

# UTILIZZO DELLA TIPIZZAZIONE MOLECOLARE (MLST) E DELLA SIEROLOGIA PER LO STUDIO DELL'EPIDEMIOLOGIA DI *BRACHYSPIRA HYODYSENTERIAE* IN UN ALLEVAMENTO SUINO MULTISITO

## *USE OF MOLECULAR TYPING (MLST) AND SEROLOGY TO STUDY THE EPIDEMIOLOGY OF BRACHYSPIRA HYODYSENTERIAE INFECTION IN A MULTISITE PIG FARM*

FORLENZA J.<sup>1</sup>, RUGNA G.<sup>2</sup>, BONILAURI P.<sup>2</sup>, CARRA E.<sup>2</sup>, LUPPI A.<sup>2</sup>, MARTELLI P.<sup>3</sup>, MERIALDI G.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Veterinario aziendale;*

<sup>2</sup> *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna;*

<sup>3</sup> *Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie - Università degli Studi di Parma*

**Parole chiave:** Epidemiologia, *Brachyospira hyodysenteriae*, MLST, ELISA, sierologia  
**Key words:** Epidemiology, *Brachyospira hyodysenteriae*, MLST, ELISA, serology

### **Riassunto**

Un programma di controllo nei confronti della dissenteria suina (DS), specialmente in allevamenti multisito, per essere efficace deve basarsi sulla conoscenza dell'epidemiologia intra-allevamento di *Brachyospira hyodysenteriae*. Lo scopo di questo studio è stato l'identificazione delle fonti di infezione e delle vie di trasmissione dell'agente patogeno in un allevamento con DS endemica, utilizzando la sierologia e la tipizzazione molecolare (MLST) dei ceppi circolanti. L'allevamento è composto da 5 siti (A, B, C, D, E) tra loro strettamente correlati funzionalmente; è autosufficiente e solo occasionalmente vengono comprati lattoni da un allevamento non di proprietà, considerato indenne da DS. Nell'allevamento si verificano episodi ricorrenti di dissenteria emorragica in tutte i siti eccetto A (scrofe grand-parent) e D, dove la malattia non si presenta clinicamente da almeno due anni. Il protocollo di studio ha previsto il prelievo di campioni di sangue da tutte le unità e campioni fecali e/o visceri da soggetti con sintomi di DS in un periodo di 18 mesi. Gli isolati di *B. hyodysenteriae* sono stati sottoposti a determinazione della MIC ed MLST. I campioni di sangue sono stati testati sierologicamente con un prototipo di kit ELISA in fase di sperimentazione. La MLST ha mostrato la circolazione di isolati appartenenti tutti allo stesso sequence type (ST 77). La sierologia ha rilevato positività in tutte i siti ad eccezione di E in cui erano presenti suini introdotti da fonte esterna indenne. Sulla base della storia clinica e dei risultati di laboratorio è possibile ipotizzare che le scrofe granparentali del sito A, sebbene non affette da DS, siano la probabile fonte di diffusione di *B. hyodysenteriae*. L'uso combinato di MLST e sierologia si è dimostrato un potenziale strumento per una eventuale futura implementazione di strategie di controllo aziendale nei confronti dell'infezione da *B. hyodysenteriae*.

### **Abstract**

A successful control program for Swine dysentery (DS), especially in multisite pig herds, relies on the accurate understanding of the intra-herd epidemiology. The aim of the study was to attempt the identification of the infection's sources and the transmission patterns of *B. hyodysenteriae* in an Italian pig farm suffering from DS by using a molecular typing

method (MLST) and serology. The study was conducted in a herd based on 5 sites (A, B, C, D, E). Recurrent episodes of DS were observed, but 2 sites (A and D) have no history of DS in the last 2 years. Fecal samples were collected from pigs suffering from clinical signs of DS. Blood samples from at least 40 pigs were collected from each site. Fecal samples were cultivated for *B. hyodysenteriae* and the isolates were submitted to MLST. Two hundred blood samples were tested with a prototype of ELISA kit. The MLST results showed the circulation of isolates belonging to the same sequence type (ST 77). The ELISA test showed that *B. hyodysenteriae* antibodies were present in all groups including those without a recent history of clinical DS but in site E where pigs introduced from an DS free herd were allocated. Based on the case history and the laboratory results it is possible to hypothesize that grandparent sows site A), even though not affected by clinical DS, are the probable single source of *B. hyodysenteriae* spreading. The combined use of molecular typing and serology could be of help for the correct implementation of control strategies.

