

PLEUROPOLMONITE FIBRINO-NECROTICO-EMORRAGICA IN SUINETTI SOTTOSCROFA

PANGALLO G¹., AMORICO A.²., DE LORENZI G¹., GHERPELLI Y¹., BONILAURI P¹.,
DOTTORI M.¹, L. GIBELLI¹ LUPPI A.¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna (IZSLER)
² Gruppo Martini s.p.a

INTRODUZIONE

Scopo del presente lavoro è la descrizione di un caso di pleuropolmonite fibrino-necrotico emorragica da *Actinobacillus pleuropneumoniae* in suinetti sottoscrofa appartenenti ad un allevamento da riproduzione. L'esame anatomo-patologico eseguito su 2 suinetti deceduti improvvisamente senza segni clinici apparenti, ha permesso di evidenziare le lesioni tipiche a carico del parenchima polmonare, nel dettaglio si osservava un quadro di pleuropolmonite fibrino-necrotico-emorragica monolaterale. La diagnosi è stata confermata dall'esame batteriologico che ha permesso l'isolamento dai polmoni di un ceppo di *Actinobacillus pleuropneumoniae* biotipo 1 sierotipo 9 da tutti i suinetti conferiti.

Actinobacillus pleuropneumoniae (APP) è un batterio cocco bacillare, Gram negativo e anaerobio facoltativo. Gli isolati di APP sono suddivisi in biotipo 1 e biotipo 2, in base alla loro dipendenza dal nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) per la crescita (rispettivamente NAD-dipendente e NAD- non dipendente) e in 15 sierotipi diversi (1-12,15 per APP biotipo 1; 13, 14 per APP biotipo 2). La specificità sierologica è conferita da polisaccaridi capsulari (CPS) e da lipopolisaccaridi di membrana (LPS) (Blackall et al., 2002; Kamp et al., 1987; Nielsen 1985a, b, 1986b; Nielsen et al., 1997; Nielsen and O'Connor, 1984; Rosendal and Boyd, 1982). I ceppi di APP sono produttori di 4 tossine differenti chiamate "APX". APX I è fortemente emolitica e citotossica, APX II è debolmente emolitica e citotossica e APX III non è emolitica ma fortemente citotossica. Per quel che riguarda APX IV non è ancora chiaro il ruolo nella patogenesi della malattia, tuttavia sembrerebbe necessaria a completare l'espressione della virulenza del patogeno (Frey et al. 1994; Jansen et al., 1995). La trasmissione di APP può avvenire sia per contatto diretto sia tramite aerosol per brevi distanze. Negli allevamenti dove APP è endemico la trasmissione avviene generalmente tra scrofe infette e suinetti. Tale quadro è influenzato sia dalla quantità di batteri eliminati dalla scrofa che dal livello di immunità passiva nei suinetti (durata da 2 settimane a 2 mesi) acquisito tramite colostro. Determinanti per la perpetuazione e l'introduzione della patologia, infine, risultano essere i portatori sub-clinici. Nel suino, APP è causa di pleuropolmonite fibrino-necrotico-emorragica, anche se la gravità della malattia è determinata sia da fattori legati all'ospite e all'ambiente, sia dalla virulenza del ceppo coinvolto. Si possono osservare forme acute, sub-acute o croniche della malattia caratterizzate da morbilità e mortalità differenti. E' importante sottolineare come l'infezione da APP possa essere caratterizzata da forme sub-cliniche della malattia che si caratterizzano da bassa o assente mortalità, con frequente localizzazione tonsillare del patogeno o da forme clinicamente lievi con lesioni polmonari che frequentemente cronicizzano. In quest'ultimo caso si osservano, con elevata prevalenza in animali regolarmente macellati, pleuriti fibrose o croniche a localizzazione prevalentemente dorso-caudale.

DESCRIZIONE DEL CASO

Il caso clinico oggetto di questo lavoro si è verificato in una azienda da riproduzione a ciclo aperto (sito 1) di 987 scrofe a banda settimanale e a flusso continuo, positivo instabile per PRRS. Il piano vaccinale è riportato in Tabella 1.

SCROFE	
<i>AUJESZKY</i>	Ogni 4 mesi (3 interventi all'anno)
<i>Swine Influenza Virus (SIV)</i>	2 volte all'anno
<i>PRRS</i>	Ogni 3 mesi (4 interventi all'anno)
SUINETTI	
<i>PRRS</i>	A 18 giorni di vita
<i>PCV2 + M. HYOPNEUMONIAE</i>	A 24 giorni di vita

Tabella 1. Piano vaccinale di scrofe e suinetti.

Table 1. Vaccinations performed in sows and piglets.

I trattamenti farmacologici di routine, invece, sono riportati di seguito in Tabella 2.

TRATTAMENTI FARMACOLOGICI SUINETTI	
AMOXICILLINA	Alla castrazione (3gg di vita) e in concomitanza della vaccinazione <i>PRRS</i>

Tabella 2. Trattamenti antibiotici di routine nei suinetti.

Table 2. Routine antibiotic treatments in piglets.

