghiale nel 1993 a un gruppo (gruppo I) non più rilevabile nei precedenti 10 anni nei suini domestici. Questa evidenza supporterebbe l'ipotesi del mantenimento del virus nelle popolazioni selvatiche successivamente alla sua scomparsa dal ciclo domestico. Nel cinghiale gli episodi con sintomatologia clinica risultano estremamente rari, il più rilevante dei quali è stato segnalato in un focolaio in Spagna da Gortazar *et al.* (2002), dove è stata evidenziata una mortalità del 14% nei giovani e del 7,5% negli adulti. La sintomatologia clinica osservata è stata caratterizzata da comportamento anomalo, atassia del treno posteriore, incoordinazione, tremori. Le lesioni macroscopiche consistevano in congestione a livello di tonsille, linfonodi, cervello, meningi e, solo in alcuni soggetti, petecchie emorragiche nell'intestino tenue ed edema polmonare; tutti gli animali avevano di recente ingerito cibo e non mostravano segni di prurito o automutilazioni. L'esame istopatologico rivelava moderata meningoencefalite non suppurativa. La trasmissione nel suino domestico avviene solitamente per via orofaringea a seguito di contatto con aerosol e secreti infetti, mentre nei suini selvatici e nei cinghiali la via principale di trasmissione sembrerebbe quella venerea (Romero *et al.*, 2003). A comprovare tale ipotesi vi sarebbe la maggiore prevalenza di positività in PCR nei gangli sacrali (56% su 16 gangli di suini selvatici infettatisi naturalmente) rispetto a quelli trigeminali (44% su 16 gangli trigeminali) e le tonsille (39% su 13 tonsille), analogamente a quanto si verifica per gli herpes umani, nei quali HSV-2 (genitale) sviluppa latenza più frequentemente nei gangli sacrali, mentre HSV-1 (labiale) in latenza è maggiormente localizzato nel ganglio trigemino (Romero *et al.*, 2003).

Il possibile ruolo epidemiologico del cinghiale selvatico pone degli interrogativi sul costante

pericolo di re-introduzione della malattia in popolazioni indenni (Müller *et al.*, 2011). Per questo motivo le linee guida comunitarie per i piani di eradicazione della malattia prevedono il monitoraggio delle popolazioni selvatiche e l'adozione di misure di biosicurezza per prevenire l'eventuale trasmissione della malattia (SANCO/3023/2008). La maggior parte degli Stati membri ha raggiunto lo status di indennità o ha ottenuto il riconoscimento comunitario ai sensi del art. 9 della Direttiva 64/432/CEE, relativa a problemi di polizia sanitaria in materia di scambi intracomunitari di animali delle specie bovina e suina, che prevede l'adozione obbligatoria di piani di controllo e eradicazione. La situazione nazionale non consente l'acquisizione dell'indennità se non in alcune particolari realtà territoriali (Bolzano) penalizzando economicamente il sistema produttivo nazionale a seguito delle limitazioni commerciali degli animali e dei prodotti derivati (produzioni DOP o DOCG). Come in altre realtà nazionali, sul territorio della Regione Veneto le popolazioni di cinghiali selvatici hanno subito negli ultimi decenni un'esplosione demografica che ha reso necessari interventi di depopolamento (Carnevali *et al.*, 2009). Ai fini sanitari, le carcasse dei cinghiali selvatici sono routinariamente sottoposte a ispezione da parte dei Servizi veterinari ufficiali e campioni di muscolo vengono inviati all'IZS per la ricerca di *Trichinella*. Il presente lavoro ha avuto come obiettivo il monitoraggio della malattia di Aujeszky nelle popolazioni selvatiche di cinghiali abbattuti nelle diverse province della Regione Veneto, attraverso indagine virologica su tonsille e ganglio trigemino e ricerca anticorpale su siero e *meat juice*.

L'analisi sierologica risulta spesso inficiata dalla scarsità e bassa qualità del siero ottenuto dal coagulo cardiaco. Al contrario, il prelievo di porzioni di muscolo è facilmente attuabile durante l'ispezione. Il *meat juice* è una matrice riconosciuta dalla normativa comunitaria per le analisi sierologiche, citata a esempio per la ricerca delle Salmonelle (Dec. 2006/668/CE), nonché utilizzata da tempo nella ricerca (Osterkorn *et al.*, 2001; Quirke *et al.*, 2001).

