

INDAGINE SULLE ALTERAZIONI ANATOMO-PATOLOGICHE DELLE CAVITA' NASALI NEGLI ALLEVAMENTI SUINICOLI ITALIANI

SURVEY ON GROSS PATHOLOGY LESIONS OF THE NASAL CAVITY IN THE ITALIAN SWINE FARMS

POLLONI A.¹, CANDOTTI P.², OSTANELLO F.³, LEOTTI G.⁴

¹ *Libero professionista – Cremona*, ² *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna – Brescia*, ³ *Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie – Università di Bologna*, ⁴ *Boehringer Ingelheim Italia AH - Milano*

Parole chiave: Rinite atrofica; *Pasteurella multocida*; *Bordetella bronchiseptica*
Key Words: Atrophic rhinitis; *Pasteurella multocida*; *Bordetella bronchiseptica*

Riassunto: La rinite atrofica è una patologia multifattoriale diffusa nell'allevamento intensivo del suino. Scopo del lavoro è valutare, tramite un appropriato percorso diagnostico, la gravità delle lesioni dei turbinati e del setto nasale in modo da poterle classificare in: 1) anatomicamente normali; 2) di lieve entità; 3) di media entità o 4) di grave entità, secondo uno schema di score (punteggio) predefinito. Per ogni suino identificato in ciascuna delle 20 aziende prese in esame è stato effettuato e fotografato il taglio trasversale del naso in corrispondenza del primo o del secondo premolare superiore. La fotografia è stata scattata utilizzando uno smartphone, strumento comunemente utilizzato dal professionista e in grado di trasmettere l'immagine a distanza. L'osservazione delle fotografie scattate ha permesso l'attribuzione di un valore di score da parte di un unico esperto, in modo da ridurre al minimo la variabilità del giudizio. Inoltre, per ogni azienda e per ogni suino, sono stati raccolti dei dati e osservazioni sui singoli gruppi di animali secondo una scheda anamnestica fornita ai veterinari. Il 14,7% dei nasi valutati non presentava alterazioni (score 0), il 52,9% presentava alterazioni di lieve entità (score tra 1 e 7), il 23,5% presentava alterazioni di media entità (score tra 8 e 14) e l'8,8% alterazioni gravi (score >15). È stata osservata una differenza statisticamente significativa ($p < 0,05$) tra la media dei punteggi dei turbinati superiori ed inferiori con questi ultimi che presentano un più alto valore medio degli score.

Abstract: Atrophic rhinitis is a multifactorial disease widespread through pig farms. The aim of this field study is to assess the injuries of the meatus and the nasal septum according to a score pattern. For every pig identified in each of the 20 farms was performed a cross cut of the snout at the level of the first or the second upper premolar and photographs were taken. The photograph was taken using a smartphone, a tool commonly used by the professional and able to send image. The photographs were scored by a single expert in order to minimize variability. In addition, for each farm and for each pig data and observations were collected according to the data sheet provided to the veterinarians. The 14.7% of the snout were pointed as 0 because they does not show alterations, the 52.9% has light alterations therefore with a score included between 1 and 7, 23.5% alterations of average entity therefore included between 8 and 14 points and 8.8% serious changes between 15 and 22 points. The statistical analysis shows that there is a statistically significant difference ($p < 0.05$) between the mean of the upper and lower meatus scores with the latter having a greater degree of injury.

INTRODUZIONE

La rinite atrofica (RA) è una patologia ad eziologia multifattoriale endemica in molte aree con allevamento suino intensivo. I principali agenti patogeni responsabili della RA sono *Bordetella bronchiseptica* e *Pasteurella multocida*, che insieme ad altri fattori, prevalentemente di tipo ambientale, possono provocare l'instaurarsi della malattia con vari gradi di gravità.

B. bronchiseptica è un batterio gram negativo, aerobio, bastoncellare o coccoide dotato di flagelli peritrichi che venne riconosciuto come patogeno del tratto respiratorio dei mammiferi fin dal 1910 con il nome di *Bacillus bronchicanis* (5). In particolare, Switzer (13) dimostrò come da una coltura in purezza di *B. bronchiseptica* si potesse sperimentalmente indurre la rinite atrofica nel suino.