A Maggio 2017 sono stati conferiti presso la Sezione di Reggio Emilia (IZSLER) 2 suinetti di circa 14 giorni di vita morti improvvisamente senza evidenti segni clinici. I soggetti facevano parte di una nidiata di 14 soggetti appartenenti ad una scrofa primipara. Nella stessa sala parto, in cui erano presenti i suinetti sopraccitati, sono stati interessati dalla problematica sanitaria gli animali, tutti figli di scrofette, appartenenti a 6 nidiatae su 8. La morbilità registrata nel corso del focolaio è stata del 76.2%, mentre la mortalità ha raggiunto il 45.8%. L'esame necroscopico è stato eseguito seguendo procedure standardizzate. All'esame anatomico-patologico in un soggetto si poteva apprezzare un quadro di pleuropolmonite fibrino-necrotico-emorragica monolaterale diffusa e la presenza di rari filamenti di fibrina in addome, nell'altro, invece, era evidente una pleuropolmonite fibrino-necrotico-emorragica monolaterale diffusa accompagnata da pericardite e lieve peritonite fibrinosa. In entrambi i soggetti la superficie di taglio appariva emorragica con delle aree necrotiche di consistenza friabile. Tra le possibili diagnosi differenziali sono state considerate le lesioni causate da *Actinobacillus suis* e *Pasteurella multocida* "ceppi pleuritici". In sede autoptica sono stati prelevati campioni di polmone, rene e milza successivamente sottoposti ad esame batteriologico impiegando metodi standardizzati (semina su Ektoen agar, agar siero, agar globuli e agar sangue addizionato con NAD), e fissati in formalina tamponata al 10% per l'esame istopatologico. Le piastre seminate con materiale patologico da rene e milza sono state incubate a 37° C per 48 ore. Le piastre di agar sangue addizionato con NAD seminate con materiale proveniente dal polmone, invece, sono state incubate a 37° C per 48 ore in CO₂ al 5-10%.

Dopo 24 ore d'incubazione si osservava la crescita di piccole colonie β-emolitiche su agar sangue addizionato con NAD su cui era stata eseguita la semina di materiale patologico proveniente dai polmoni e dai bronchi di entrambi i soggetti. La diagnosi batteriologica, basata sulla valutazione morfologica delle colonie è stata confermata dai test biochimici di

Catalasi, Ossidasi e Ureasi che hanno dato esito positivo.

Successivamente si è proceduto alla sierotipizzazione dei ceppi isolati attraverso il test di sieroaagglutinazione rapida, impiegando una batteria di sieri policlonali. I test sopraccitati hanno permesso l'identificazione degli isolati di *Actinobacillus pleuropneumoniae* come appartenenti al biotipo 1 sierotipo 9.

L'esame microscopico ha messo in evidenza la presenza di pleuropolmonite fibrinosa con aggregati batterici negli alveoli e deplezione dei follicoli linfatici a livello splenico in entrambi i soggetti conferiti. Non erano presenti, infine, reperti microscopici di rilievo negli altri organi.

La suscettibilità del patogeno nei confronti di un pannello di molecole antibiotiche (Acido Nalidixico, 30µg; Gentamicina, 10 µg; Amoxicillina + Acido Clavulanico 20/10µg; Kanamicina 30 µg; Ampicillina, 10µg; Spectinomomicina, 100 µg; Cefalotina, 30µg; Trimethoprim + Sulfonamidi, 1.25/23.75 µg; Ceftiofur, 30µg; Enrofloxacin, 5 µg; Florfenicolo, 30µg; Tetraciclina, 30 µg; Tiamulina, 30 µg; Tilmicosina, 15 µg) è stata testata mediante il metodo della disco diffusione (Test di Kirby – Bauer). I risultati del test di sensibilità, in accordo con i parametri interpretativi indicati nel documento CLSI M31-A3 (2008), ha evidenziato la sensibilità del ceppo di APP isolato a tutti gli antibiotici testati.

Nell'attesa degli esiti di laboratorio i suinetti sono stati trattati prima con amoxicillina e successivamente con florfenicolo (entrambi con dosaggio di 15mg/kg) con una riduzione, fino alla scomparsa, delle forme cliniche (in accordo con i risultati di sensibilità dell'antibiogramma). I suinetti sopravvissuti sono stati svezzati precocemente a 21 giorni essendo in atto il passaggio dalla banda settimanale a trisettimanale. Non sono state implementate misure di biosicurezza e di management nella gestione del caso. Non ci sono stati altri focolai successivi alla comparsa della problematica.