MATERIALI E METODI

La ricerca è stata eseguita sugli animali abbattuti nelle province di Treviso, Vicenza, Belluno e Verona dal 12/2011 al 12/2012. I servizi veterinari responsabili delle verifiche sanitarie presso i centri di conferimento (Farra di Soligo, Cassola, Alano di Piave, Fumane) hanno garantito la raccolta delle diverse matrici. A ciascun capo è stata attribuita una classe di età, sulla base del tempo di eruzione dei molari nell'emiarcata inferiore (Matschke, 1967):

- A. Assenza di molari: meno di 6 mesi di vita
- B. 1 molare: 6 mesi-1 anno
- C. 2 molari: 1-2 anni
- D. 3 molari: più di due anni

Il siero è stato ottenuto per centrifugazione del coagulo cardiaco, raccolto immediatamente dopo l'abbattimento degli animali, trasportato a 4°C e analizzato con il kit Ingenasa Ingezim ADV total 1.1.ADV.K1; test ELISA di tipo non competitivo con diluizione prescritta per il siero di 1:25.

Per la preparazione del *meat juice* i campioni di massetere di circa 1×3 cm sono stati toelettati, eliminando grasso e porzioni aponeurotiche, sminuzzati con le forbici e posti in appositi supporti (Christensen ApS, Hillerød, Danimarca), poi stoccati a -20°C. Il successivo scongelamento ha favorito la separazione del *meat juice* in una provetta di raccolta (per alcuni campioni è stato necessario ripetere il ciclo congelamento/scongelamento più volte per ottenere una quantità di *meat juice* sufficiente per l'esecuzione delle prove. La quantificazione anticorpale è avvenuta mediante utilizzo dello stesso kit Ingenasa, validato *ad hoc* su *meat juice*. La diluizione d'uso ottimale è risultata essere 1:10 (Natale *et al.*, 2012).

L'estrazione delle tonsille e del ganglio trigemino è avvenuta secondo la procedura illustrata in Figura 1. Da queste matrici successivamente è stato estratto il DNA tramite il prodotto commerciale "High Pure PCR Template Preparation kit" per la ricerca di un frammento genico

di PHV-1 di circa 338 paia di basi (bp), tramite un protocollo di PCR end-point (Katz e Petersen, 1992). In particolare, il bersaglio della reazione è costituito da un frammento genico localizzato nel porzione genomica US8, codificante la glicoproteina gE virale. La scelta di questa regione è voluta in quanto, essendo deleta nei vaccini marker (gE-), consente una più diretta diagnosi differenziale tra animali vaccinati e soggetti infetti da virus *wild type*.

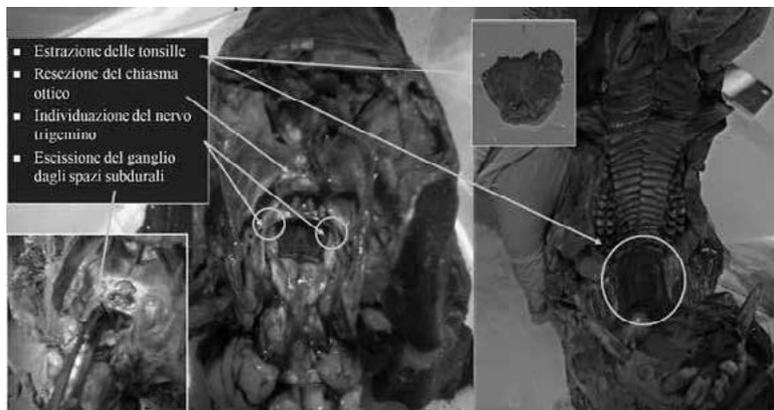


Figura 1. Estrazione delle tonsille e dei gangli trigeminali dall'encefalo di cinghiale.
Figure 1. Removal of tonsils and trigeminal ganglia from the encephalon of wild boar.