## INTRODUZIONE

La dissenteria suina (DS) o dissenteria emorragica suina (Swine Dysentery) è una colite muco-emorragica causata dalla spirocheta anaerobia *Brachyspira hyodysenteriae*, a trasmissione oro-fecale (Hampson *et al.*, 2006; Taylor & Alexander, 1971). Questa patologia è diffusa in tutti i Paesi con allevamento intensivo del suino ed ha un impatto molto alto, determinando ingenti perdite economiche dovute alla mortalità e alla riduzione delle performance produttive. La DS è una patologia multifattoriale, in cui entrano in gioco variabili come l'età dei suini, lo stress, l'acidità dello stomaco, la dieta, la virulenza dei ceppi di *B. hyodysenteriae* (Jacobson *et al.*, 2004). Il sistema produttivo è un fattore sicuramente molto importante: in allevamenti a ciclo chiuso il patogeno può persistere in scrofe infette endemicamente, che superano l'infezione e sviluppano un'immunità protettiva ma che ancora eliminano il patogeno con le loro feci (Alvarez-Ordóñez *et al.*, 2013). Altrettanto importanti sono il tipo di pavimentazione e i livelli di biosicurezza (Mirko *et al.*, 2006).

Il trattamento terapeutico della DS consiste principalmente nell'uso di antibiotici. I più utilizzati nell'Unione Europea sono le pleuromutiline (tiamulina e valnemulina), i macrolidi (tilosina e tilvalosina) e la lincomicina. L'emergere di ceppi con ridotta suscettibilità a uno o più antibiotici, evidenziato ormai in diversi Paesi europei (Hidalgo *et al.*, 2011; Sperling *et al.*, 2011; Karlsson *et al.*, 2004) ed in Italia (Bonilauri *et al.*, 2004; Merialdi *et al.*, 2006; Magistrali *et al.*, 2010), riduce però le opzioni disponibili per il controllo della DS e dovrebbe allertare i veterinari e gli allevatori sulla necessità di un approccio più strategico al problema. Un efficiente programma di controllo, specialmente in grandi allevamenti integrati, dovrebbe basarsi sull'accurata conoscenza dell'epidemiologia intra-allevamento della malattia, in particolare sull'identificazione dei fattori di rischio e delle fonti di infezione e sui *pattern* di circolazione del patogeno tra le varie unità dell'allevamento.

A questo scopo, le tecniche di tipizzazione molecolare e l'utilizzo della sierologia possono rivelarsi uno strumento utile. Recentemente è stata messa a punto da La *et al.* (2009) la tecnica di tipizzazione Multi Locus Sequence Typing (MLST), una metodica con alto potere discriminante e con buona riproducibilità dei risultati. Per quanto riguarda la sierologia, la colonizzazione da *B. hyodysenteriae* induce una forte risposta immunitaria sistemica che può durare anche 17 settimane (Ferne *et al.*, 1983), e quindi la identificazione di anticorpi circolanti può dare una dimostrazione indiretta dell'esposizione al patogeno e la sierologia può essere uno strumento valido almeno per determinare lo stato sanitario di gruppo.

Lo scopo del presente studio è stato innanzitutto quello di comprendere l'epidemiologia

della DS in un allevamento integrato composto da 5 siti, strettamente correlati tra loro funzionalmente, ma caratterizzato dall'assenza di forma clinica in alcuni di essi. L'allevamento è autosufficiente e solo occasionalmente vengono comprati dei suini da un allevamento non di proprietà. Per il raggiungimento dell'obiettivo è stato utilizzato un approccio epidemiologico innovativo, basato sull'utilizzo associato di una tecnica di tipizzazione molecolare (MSLT) e della sierologia, in modo da valutare la possibilità di un supporto razionale alla definizione di eventuali future strategie di controllo o eliminazione di *B. hyodysenteriae* in azienda. Per la stessa finalità è stata determinata la suscettibilità agli antibiotici dei ceppi isolati mediante determinazione della Minima Concentrazione Inibente (MIC).