B. bronchiseptica si attacca all'epitelio respiratorio cigliato proliferando rapidamente e causando la paralisi delle ciglia attraverso la produzione di adenilato ciclasi che possiede anche attività anti fagocitaria. Il patogeno è in grado di produrre una tossina lipopolisaccaridica (dermonecrotic toxin - DTN) che impedisce la deposizione di Ca^{2+} nei turbinati (6), manifestazione più frequente e grave nei suinetti in accrescimento in cui l'attività osteoclastica è maggiore.

B. bronchiseptica si trasmette primariamente attraverso l'aerosol e il principale serbatoio di infezione è rappresentato dalle scrofe e scrofette in sala parto; la trasmissione tra suinetti dopo lo svezzamento è esacerbata dal rimescolamento delle nidiate (2).

La tossina prodotta provoca lesioni caratterizzate da necrosi, emorragie, accumulo di neutrofili e, alcune volte, fibrosi. L'accumulo di muco e l'esposizione della sottomucosa può favorire la colonizzazione da parte di altri batteri. In particolare, la predisposizione alla sovrainfezione da parte di *Pasteurella multocida*, sarebbe dovuta all'abilità di questo patogeno, ed in particolar modo di quelli appartenenti sierotipo D, di interagire con domini leganti eparina di *B. bronchiseptica* (9).

P. multocida è un bastoncello o cocco gram negativo, anaerobio facoltativo, immobile, isolato in tutto il mondo dal tratto respiratorio e dall'intestino di molti mammiferi compresi quelli acquatici. Può causare patologie sia acute che croniche in una notevole varietà di ospiti; nell'uomo è frequentemente associata ad infezioni da graffio e da morso.

Nei suini si isola prevalentemente dalle cavità nasali e dalle cripte tonsillari anche di soggetti clinicamente sani in tutto il mondo, con prevalenza dei sierotipi capsulari A preferenzialmente nel polmone e D, localizzato prevalentemente a livello nasale ed è agente eziologico della rinite atrofica progressiva (7,14). La trasmissione aerogena sembrerebbe essere poco probabile poiché negli allevamenti da ingrasso con patologia in atto si è stati in grado di isolare solo un basso numero di UFC da aria ambientale (1), mentre sembrerebbe essere decisivo, per il diffondersi della patologia, il contatto naso-naso.

In seguito alla colonizzazione epiteliale da parte di *B. bronchiseptica*, *P. multocida* elabora una tossina proteica che provoca progressivo accorciamento/deviazione del naso e atrofia irreversibile dei turbinati. I soggetti che si infettano nelle prime settimane di vita sono quelli che sviluppano la forma più grave della patologia, mentre se l'infezione avviene dopo la sedicesima settimana di vita le lesioni sono meno gravi (11).

Nel sistema di allevamento italiano la patologia è endemica nel 25-30% degli allevamenti, con presenza di forme sub-cliniche evidenziate da osservazioni fatte in sede di macellazione (10).

La rilevanza economica della patologia è notevole poiché l'incremento ponderale medio giornaliero può essere compromesso sia in ingrasso che in svezzamento, rispettivamente del 6% e del 13,3% con picchi oltre l'11% sull'intero ciclo produttivo se vi si associano problemi respiratori (4).

Scopo del lavoro è stato quello di valutare prevalenza e gravità delle lesioni ai turbinati e setti nasali di suini rinvenuti morti in azienda; la gravità è stata valutata attraverso l'attribuzione di uno score (punteggio) alle lesioni evidenziate a livello dei turbinati e del setto nasale dopo aver effettuato una sezione trasversale del naso.

Questo lavoro di campo non ha preso in considerazione la ricerca batteriologica degli agenti eziologici di RA, progressiva e non progressiva, in quanto gli obiettivi erano i seguenti: a) fornire una valutazione generale delle lesioni anatomo-patologiche di RA riscontrabili in allevamenti non sottoposti da tempo ad una profilassi vaccinale, oppure a piani di vaccinazione non completi; b) stimare l'attenzione dei veterinari italiani nei confronti di questa malattia percepita spesso ormai come quasi scomparsa nei moderni allevamenti; c) sperimentare l'utilizzazione della tecnologia per immagini, ormai a disposizione di tutti, nel migliorare la qualità dei percorsi diagnostici per RA.