RISULTATI

I risultati del monitoraggio sierologico e virologico dei cinghiali delle diverse province della Regione Veneto, stratificati per sesso e classe di età, sono indicati in Tabella 1. Si evidenziano due positività in PCR su tonsilla in animali abbattuti nelle province di Treviso e Vicenza. La distribuzione territoriale delle aree di caccia testate e di quelle risultate positive sono indicate in Figura 2.

Categoria	Sesso	TV	VI	BL	VR	+Siero	+Meat juice	+PCR ganglio	+PCR tonsilla	Totale
A	M	3	-	1	1	0	0	0	1	5
	F	-	-	1	1	0	0	0	0	2
B	M	6	3	4	4	0	0	0	0	17
	F	7	8	1	3	0	0	0	1	19
C	M	13	17	2	4	0	0	0	0	36
	F	13	15	5	2	0	0	0	0	35
D	M	4	2	2	1	0	0	0	0	9
	F	6	5	3	3	0	0	0	0	17
Totale		52	50	19	19	0	0	0	2	140

Tabella 1. Risultati del monitoraggio sierologico e virologico (PCR) per AD su cinghiali abbattuti in diverse province della Regione Veneto nel corso del 2012, stratificati per sesso e classe di età.

Table 1. Results of the serological and virological (PCR) monitoring of AD in wild boars culled in different provinces of the Veneto Region during 2012, stratified by gender and age class.

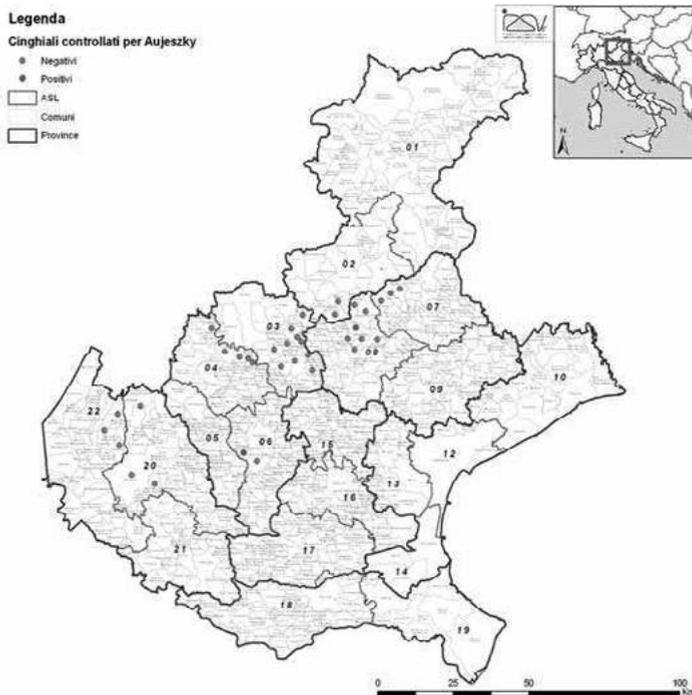


Figura 2. Distribuzione territoriale delle aree di caccia testate e di quelle risultate positive al monitoraggio sierologico e virologico per AD su cinghiali abbattuti nel corso del 2012.

Figure 2. Spatial distribution of the tested and positive hunting areas within the serological and virological monitoring of AD in wild boars culled during 2012.

DISCUSSIONE

Il ruolo del cinghiale selvatico quale possibile *reservoir* della malattia è stato ampiamente indagato nel corso degli ultimi 10 anni in Europa, evidenziando livelli di prevalenza estremamente vari, dallo 0,3% al 66%, assenza solo in Svezia e Lituania (Müller *et al.*, 2011). I territori della Germania orientale risultano i maggiormente studiati ed evidenziano prevalenze superiori al 40% su un campione di circa 100.000 cinghiali testati nel corso di 24 anni (Müller *et al.*, 2011). Per quanto riguarda il territorio italiano i dati disponibili sono relativi al territorio della regione Sardegna: su 2379 sieri raccolti nel periodo 1994-1995 si rileva una elevata prevalenza dell'infezione (41,8%) (Oggiano *et al.*, 1997). Dati più recenti relativi alla regione Toscana, nel periodo 2002-2003, evidenziano su 152 animali una positività sierologica del 51% e una positività in PCR su tonsille del 41% (Lari *et al.*, 2006). Dati relativi alla regione Emilia Romagna riportano, sugli 8.238 cinghiali abbattuti nelle stagioni venatorie 2006-2010, positività sierologiche dal 21,6% al 35,2% (Rugna *et al.*, 2011). Infine dati relativi alla regione Lombardia mostrano sieroprevalenze del 29% su 2.153 soggetti nel 2009 (Cordioli, 2009).