## **MATERIALI E METODI**

- *Descrizione dell'azienda e stato sanitario nei confronti della DS*

La descrizione dei flussi di suini tra i siti dell'allevamento è rappresentata schematicamente nella Figura 1.

### **Sito A**

È la scrofaia principale dal punto di vista funzionale dell'azienda. Ospita 250 scrofe granparentali a ciclo aperto, per la produzione di scrofette ibride di 6 kg destinate all'allevamento B e saltuariamente anche all'allevamento C; i controsessi vengono ingrassati negli allevamenti D ed E. La pavimentazione in ingrasso è piena all'interno, con parquet esterno fessurato. L'alimentazione è liquida con acqua. In questo allevamento non si hanno casi conclamati di dissenteria emorragica da più di due anni.

### **Sito B**

Ospita 750 scrofe a ciclo semichiuso. La quasi totalità dei suini prodotti viene ingrassata *in situ*, mentre una piccola quantità in esubero viene spostata per l'ingrasso nell'allevamento E. L'allevamento non è di recente costruzione, infatti alcuni capannoni risalgono ai primi anni '60. Le scrofe sono allevate su pavimento pieno, in ingrasso c'è un fessurato cosiddetto "autopulente". L'alimentazione in ingrasso è liquida con siero di Parmigiano Reggiano.

Questo sito, per quanto riguarda il controllo della DS, risulta il più problematico. La patologia si manifesta ciclicamente interessando tutte le categorie di animali, comprese le scrofe in fase di accrescimento e i soggetti in svezzamento. Gli episodi clinici si presentano però più frequentemente nei soggetti in ingrasso tra i 100 e i 170 kg.

### **Sito C**

Ospita 430 scrofe a ciclo semichiuso; una metà circa dei suini prodotti viene ingrassata in questo sito, il resto viene spostato al peso di 40-50 kg e portata al peso di macellazione nel sito E. In questo allevamento viene attuato un piano di autorimonta e saltuariamente viene introdotto qualche lotto di scrofette dal sito A. La pavimentazione è totalmente fessurata in tutte le fasi, tranne nei box in gestazione dove c'è una parte di pavimento pieno. L'alimentazione in ingrasso è liquida con siero di Parmigiano Reggiano. Dal punto di vista clinico la DS in questo sito si manifesta più di rado e quasi sempre nelle ultime fasi dell'ingrasso tra i 100 e i 170 kg, molto più raramente nelle scrofe o nei suini in accrescimento.

### **Sito D**

È un piccolo ingrasso da 1200 posti dove vengono portati al peso di macellazione i controsessi dell'allevamento A e qualche partita dell'allevamento B. La pavimentazione è a pavimento pieno con fessurato esterno. L'alimentazione in ingrasso è liquida con acqua. Dal punto di vista della DS non ci sono episodi da almeno due anni.

### **Sito E**

E' un ingrasso di circa 5500 posti, dove vengono accasati lattoni da più provenienze: dai siti A, B e C e da una provenienza esterna dichiarata indenne da DS. La pavimentazione è pavimento pieno con fessurato esterno. L'alimentazione in ingrasso è liquida con siero di Parmigiano Reggiano. Dal punto di vista della clinica ci sono periodicamente episodi di DS su tutte le provenienze, con insorgenza precoce ad eccezione dei suini provenienti dall'allevamento indenne, dove la malattia si manifesta più tardivamente (sempre dopo i 100 kg).

#### **Allevamento Esterno (non di proprietà)**

E' una scrofaia che fornisce lattoni ad elevato standard sanitario per l'ingrasso E. E' dichiarata indenne da DS.

#### *Gestione sanitaria aziendale nei confronti della DS*

Il protocollo standard di gestione della dissenteria emorragica prevede la somministrazione di mangime medicato a base di lincomicina cloridrato. Questa molecola viene impiegata nonostante il test di Concentrazione Minima Inibente (MIC) la indichi come "non efficace", ma ai dosaggi che si riescono a raggiungere rispettando le registrazioni del farmaco si ottengono buoni risultati. Il protocollo d'intervento è prevalentemente terapeutico, poichè la metafilassi non ha dimostrato buona efficacia e prevede la somministrazione di lincomicina cloridrato alla concentrazione di 495 ppm per 5-7 gg. Terapie più lunghe non hanno mai mostrato un vantaggio maggiore ed aumentano i costi sanitari.