MATERIALI E METODI

Aziende e animali

Per lo svolgimento del lavoro sono state selezionate 20 aziende suinicole italiane che non vaccinavano, o vaccinavano solo parzialmente, contro la RA da almeno un anno.

Per ogni azienda sono stati presi in considerazione almeno 3-5 soggetti, con peso tra i 20 e 180 Kg, rinvenuti morti dal personale aziendale. I suini sono stati conservati in cella frigorifera prima dell'esame autoptico oppure, compatibilmente con le tempistiche e la temperatura in ambiente esterno, fino all'arrivo del veterinario. Il veterinario ha compilato una scheda identificativa per ogni carcassa e ha proceduto con l'esame anatomo-patologico. Per ogni suino identificato è stato effettuato un taglio trasversale del naso, eseguito in corrispondenza del secondo premolare superiore, oppure del primo premolare superiore nel caso si trattasse di soggetti fino a 4-6 mesi d'età. In questa fase, il veterinario si è avvalso di un coltello, oppure una lama da bisturi, per praticare l'incisione cutanea che funge da guida per il seghetto da ferro utilizzato per sezionare le ossa nasali a tutto spessore. Ogni naso così sezionato è stato fotografato cercando di porre l'obiettivo fotografico frontalmente alla sezione di taglio.

L'esame anatomo-patologico poteva eventualmente proseguire con l'apertura del torace e l'esposizione dei polmoni in modo da poter valutare visivamente eventuali lesioni macroscopiche.

Attribuzione dello score alle sezioni ottenute

Le sezioni di naso ottenute sono state fotografate e, alle lesioni eventualmente presenti, è stato attribuito uno score secondo una scala con valori complessivi variabili da 0 a 22 e che, per ogni turbinato, prevedeva l'utilizzazione della seguente griglia di punteggio:

- 0: normale, il turbinato riempie il meato;
- 1: leggera deviazione dal normale; nessuna atrofia apparente, leggera deviazione dalla normalità anatomica;
- 2: leggera atrofia con spazio di 6 mm tra turbinato e meato, leggera modificazione degenerativa del turbinato;
- 3: modificazioni moderate con spazi fino a 7 mm e degenerazioni moderate dei turbinati;
- 4: modificazioni da moderate a gravi con spazi > 8 mm e alterazioni degenerative da moderate a gravi con turbinato friabile;
- 5: modificazioni gravi con perdita totale del turbinato.

Anche al setto nasale sono stati attribuiti dei punteggi secondo il seguente schema:

- 0: normale;
- 1: deviazione moderata;
- 2: deviazione grave.

Il valore complessivo dello score si ottiene quindi sommando i punteggi attribuiti a ciascuno dei 4 turbinati (valore massimo: 20) a quello attribuito alle lesioni a carico del setto nasale (valore massimo: 2).

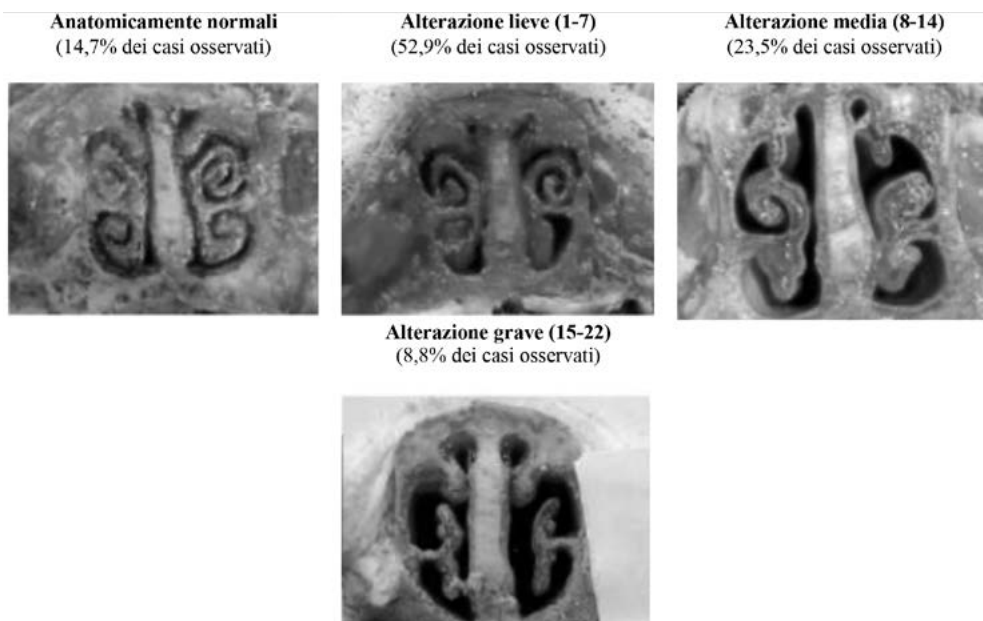
Successivamente si è deciso di suddividere per classi di gravità le lesioni valutate secondo il seguente schema:

- 0 nessuna lesione (anatomicamente normali);
- 1-7 alterazione lieve;
- 8-14 alterazione media;
- 15-22 alterazione grave.

La Figura 1 riporta alcuni esempi di attribuzione dello score delle lesioni.

Figura 1. Esempio di immagini a cui è stato attribuito uno score suddiviso per classi di lesioni

Figure 1. Example of images scored and divided into classes of lesions



Analisi statistica

Preliminarmente sono stati calcolati, per ciascuna azienda, gli indici descrittivi sintetici (valore minimo, valore massimo, media e mediana) dei punteggi attribuiti a ciascun turbinato ed al setto. Successivamente è stata calcolata la somma degli score attribuiti ai turbinati superiori ed inferiori e quella complessiva (comprendente gli score riferiti ai setti nasali).

Previa verifica della normalità della distribuzione campionaria, realizzata utilizzando il test di Kolmogorov-Smirnov, sono state verificate eventuali differenze tra: a) la somma dei punteggi dei turbinati superiori e di quelli inferiori nelle aziende esaminate; b) la prevalenza aziendale di animali con lesioni; c) la distribuzione delle classi di gravità delle lesioni.

I dati quantitativi sono stati analizzati utilizzando il test di Mann-Whitney mentre per i dati qualitativi è stato utilizzato il test chi-quadrato. Tutte le analisi sono state eseguite utilizzando il software SPSS ver. 23.

RISULTATI

Complessivamente sono state inviate, all'esperto responsabile dell'attribuzione dello score, 103 immagini di sezione di naso.

Per 35 immagini inviate non è stato possibile eseguire la valutazione della gravità delle lesioni e attribuire uno score, in conseguenza della scarsa qualità delle foto e/o di errori nella fase di esecuzione della sezione del naso. Lo score è stato quindi attribuito a 68 nasi (corrispondenti al 66% delle immagini ricevute dall'esperto): il 14,7% di queste 68 immagini è stato considerato anatomicamente normale, mentre il restante 85,2% presentava lesioni di RA.

La Figura 2 riporta la distribuzione di frequenza delle diverse classi di gravità delle lesioni dei 68 animali per i quali è stato possibile eseguire una valutazione qualitativa. Circa il 53% dei soggetti ha presentato alterazioni giudicate "lievi" (score 1-7). In 6 soggetti (8,8%) sono state evidenziate alterazioni gravi (score 15-22).

Figura 2. Distribuzione delle frequenze per classi di lesioni di RA (68 immagini esaminate)
Figure 2. Distribution of frequencies for classes of RA lesions of RA (68 images scored)