Sulla base dei dati raccolti e la continuità territoriale, si era ipotizzata, per la Regione Veneto, una prevalenza simile a quella evidenziata in Regione Lombardia, in particolare nell'area dei Monti Lessini (nord della Provincia di Verona). Per contro i risultati sono in accordo con un precedente studio che, nel biennio 2005-2007, non aveva evidenziato positività su

79 cinghiali abbattuti nella provincia di Treviso (Salvador, 2011). Anche il campionamento effettuato nel 2008 su 215 cinghiali dei Colli Euganei non aveva rilevato positività (Drigo *et al.*, 2009). Tale sieronegatività poteva essere motivata dal fatto che i prelievi in tali aree geografiche erano stati effettuati su popolazioni chiuse (parchi regionali), ovvero originate da piccoli nuclei di individui negativi di recente introduzione.

Le ricerche hanno inoltre indagato la possibile correlazione tra età e sesso degli animali e le positività. La maggior parte degli studi evidenzia tassi di infezione significativamente più alti negli adulti rispetto a giovani e suinetti (Müller *et al.*, 2011); secondo Ruiz-Fons *et al.* (2007) sebbene siano evidenziabili virusprevalenze maggiori in femmine e soggetti di età superiore ai 2 anni, tali differenze non risultano statisticamente significative. Lari *et al.* (2006) individuano in Toscana differenze significative di prevalenza nei soggetti di età inferiori a un anno (15% positivi PCR; 16% positivi ELISA) e di età superiore (55% positivi PCR; 67% positivi ELISA), ma non identificano significatività legate al sesso. Differenze significative legate al sesso sono state individuate in Spagna (Vicente *et al.*, 2005), Tunisia (Jridi *et al.*, 1996) e Germania (Lutz *et al.*, 2003), con sieroprevalenze più elevate nelle femmine. Infine Vicente *et al.* (2005) evidenziano nelle femmine una sieroprevalenza costante nel corso dell'anno, mentre nei maschi questa sembra aumentare in corrispondenza della stagione riproduttiva. Le differenze legate al sesso possono, secondo questi ultimi autori, avere due motivazioni: i maschi raggiungono più tardivamente la maturità sessuale e lasciano il gruppo materno per condurre vita solitaria; viceversa le femmine con il loro comportamento gregario favoriscono la trasmissione della malattia per via respiratoria. Per quanto riguarda l'effetto età bisogna infine considerare l'aumento di sieroprevalenza legato anche a una maggiore probabilità di esposizione a ADV (Ruiz-Fons *et al.*, 2007).

Nel presente studio sono risultati positivi due soggetti tra 1 e 2 anni di vita in PCR su tonsilla ma negativi sulle altre matrici. Questo dato sembrerebbe indicativo di una infezione recente, che non ha ancora prodotto risposta anticorpale né eventuale latenza sul ganglio trigemino. Un'altra ipotesi potrebbe essere che il virus sia entrato in latenza nelle tonsille senza dare risposta anticorpale, per lo meno non IgG (potrebbero essere state prodotte solo IgA).