#### *Protocollo di studio ed esami di laboratorio*

Il protocollo di studio ha previsto la raccolta di campioni biologici per l'isolamento di ceppi di *B. hyodysenteriae* dai siti colpiti da DS, con la finalità di determinare la MIC e studiare le correlazioni epidemiologiche degli isolati mediante tipizzazione molecolare. A tale scopo sono stati prelevati campioni fecali direttamente dall'ampolla rettale di soggetti colpiti da dissenteria. In taluni casi sono stati esaminati animali venuti a morte, sui quali gli accertamenti di laboratorio sono stati condotti da contenuto cecale, nel caso di lesioni anatomo-patologiche riferibili a DS.

Sono stati inoltre prelevati campioni di sangue per l'evidenziazione della circolazione di *B. hyodysenteriae*. In particolare sono stati campionati i 2 siti (A, D) con anamnesi negativa per DS ed un sito (B) con diagnosi batteriologica di DS; quest'ultimo, campionato in due occasioni, per valutare la corretta rilevazione di gruppi infetti da parte del kit ELISA. Per ogni sito è stata scelta una numerosità campionaria che permettesse di rilevare almeno un animale sieropositivo con una prevalenza attesa del 7% e un livello di confidenza del 95% (La *et al.*, 2009b). Nel sito E, un gruppo di suini provenienti dall'allevamento esterno e stabulati in ambiente separato fisicamente da quello dei suini di provenienza interna, è stato testato sierologicamente due volte durante il periodo di accrescimento (50 kg/p.v. e 100 Kg/p.v.).

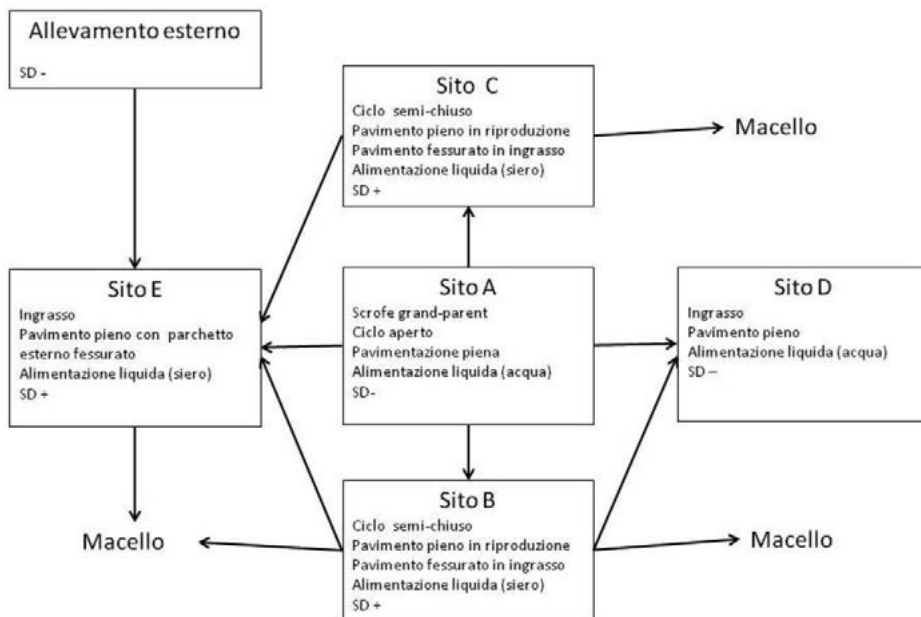
Esami batteriologici e sierologici: i campioni fecali sono stati coltivati su BAM-agar e le colonie caratterizzate da emolisi completa sono state confermate con una PCR specie-specifica (La *et al.*, 2003). I campioni di sangue sono stati analizzati col kit PrioCHECK® Brachyspira Ab porcine ELISA (Prionics AG, Switzerland).

Suscettibilità agli antibiotici: gli isolati di *B. hyodysenteriae* sono stati testati mediante kit VetMIC™ Brachy SVA (ver. 2) nei confronti delle pleuromutiline.