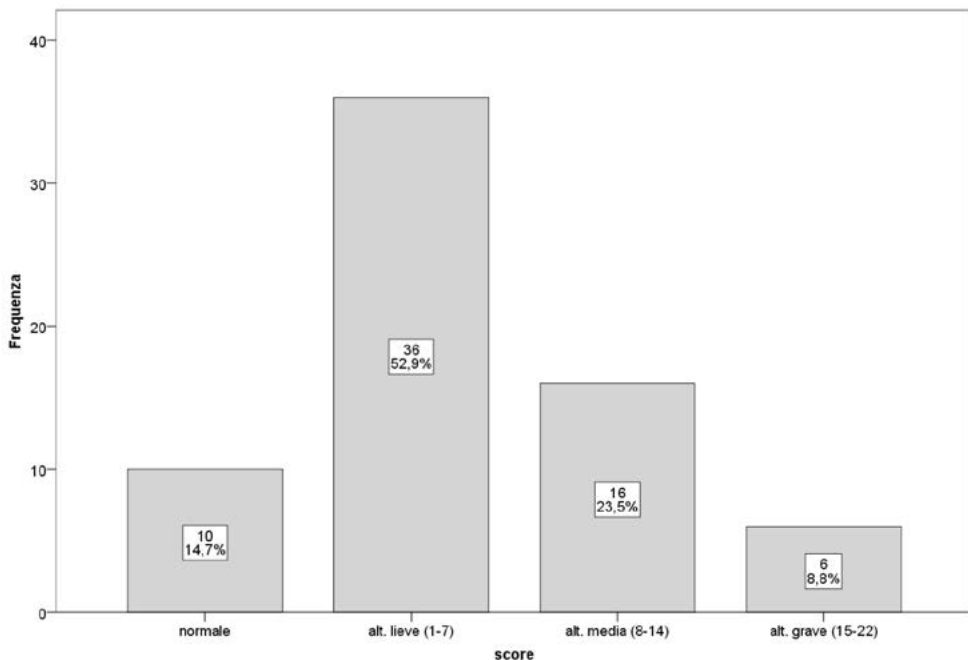
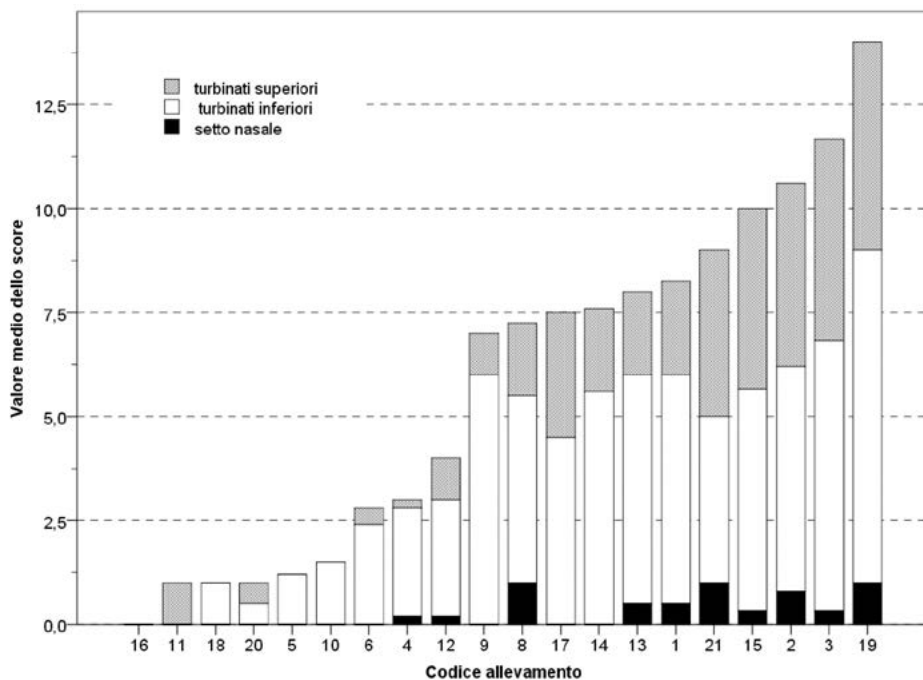


Figura 3. Media dei punteggi delle lesioni attribuiti ai turbinati superiori, inferiori e al setto nasale (intervallo di valori: 0-22), per ogni azienda, ordinate per valore crescente di score.
Figure 3. Average scores of lesions in upper and lower turbinates and nasal septum (range: 0-22), divided by farm in increasing order.



È stata messa in evidenza una differenza statisticamente significativa ($p < 0,05$) tra i punteggi dei turbinati superiori e inferiori; questi ultimi hanno presentato valori di score (e quindi gravità delle lesioni) mediamente più elevati rispetto ai turbinati superiori. Questa differenza può essere visivamente valutata anche nella Figura 3, che riporta la media dei valori di score attribuiti ai turbinati superiori, ai turbinati inferiori e al setto nasale degli animali esaminati provenienti da ciascuno dei 20 allevamenti considerati. E' evidente una notevole differenza dei valori medi dello score nelle 20 aziende esaminate, con valori che vanno da un minimo di 0 (azienda n. 16) ad un massimo di 14 (azienda n. 19).