CONCLUSIONI

Nel mondo globalizzato la presenza di infezioni/malattie negli animali rappresenta una delle possibili motivazioni al blocco degli scambi commerciali. In un tale contesto i progetti di sorveglianza sanitaria sulla fauna selvatica non hanno la funzione di focalizzare le malattie che colpiscono i selvatici, ma piuttosto individuare il più precocemente possibile la presenza endemica (o l'introduzione recente) di infezioni in grado di provocare ingenti danni economici al comparto zootecnico o all'industria alimentare. Lo scopo è conoscere la situazione epidemiologica dei territori di produzione per prevenire l'introduzione delle infezioni nel comparto produttivo e quindi annullare i danni diretti e gestire le eventuali limitazioni imposte alle movimentazioni di derrate alimentari. AD è una delle infezioni riconosciute internazionalmente e la cui presenza nel territorio può condizionare pesantemente la commercializzazione sia degli animali recettivi sia delle derrate alimentari da loro originate. Il presente studio dimostra come la situazione epidemiologica di AD nel cinghiale a livello regionale rappresenti un rischio relativamente basso per gli allevamenti suini della regione. Dall'indagine è stato comunque possibile individuare due piccoli focolai in due distinte province; il virus sembra quindi circolare, in modo focale, in piccole popolazioni di cinghiale piuttosto che assumere un andamento pan-regionale. Se così fosse, la popolazione di maiali a rischio non sarebbe quella del comparto industriale ma piuttosto i gruppi di suini domestici il cui allevamento è indirizzato alle piccole produzioni locali, incluso l'allevamento semi-brado

in aree boschive. Una volta definitivamente accertata tale situazione epidemiologica le piccole produzioni locali andranno protette innanzitutto studiando accuratamente la distribuzione regionale di AD nel cinghiale e nel contempo aumentando i livelli di biosicurezza laddove la distribuzione geografica dell'allevamento suino e del cinghiale infetto è sovrapposta.

BIBLIOGRAFIA

- Capua I., Casaccia C., Calzetta G., Caporale V. (1997) "Characterisation of Aujeszky's disease viruses isolated from domestic animals and from a wild boar (*Sus scrofa*) in Italy between 1972 and 1995". *Vet. Microbiol.* 57,143-149.
- Carnevali L., Pedrotti L., Riga F., Toso S. (2009) "Banca Dati Ungulati: status, distribuzione, consistenza, gestione e prelievo venatorio delle popolazioni di Ungulati in Italia". Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica, Report 2001-2005.
- Cordioli P. (2009) Relazione tecnica sull'attività del Centro di Referenza Nazionale per la Malattia di Aujeszky nel 2009. www.izsler.it/izs_bs/allegati/820/RELAZIONE%202009.pdf
- Decisione 2006/668/CE Della Commissione del 29 settembre 2006 "relativa a un contributo finanziario della Comunità per un'indagine di riferimento sulla diffusione della Salmonella nei suini da macello da realizzare negli Stati membri".
- Drigo M., Lucchese L., Menandro M.L., Pasotto D., Gallo M., Ziron G., de Mateo Aznar M., Martini M. (2009) "Prevalenza di alcuni agenti patogeni in cinghiali del Parco Regionale dei Colli Euganei". In: *Atti della Società Italiana delle Scienze Veterinarie*, 63, 126-128.
- Gortazar C., Vicente J., Fierro Y., Leon L., Cubero M.J., Gonzalez M. (2002) "Natural Aujeszky's disease in a Spanish wild boar population". *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 969, 210-212.
- Jridi M., Bouzghaia H., Toma B. (1996) "Aujeszky's disease in wild boar in Tunisia. *Epidemiol et Sante Anim* 30:99-105
- Lari, A., Lorenzi, D., Nigrelli, D., Brocchi, E., Faccini, S. & Poli, A. 2006 Pseudorabies virus in European wild boar from central Italy". *J. Wildl. Dis.* 42, 319-324.
- Katz J.B., Petersen J.C. (1992). Molecular analysis of Pseudorabies viral vaccines and their rapid differentiation from wild type isolates using DNA-amplified glycoprotein I and thymidine kinase gene segment polymorphisms. *Biologicals* 20, 187-195.
- Lutz W., Junghans D., Schmitz D., Müller T. (2003). "A long-term survey of pseudorabies virus infections in European wild boar of western Germany". *Z Jagdwiss* 49,130-140.
- Matschke G.H. (1967). "Aging European Wild Hogs by Dentition". *The Journal of Wildlife Management* 31(1), 109-113.
- Meng X.J., Lindsay D.S., Sriranganathan N. (2009). "Wild boars as sources for infectious diseases in livestock and humans". *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364:2697-2707.
- Mettenleiter T.C. (2000). "Aujeszky's disease (pseudorabies) virus: the virus and molecular pathogenesis-State of the art, June 1999". *Vet. Res.* 31, 99-115
- Müller T., Teuffert J., Zellmer K., Staubach C., Klupp B., Otte J., Conraths F.J. (1997). "Pseudorabies virus infections in the European wild boar – A potential danger for domestic pigs?" *Epidemiologie Sante` Animale* 01, 31-32.
- Müller T.F., Teuffert J., Zellmer R., Conraths F.J. (2001). "Experimental infection of European wild boar and domestic pigs with pseudorabies viruses with differing virulence". *American Journal of Veterinary Research* 62, 252-258.
- Müller T., Hahn E.C., Tottewitz F., Kramer M., Klupp B.G., Mettenleiter T. C., Freuling C. (2011). "Pseudorabies virus in wild swine: a global perspective". *Arch Virol* 156, 1691-1705.
- Natale A., Zuliani F., Di Martino G., Lucchese L., Gagliazzo L., Chisini Granzotto F., Sandonà C., Bonfanti L. (2012). "Utilizzo del meat juice per la sierologia della malattia di Aujeszky nel cinghiale". In: *Atti del XIV Congresso Nazionale S.I.Di.L.V., Sorrento (NA), 24-26 Ottobre 2012, pp 58-61.*