Tipizzazione molecolare: per ciascun ceppo di *B. hyodysenteriae* isolato sono stati analizzati 7 degli 8 loci descritti in precedenza da Råsbäck *et al.* (2007), con il protocollo descritto da Bonilauri *et al.* (2012). A ciascun isolato è stato assegnato un ST in accordo col suo profilo allelico. Il numero di ST è stato assegnato confrontando i profili del database

mondiale dei profili MLST di *B. hyodysenteriae* (<http://pubmlst.org/analysis/>).

**Analisi statistica:** la prevalenza sierologica osservata nei vari siti campionati è stata espressa come media con i rispettivi limiti di confidenza al 95%, calcolati secondo Sheskin DJ (2004). Le differenze tra le prevalenze osservate nei vari allevamenti sono state testate tramite test  $\chi^2$  con livello di significatività  $p < 0.05$ .



**Figura 1.** Rappresentazione schematica dell'allevamento e del flusso di suini

**Figure 1.** Farm structure and pig flow

## RISULTATI

Lo studio ha avuto una durata di 18 mesi (da Aprile 2011 ad Ottobre 2012). In questo periodo sono stati prelevati complessivamente 13 campioni fecali da altrettanti casi clinici e sono stati eseguiti esami batteriologici su 2 animali venuti a morte con sintomatologia e lesioni riferibili a DS. Come mostrato dalla Tabella 1, sono stati prelevati campioni da tutti i siti con anamnesi positiva per la forma clinica di DS (B, C, E). I campioni del sito E si riferiscono al settore in cui sono allevati gli animali provenienti dai siti interni all'allevamento (B e C), mentre il gruppo di suini provenienti dall'allevamento esterno non ha manifestato sintomatologia riferibile a DS. Dai 13 campioni è stato possibile isolare 9 ceppi di *B. hyodysenteriae* e tutti gli isolati, tipizzati tramite MLST, sono risultati appartenenti allo stesso ceppo (ST 77). La maggioranza degli isolati (7/9) sono risultati resistenti alle pleuromutiline (MIC >4 µg/ml). Per quanto riguarda la sierologia sono stati prelevati in totale 223 campioni di sangue (tabella 2). E' stata rilevata sieropositività in tutti i siti campionati, inclusi il sito A e il sito D, che hanno storia negativa per DS. Non è stata rilevata sieroconversione nel gruppo di animali del sito E proveniente dall'allevamento esterno e confinato in un capannone separato dai soggetti di provenienza interna.

Ceppo	Data campionamento	Campione	Sito campione/ sito provenienza	Esito	Suscettibilità pleuromutiline	ST	adh	alp	est	gdh	glpk	pgm	thi
1	15/04/2011	Feci	E/B	+	R	77	10	11	17	22	22	11	13
2	15/04/2011	Carcassa	E/B	+	R	77	10	11	17	22	22	11	13
3	19/04/2011	Feci	C	+	R	77	10	11	17	22	22	11	13
4	19/04/2011	Carcassa	C	Nc									
5	28/04/2011	Feci	E/C	+	R	77	10	11	17	22	22	11	13
6	17/06/2011	Feci	E/B	+	R	77	10	11	17	22	22	11	13
7	08/07/2011	Feci	E/B	Ne									
8	28/12/2011	Feci	B	+	R	77	10	11	17	22	22	11	13
9	24/07/2012	Feci	E	+	S	77	10	11	17	22	22	11	13
10	25/07/2012	Feci	B	+	R	77	10	11	17	22	22	11	13
11	26/09/2012	Feci	B	Nc									
12	28/09/2012	Feci	E/C	+	S	77	10	11	17	22	22	11	13
13	05/10/2012	Feci	E/C	Nc									

**Tabella 1.** Risultati batteriologici, della MLST e della suscettibilità alle pleuromutiline dei ceppi di *B. hyodysenteriae*

Ne: tipizzazione non eseguita

Nc: coltura negativa

**Table 1.** Bacteriological, MLST and pleuromutilines susceptibility results of the *B. hyodysenteriae* strains

Ne: typing not executed

Nc: negative culture

Data prelievo	Sito	N° capi presenti	Note	Sistema produttivo	N° testati	N° positivi	Clinica DS	Prevalenza (IC 95%)
09/01/2013	A	230 scrofe		ca	43	10	-	22.5% (12.5%-36.3%)
04/02/2013	D	1200 maiali		in	40	5	-	12.5% (5.46%-26.1%)
04/02/2013	B	750 scrofe	riproduttori (casuale)	ca	40	8	+	20.0% (10.5%-34.8%)
03/04/2013	B	750 scrofe	solo scrofette	ca	41	9	+	21.9%(12.0%-36.7%)
30/04/2013 30/07/2013	E	5500 maiali	provenienza esterna indenne da DS	in	59 (40+19)	0	-	0%(0.0%-6.1%)