E' stato inoltre evidenziata una differenza statisticamente significativa ($p < 0,05$) sia per quanto riguarda la prevalenza aziendale di animali con lesioni sia per quanto riguarda la distribuzione delle classi di gravità delle lesioni.

DISCUSSIONE

Complessivamente, i risultati ottenuti indicano una prevalenza di animali con lesioni riconducibili a RA pari a circa l'85% degli esaminati. Questa elevata prevalenza potrebbe essere giustificata dal fatto che le aziende da cui provenivano gli animali non applicavano piani di profilassi vaccinale nei confronti della RA, oppure vaccinavano solo certe categorie di animali e con un protocollo non ben definito.

Tuttavia, la maggioranza degli animali (52,9%) presentava alterazioni di lieve entità (score 1-7) e solo in 6 soggetti sono state riscontrate alterazioni gravi (score 15-22).

La differenza statisticamente significativa che è stata osservata sia per quanto riguarda la

prevalenza aziendale di animali con alterazioni riconducibili a RA, sia per quanto riguarda la distribuzione delle classi di gravità delle lesioni, è probabilmente da ricondurre a possibili differenze ambientali, alla diversa età degli animali esaminati e alla scarsa numerosità di animali esaminati per azienda.

La differenza statisticamente significativa che è stata riscontrata tra la somma del punteggio dei turbinati superiori e quella degli inferiori (che presentano score più elevati), potrebbe trovare giustificazione nel fatto che la distribuzione delle cellule caliciformi non è omogenea all'interno dei meati. Infatti, come dimostrato da Larochelle (8), vi è aumento di densità delle cellule caliciformi in senso rostrocaudale all'interno del naso con le densità maggiori a livello di meato ventrale e setto. Queste cellule producono sialomucine e sulfomucine con una predominanza delle sialomucine tra il primo e il quattordicesimo giorno di vita del suinetto. L'affinità dei patogeni è maggiore nei confronti dei glicconiugati sialici e quindi si spiegherebbe la maggior suscettibilità alle infezioni nei suinetti nelle primissime fasi della vita, in particolare a livello di turbinato ventrale. I batteri patogeni sono in grado di utilizzare l'acido sialico in almeno due modi differenti: possono ricoprirsi di acido sialico per resistere ai componenti della risposta immunitaria dell'ospite, oppure possono usarlo come sostanza nutritiva. L'acido sialico è o sintetizzato *ex novo* da questi batteri o ricavato direttamente dall'ospite. In particolare *Pasteurella multocida* è in grado di incorporare nella membrana l'acido sialico prodotto dall'ospite per eludere le difese immunitarie (12).

Anche in condizioni di campo, il sospetto clinico della presenza in allevamento di problemi sanitari legati alla RA, può essere facilmente confermato mediante tecniche estremamente semplici quali il taglio del naso. Questa pratica consente di evidenziare con certezza la presenza di lesioni anatomiche proprie della RA, consentendo una valutazione più accurata della reale prevalenza aziendale. E' noto infatti che sintomi clinici e/o alterazioni anatomiche riconducibili a RA sono evidenziabili, in vivo, solo in un numero esiguo di soggetti che rappresentano la "punta dell'iceberg".

Questo protocollo diagnostico per RA prevede l'utilizzo di strumenti a bassissimo costo e reperibili anche all'interno dell'allevamento stesso: sono sufficienti un coltello e un seghetto che monti una lama adatta al ferro e una fotocamera che, con la ampia diffusione attuale degli smartphone, è costantemente disponibile e permette di scattare fotografie di ottima qualità, che possono essere osservate anche successivamente, archiviate o inviate a personale esperto. L'utilizzo dello smartphone può facilitare il lavoro del veterinario aziendale riducendo le tempistiche di invio ad esperti dei dati raccolti ed il conseguente confronto delle proprie osservazioni con sistemi standardizzati di valutazione della gravità delle lesioni.

CONCLUSIONI

I risultati della presente indagine di campo consentono di avanzare alcune considerazioni: a) è verosimile ritenere che la RA sia un problema che interessa una percentuale consistente di aziende italiane e che la prevalenza di animali con lesioni anatomiche possa essere relativamente elevata; b) strumenti di valutazione come quelli proposti sono di costo contenuto, facilmente realizzabili dal veterinario aziendale a condizione che il taglio del naso e la fotografia delle lesioni vengano effettuati in maniera corretta.