- Oggiano A., Sarria A., Cabras P., Manca A.F., Madrau P., Dei Guidici S. (1997) "Epidemiological Survey of Aujeszky's Disease in free Ranging Pigs of Sardinia". Atti Della Societa Italiana Delle Scienze Veterinarie LI:305-306.
- Osterkorn K., Czerny C.P., Wittkowski G., Huber M. (2001) "Sampling plan for the establishment of a serologic *Salmonella* surveillance for slaughter pigs with meat juice ELISA". Berl. Münch. Tierärztl. Wschrift 114, 30-34.
- Quirke A.M., Leonard N., Kelly G., Egan J., Lynch P.B., Rowe T., Quinn P.J. (2001) "Prevalence of *Salmonella* serotypes on pig carcasses from high-and low-risk herds slaughtered in three abattoirs". Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr 114, 360-362.
- Romero C.H., Meade P.N., Homer B.L., Shultz J.E., Lollis G. (2003). "Potential sites of virus latency associated with indigenous pseudorabies viruses in feral swine". J Wildl Dis 39, 567-575.
- Rugna G., Bonilauri P., Frasnelli M., Garbanino C., Gelmetti D., Grazioli S., Licata E., Massi P., Pacciarini M.L., Pongolini S., Sozzi E., Tamba M., Vicari M., Merialdi G. (2011). "The monitoring of health status of wild boar (*Sus scrofa*) population in Emilia-Romagna Region. Results of years 2006-2010". In: Atti del XXXVII Meeting Annuale S.I.P.A.S. - Piacenza, 24-25 Marzo 2011.
- Ruiz-Fons F., Vidal D., Hofle U., Vicente J., Gortazar C. (2007). Aujeszky's disease virus infection patterns in European wild boar. Vet. Microbiol. 120, 241-250.
- Ruiz-Fons F., Segales J., Gortazar C. (2008). "A review of viral diseases of the European wild boar: effects of population dynamics and reservoir role". Vet. J. 176, 158-169.
- Salvador S. (2011) "Aspetti epidemiologici di alcune malattie del cinghiale (*Sus scrofa*) nel trevigiano" Tesi di Laurea Specialistica in Scienze Animali. Università degli Studi di Udine. SANCO/3023/2008, Guidance to Commission Decision 2008/185/EC regarding additional guarantees in intra-Community trade of pigs related to Aujeszky's disease and criteria for listing a Member State or a region thereof as free from Aujeszky's disease or as having an approved disease control programme. Brussels, December 2009.
- Vicente J., Ruiz-Fons F., Vidal D., Höfle U., Acevedo P., Villanúa D., Fernández-de-Mera I.G., Martín M.P., Gortázar C. (2005). Serosurvey of Aujeszky's disease virus infection in European wild boar in Spain. Veterinary Record 156, 408-412.