**Tabella 2.** Risultati sierologici

ca : ciclo aperto

in: ingrasso

**Table 2.** Serologic results

ca: farrow-to-wean system

in: wean-to-finish system

Nessuna differenza statistica è stata osservata tra gli allevamenti A, B e D in termini di prevalenza sierologica. Il gruppo di suini esaminato nel sito E presenta, in base al piano di campionamento sviluppato, una prevalenza cumulativa massima del 6.1%, significativamente inferiore rispetto agli altri siti dell'allevamento ( $p < 0.05$ ).

## DISCUSSIONE

Durante il periodo di studio, si sono verificati diversi episodi di malattia nei siti dell'allevamento, permettendo di raccogliere isolati di *B. hyodysenteriae* da tutte le unità dell'allevamento storicamente colpite da DS e consentire di studiarne la correlazione epidemiologica. I siti A e D hanno invece continuato ad essere liberi dalla forma clinica di DS, nonostante siano correlati funzionalmente al resto delle unità dell'azienda. Un aspetto clinico interessante è rappresentato dal fatto che nel sito E gli episodi di DS si manifestano sempre in maniera più frequente (7 episodi su 11 nel periodo di studio) rispetto agli altri siti. Sarebbe opportuna un'analisi più approfondita dei dati manageriali e strutturali per comprendere meglio questo aspetto. Il tipo di alimentazione è la variabile che contraddistingue maggiormente i siti con assenza di forma clinica di malattia; sono infatti gli unici in cui non viene somministrato il siero di latte.

Per quanto riguarda l'aspetto prettamente diagnostico, anche se il numero di campioni da carcassa è limitato e non permette di trarre delle conclusioni certe, il mancato isolamento di *B. hyodysenteriae* dai visceri di uno dei due animali deceduti con chiare lesioni da DS conferma che il campione più idoneo per la diagnosi di DS è rappresentato dalle feci muco-emorragiche di soggetti sintomatici. L'isolamento di *B. hyodysenteriae* da campioni autoptici può essere infatti reso difficoltoso dalla sensibilità del microrganismo ai fenomeni autolitici post-mortali. Anche l'analisi di campioni fecali o di tamponi rettali da animali asintomatici ha una bassa sensibilità, dovuta al fatto che tali soggetti sono eliminatori a basso titolo (Fellstrom *et al.*, 2001). I test diretti possono inoltre avere bassa sensibilità se applicati in gruppi di animali che sono sottoposti a trattamenti farmacologici. La sierologia, invece, dato che i suini infetti da *B. hyodysenteriae* manifestano una reazione anticorpale evidenziabile fino a 150 giorni p.i. (Fisher & Olander, 1981), potrebbe essere un utile strumento per la determinazione dello stato sanitario di gruppo in assenza di manifestazioni cliniche di dissenteria emorragica, come recentemente descritto in un recente lavoro di Song e colleghi (2012). L'ELISA è sicuramente una delle tecniche sierologiche più sperimentate per quanto riguarda la DS e diversi sono i componenti strutturali della cellula batterica che sono stati sperimentati per l'utilizzo come antigeni diagnostici (La *et al.*, 2009b). Il prototipo di kit ELISA utilizzato in questo studio utilizza un antigene di superficie recentemente prodotto ed è stato scelto perché i componenti strutturali di superficie, rispetto all'utilizzo di cellula intera, consentono di avere accettabili livelli di specificità (Song *et al.*, 2012). Il kit ha correttamente identificato lo stato sanitario dei suini del sito B, dove nel periodo di studio è stata più volte diagnosticata la DS con l'esame colturale. Il dato contrastante che si è cercato di indagare nell'allevamento era l'assenza di malattia nei siti A e D. Le positività sierologiche rilevate permettono di ipotizzare che anche in questi siti ci sia circolazione di *B. hyodysenteriae*. È probabile che nel sito A, che ha contatti funzionali con tutti gli altri siti dell'allevamento, si sia instaurata una immunità di gruppo che protegge dalle forme cliniche di malattia. Le scrofe possono comunque trasmettere l'agente eziologico ai suinetti e quindi diffonderlo negli altri settori con la movimentazione delle scroffette. Ipotesi supportata dall'osservazione che nel sito A la prevalenza media osservata non differisce significativamente dal sito B dove la malattia è manifesta. Nel sito D, ingrasso di 1200 capi di consistenza, la prevalenza riscontrata non è significativamente differente rispetto al sito B

o al sito A, per cui è possibile che, durante il periodo di studio, la malattia fosse presente in forma sub-clinica e per questo non rilevata.