I dati di prevalenza/gravità delle lesioni potrebbero inoltre essere utilizzati per l'individuazione dei fattori di rischio aziendali, analogamente a quanto è stato già effettuato in passato per altre patologie quali, ad esempio, la polmonite enzootica.

L'accertamento sistematico della prevalenza di animali con lesioni riconducibili a RA e la quantificazione, attraverso mezzi molto semplici quali lo score, della gravità delle lesioni è un presupposto importante per la valutazione della prevalenza e della gravità del problema, per la corretta implementazione di misure di profilassi e per la valutazione dell'efficacia

della vaccinazione. I danni ai turbinati predispongono all'instaurarsi di patologie delle vie respiratorie profonde che, nei casi più gravi, possono portare ad un riduzione dell'indice di incremento ponderale fino al 22% (3) e favorire anche un incremento dell'uso di antibiotici per la terapia di tale problematica, tale da indurre le autorità sanitarie a consigliare la vaccinazione contro la RA una volta emessa la diagnosi (15).

Ringraziamenti

Si ringraziano i 17 colleghi che hanno attivamente aderito a questa indagine di campo.

BIBLIOGRAFIA

1. Baekbo, P., & Nielsen, J. P. (1988) Airborne *Pasteurella multocida* in pig fattening units. *Proceedings of the 10th International Pig Veterinary Society, Rio de Janeiro, Brazil*, 51.
2. Brockmeier S. L., Register K.B., Nicholson T.L., Loving C.L. (2012) Bordetellosis in Zimmermann, J. J., Karriker L. A., Ramirez A., Schwartz K. J., Stevenson G. W. (2012) *Diseases of swine 10 TH Edition*. Wiley Blackwell 670-679.
3. De Jong M.F. (1985) "AR in pigs", Tesi, Università di Utrecht.
4. Donko, T., Kovács, M., & Magyar, T. (2005) Association of growth performance with atrophic rhinitis and pneumonia detected at slaughter in a conventional pig herd in Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica*, 53(3), 287-298.
5. Ferry, N. S. (1910) A preliminary report of the bacterial findings in canine distemper. *Am. Vet. Rev.* 37:499-504.
6. Harris, D. L., & Switzer, W. P. (1968) Turbinate atrophy in young pigs exposed to *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida*, and combined inoculum. *American journal of veterinary research*, 29(4), 777.
7. Hoie, S., Falk, K., & Lium, B. M. (1991) An abattoir survey of pneumonia and pleuritis in slaughter weight swine from 9 selected herds. IV. Bacteriological findings in chronic pneumonic lesions. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 32(3), 395-402.
8. Laroche, R., & Martineau Doizé, B. (1991) Distribution and histochemical characterization of goblet cells in the nasal cavity of piglets. *Developmental Dynamics*, 191(1), 103-111.
9. Menozzi, F. D., Mutombo, R., Renauld, G., Gantiez, C., Hannah, J. H., Leininger, E., Brennan, M.J., Loch, C. (1994) Heparin-inhibitable lectin activity of the filamentous hemagglutinin adhesin of *Bordetella pertussis*. *Infection and immunity*, 62(3), 769-778.
10. Pozzi P.; J.C.Baars (1993) Rinite Atrofica: reperti di macellazione, *Summa Veterinaria* 1;19.
11. Rutter, J. M., & Luther, P. D. (1984) Cell culture assay for toxigenic *Pasteurella multocida* from atrophic rhinitis of pigs. *The Veterinary record*, 114(16), 393-396.
12. Severi, E., Hood, D. W., & Thomas, G. H. (2007) Sialic acid utilization by bacterial pathogens. *Microbiology*, 153(9), 2817-2822.
13. Switzer, W. P. (1956) Studies on infectious atrophic rhinitis V. Concept that several agents may cause turbinate atrophy. *American Journal of Veterinary Research*, 17:478-484.
14. Varga, Z., Sellyei, B., & Magyar, T. (2007) Phenotypic and genotypic characterisation of *Pasteurella multocida* strains isolated from pigs in Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica*, 55(4), 425-434.
15. Ministero della sanità- Manuale di biosicurezza e uso corretto e razionale degli antibiotici in zootecnia (2012), 33.