DISCUSSIONE

Il caso clinico presentato riguarda un focolaio di pleuropolmonite da *Actinobacillus pleuropneumoniae* biotipo 1 sierotipo 9 in suinetti sottoscrofa. Com'è noto, la pleuropolmonite è una patologia tipicamente descritta e diagnosticata in suini nella fase di accrescimento ed ingrasso. La precocità d'insorgenza del caso descritto potrebbe essere legata alla circolazione del virus della PRRSV nei suinetti sottoscrofa ed alla sua azione predisponente, anche di tipo immunodepressivo, ad infezioni batteriche. La deplezione linfocitaria a livello splenico, come evidenziato dall'esame istologico, parrebbe confermare questa ipotesi. Infatti, come riportato in letteratura scientifica, i macrofagi PRRSV-positivi modulano l'apoptosi dei linfociti T e B nei diversi organi linfatici, causando una deplezione linfoide sistemica (Gómez-Laguna et al., 2013). Un'altra condizione predisponente potrebbe essere la ridotta protezione conferita dal colostro dovuta all'ordine di parto delle scrofette (tutte primipare) (Carney-Hinkle et al., 2013) che non ha permesso un'adeguata ed efficace immunità passiva ai suinetti nei confronti di APP. Da considerare, inoltre, la patogenicità del ceppo isolato che, come riportato in letteratura, è generalmente associato alla tossina APX I, la quale risulta essere fortemente emolitica e citotossica (Jansen et al, 1995; Frey et al., 1994). Infine, per quanto concerne la mortalità riscontrata al momento del tatuaggio, sembra plausibile la riacutizzazione sintomatologica con conseguente aggravamento del quadro patologico preesistente dovuta alla situazione stressante che questa pratica induce nei suinetti. Un caso sovrapponibile a quello descritto è stato già osservato in Italia come riportato da Ustulin et al. (2017). Altri Autori riportano casi clinici simili ma generalmente in soggetti di età maggiore. In uno studio condotto da Chiers et al. nel 2002, ad esempio, è stata evidenziata la presenza di infezione in

soggetti a partire dalla quarta settimana di vita, mentre Vigre et al. (2002) hanno dimostrato la presenza di APP nelle tonsille di un suinetto di 11 giorni di vita con un aumento significativo degli animali positivi passando dalle 4 alle 12 settimane di vita.

La pleuropolmonite da APP è una patologia globale che può portare a notevoli perdite economiche in ambito zootecnico. La prevenzione della malattia riconosce sicuramente l'applicazione di misure di biosicurezza in grado di evitare l'introduzione del batterio in allevamento. E' auspicabile, soprattutto in allevamenti *naïve*, sottoporre gli animali da rimonta provenienti da altre aziende ad un periodo di quarantena e a controlli sierologici prima dell'arrivo. Durante un focolaio, un trattamento antibiotico mirato e adeguatamente supportato da esami di laboratorio (antibiogramma o MIC) unitamente ad una corretta gestione aziendale (adeguati livelli di benessere, tutto pieno-tutto vuoto, condizioni ambientali idonee) possono ridurre significativamente la mortalità. La vaccinazione, inoltre, costituisce un importante mezzo di prevenzione e controllo della malattia e viene generalmente praticata con l'impiego di vaccini commerciali appartenenti a diverse categorie (a corpo batterico, a sub-unità, combinati) in grado di conferire elevati livelli di protezione riducendo la mortalità, il numero dei trattamenti terapeutici e migliorando i parametri produttivi. Pur non essendo di uso comune, la vaccinazione delle scrofe e degli animali da rimonta prima della loro introduzione in azienda risulta essere una strategia di prevenzione efficace (Kristensen et al., 2004), mentre non è consigliabile vaccinare individualmente i suinetti sottoscrofa poiché l'efficacia del vaccino potrebbe essere influenzata dall'immunità colostrale.



BIBLIOGRAFIA

- Carney-Hinkle E. E. , H. Tran, J. W. Bundy, R. Moreno, P. S. Miller and T. E. Burkey. Effect of dam parity on litter performance, transfer of passive immunity, and progeny microbial ecology. *Journal of Animal Science - Animal Production*. Vol. 91 No. 6, p. 2885-2893
- Chiers K1, Donné E, Van Overbeke I, Ducatelle R, Haesebrouck F. *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections in closed swine herds: infection patterns and serological profile. *Vet Microbiol*. 2002 Apr 2;85(4):343-52.

- CLSI M31-A3: Performance standards for Antimicrobial Disk and Dilution Suceptibility Tests for Bacteria isolated From Animals; Approved Standards – Third Edition, vol. 28 n. 8, 2008.
- Gómez-Laguna JI, Salguero FJ, Fernández de Marco M, Barranco I, Rodríguez-Gómez IM, Quezada M, Carrasco L. Type 2 Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus infection mediated apoptosis in B- and T-cell areas in lymphoid organs of experimentally infected pigs. *Transbound Emerg Dis.* 2013 Jun;60(3):273-8. doi: 10.1111/j.1865-1682.2012.01338.x. Epub 2012 May 20.
- Martina Ustulin, Mirco Giorgiutti, Gabriella Conedera and Denis Vio. A case of mortality in suckling piglets due to pneumonia caused by *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Veterinary Record Case Reports* 5: e000443. doi: 10.1136/vetreccr-2017-000443
- Vigre H, Angen Ø, Barfod K, Lavritsen DT, Sørensen V. Transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pigs under field-like conditions: emphasis on tonsillar colonisation and passively acquired colostral antibodies. *Vet Microbiol.* 2002 Oct 22;89(2-3):151-9.