Il risultato della tipizzazione molecolare rileva che un solo ceppo di *B. hyodysenteriae* è presente nei 3 siti dove si manifesta la forma clinica di DS. E' quindi ipotizzabile che ci sia una circolazione endemica dello stesso ceppo derivante da una fonte di infezione interna all'azienda. Questo risultato, supportato dai risultati sierologici che confermano tra l'altro lo stato di indennità dei suini provenienti dall'allevamento esterno, lascia ipotizzare che le scrofe del sito A siano con buona probabilità la fonte di diffusione di *B. hyodysenteriae*. Un altro risultato interessante è che due isolati di *B. hyodysenteriae* sono risultati sensibili *in vitro* alle pleuromutiline, pur possedendo lo stesso profilo allelico di altri isolati risultati resistenti. Questo fenomeno è spiegabile col fatto che la popolazione di ceppi circolanti in allevamento può sviluppare la resistenza al farmaco indipendentemente in un comparto rispetto agli altri ed i ceppi che hanno sviluppato resistenza possono prevalere o meno a seconda di differenti fattori aziendali, tra cui sicuramente la selezione esercitata dall'utilizzo del farmaco in quel particolare comparto dell'azienda. Il monitoraggio della suscettibilità agli antibiotici nel tempo è quindi un aspetto importante per il controllo della DS, permettendo di indirizzare le strategie terapeutiche.

## CONCLUSIONI

I dati di laboratorio raccolti in questo studio, uniti alle informazioni di tipo clinico e gestionale, hanno consentito di approfondire la situazione epidemiologica dell'allevamento nei confronti della dissenteria emorragica. In primo luogo si è potuto concludere che nell'azienda circola un ceppo clonale unico e quindi viene esclusa per il momento l'ipotesi che concorrano fonti di infezione esterne all'allevamento. In secondo luogo si è appurato che il sito che ospita le scrofe gran-parentali (sito A) e che costituisce l'apice della piramide produttiva dell'azienda non può essere considerato indenne, almeno sulla base dei dati sierologici, nonostante da molti anni non si presentino forme cliniche di malattia.

Qualora l'azienda decidesse quindi di intraprendere azioni volte alla eliminazione di *B. hyodysenteriae*, il sito delle scrofe gran-parentali sarebbe da considerare come punto di partenza della strategia di controllo. In questa ottica, la disponibilità di riproduttori indenni sarebbe la fase cruciale di un processo in cui la sierologia potrebbe rivelarsi un utile strumento, permettendo l'identificazione di fonti sicure per l'introduzione di nuovi suini in siti totalmente o parzialmente depopolati.

## BIBLIOGRAFIA

- Alvarez-Ordóñez A., Martínez-Lobo F.J., Arguello H., Carvajal A., Rubio P. (2013) Swine Dysentery: Aetiology, Pathogenicity, Determinants of Transmission and the Fight against the Disease. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2013, 10, 1927-1947
- Bonilauri P., Merialdi G., Calzolari M., Luppi A., Dottori M. Incremento del riscontro di ceppi multiresistenti di *Brachyspira hyodysenteriae* in allevamenti suini del nord Italia. 2004. Atti del XXX convegno della Società di Patologia ed Allevamento dei Suini. Salsomaggiore Terme (PR) 25-26 Marzo 2004, 181-186.
- Bonilauri P., Carra E., Biasi G., Bergamini F., Corpus F., Magistrali C., Luppi A., Gherpelli Y., Rugna G., Cucco L., Dottori M., Merialdi G. (2012) Genotipizzazione di ceppi di *Brachyspira hyodysenteriae* isolati in Italia attraverso il sequenziamento Multimer Locus Sequence Typing (MLST). Atti della Società Italiana di patologia e allevamento suino (SIPAS). XXXVIII Meeting Annuale, Parma, 205-215



- Fellstrom, C., Zimmerman, U., Ispan, A. and Gunnarsson, A. (2001) The use of culture, pooled samples and PCR for identification of herds infected with *Brachyspira hyodysenteriae*. *Anim Health Res Rev* 2, 37–43.
- Fernie D.S., Ripley P.H., Walker P.D. (1983) Swine dysentery: protection against experimental challenge following single dose parenteral immunisation with inactivated *Treponema hyodysenteriae*. *Res Vet Sci* 35:217-221.
- Fisher L.F., Olander H.J. (1981) Shedding of *Treponema hyodysenteriae*, transmission of disease, and agglutinin response to pigs convalescing from swine dysentery. *Am J Vet Res*, 42(3):450-465
- Hampson D.J. (2006). *Brachyspiral colitis*. In: Zimmerman J.J., Krieger L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W. (Eds.) *Diseases of Swine* 10<sup>th</sup> edition. Wiley-Blackwell, Oxford UK pp. 680-696
- Hidalgo A., Carvajal A., Vester B., Pringle M., Naharro G., Rubio P. (2011) Trends towards lower antimicrobial susceptibility and characterization of acquired resistance among clinical isolates of *Brachyspira hyodysenteriae* in Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 2011, 55:3330-3337
- Jacobson M., Fellström C., Lindberg R., Wallgren P., Jensen-Waern M. (2004) Experimental swine dysentery: comparison between infection models. *J Med Microbiol April 2004 vol. 53 no. 4 273-280*
- Karlsson M., Aspan A., Landen A., Franklin A. (2004) Further characterization of porcine *Brachyspira hyodysenteriae* isolates with decreased susceptibility to tiamulin. *J Med Microbiol* 2004, 53:281-285
- La T., Phillips N.D., Harland B.L., Wanchanthuek P., Bellgard M.I., Hampson D.J. (2009). Multilocus sequence typing as a tool for studying the molecular epidemiology and population structure of *Brachyspira hyodysenteriae*. *Vet Microbiol* 138: 330-338.
- La T, Phillips ND, Hampson DJ. 2009b. Evaluation of recombinant Bhlp29.7 as an ELISA antigen for detecting pig herds with swine dysentery. *Vet Microbiol* 133:98-104.
- La T., Phillips N.D., Hampson D.J. (2003) Development of duplex PCR assay for detection of *brachyspira hyodysenteriae* and *brachyspira pilosicoli* in pig feces. *J Clin Microbiol* 41: 3372-3375
- Magistrali C.F., Cucco L., D'Avino N., D'Angelo G., Gherpelli Y., Bonilauri P., Merialdi G. - Valutazione della sensibilità ad antimicrobici di *B.hyodysenteriae*: confronto tra due metodi. *Atti XXXVI Meeting Annuale Società Italiana di Patologia ed allevamento dei suini*, 25-26 Marzo 2010, Montichiari (BS), pp337-340
- Merialdi G., P Bonilauri, M Dottori. Presence of tiamulin and valnemulin resistant *B. hyodysenteriae* strains in Italian pig herds. *Proceedings of the 19th IPVS Congress, Copenhagen, Denmark, 2006-Volume 2: p 455*
- Mirko C.P., Bilkei G. (2006) Risk factors associated with *Brachyspira hyodysenteriae* PCR-positivity in East-European pig production units. *Tijdschr Diergeneeskd.* 2006 Jun 1;131(11):398-402.
- Song Y., Frey B., Hampson D.J.. (2012) The use of ELISAs for monitoring exposure of pig herds to *Brachyspira hyodysenteriae*. *BMC Vet Res*, 8: 6
- Sperling D., Smola J., Cizek A. (2011) Characterisation of multiresistant *Brachyspira hyodysenteriae* isolates from Czech pig farms. *Vet Rec* 2011, 168:215
- Sheskin DJ (2004) *Handbook of parametric and nonparametric statistical procedures*. 3rd ed. Boca Raton: Chapman & Hall /CRC.
- Taylor D.J., Alexander T.J.L. (1971) The production of dysentery in swine by feeding cultures containing a spirochaete. *Br Vet J* 127:58–61.