

SIPAS NEWSletter

Ottobre 2014

ANNO VII n. 9

Transbound Emerg Dis. 2014 Sep 11.

Un focolaio di virus della sindrome riproduttiva e respiratoria del suino (PRRSV) in Svizzera in seguito all'importazione di seme di verro.

Nathues C, Perler L, Bruhn S, Suter D, Eichhorn L, Hofmann M, Nathues H, Baechlein C, Ritzmann M, Palzer A, Grossmann K, Schüpbach-Regula G, Thür B.

Veterinary Public Health Institute, University of Berne, Liebefeld, Switzerland.

Un focolaio di virus della sindrome riproduttiva e respiratoria del suino (PRRSV) si è verificato nel novembre del 2012 in Svizzera, tradizionalmente free da PRRSV. Il focolaio è stato rilevato dopo che un centro verri tedesco ha informato un importatore di seme circa il rilevamento di PRRSV durante il monitoraggio di routine. La tracciabilità sulle consegne del seme ha evidenziato 26 allevamenti di scrofe in Svizzera che avevano utilizzato il seme da questo centro verri, dopo il suo ultimo monitoraggio di routine, e 62 ulteriori allevamenti a contatto. Tutti gli allevamenti sono stati sottoposti a restrizioni delle movimentazioni ed esaminati sierologicamente e virologicamente. Inizialmente, 59 scrofe da 5 allevamenti, che erano state precedentemente inseminate con il seme sospetto, sono state macellate e immediatamente testate. Gli esami nell'allevamento di origine del seme hanno individuato otto verri positivi con recenti prelievi e consegne di seme verso la Svizzera (sette con anticorpi e virus, uno con anticorpi). In un verro dei sei testati, il virus è stato rilevato nel seme. Delle 59 scrofe macellate, cinque da tre allevamenti sono risultate positive per il virus. In un allevamento il virus si è diffuso e tutti i suini sono stati macellati o sottoposti ad eutanasia. Nei restanti allevamenti non sono state riscontrate ulteriori infezioni. Dopo che i test di conferma in tutti gli allevamenti 3 settimane dopo il primo test hanno dato esito negativo, le restrizioni sono state sospese nel gennaio 2013 e la Svizzera ha riacquisito lo stato free da PRRSV. Il caso descritto dimostra che l'importazione di seme da paesi non free per PRRSV, nonostante i fornitori siano negativi pone dei rischi, dato che i protocolli di monitoraggio nei riproduttori sono spesso insufficienti per rilevare in tempo un'infezione e che l'infezione nelle scrofe/allevamenti può avvenire anche con un basso numero di dosi di seme infetto. Il focolaio è stato eradicato con successo soprattutto grazie all'elevata

attenzione nei confronti della malattia da parte dell'importatore e alle azioni immediate intraprese prima che venisse fatta una diagnosi clinica o di laboratorio di un singolo caso nel Paese. Per minimizzare il rischio di importazione di PRRSV nel futuro, dovrebbero essere implementate rigorose linee guida per l'importazione di seme di verro.

Vet Microbiol. 2014 Aug 20.

Risposte anticorpali in suini in seguito all'infezione con *Mycoplasma hyopneumoniae*, *M. hyorhinis*, *M. hyosynoviae* e *M. flocculare*.

Neto JC, Strait EL, Raymond M, Ramirez A, Minion FC.

Veterinary Diagnostic and Production Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Iowa State University, Ames, IA 50011, United States.

Varie specie di micoplasma sono state descritte come agenti patogeni per il suino. I più comunemente descritti sono *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Mycoplasma hyorhinis*, *Mycoplasma hyosynoviae*, e *Mycoplasma flocculare*. I micoplasmi sono microrganismi ubiquitari in molte aree a produzione suinicola nel mondo, ma ad eccezione di *M. hyopneumoniae*, le tecniche commerciali per il rilevamento di anticorpi specifici sono scarse. La risposta cross-reattiva tra queste quattro specie di micoplasma non è ben caratterizzata. Recentemente è aumentato l'interesse per l'utilizzo di campioni di saliva raccolti a livello di box nella diagnosi delle malattie infettive. Questo studio ha avuto come scopo quello di misurare le risposte anticorpali e il livello di cross-reattività nel siero e nella saliva prelevata a livello di box, dopo challenge con quattro specie di micoplasma. Quattro gruppi di magroni negativi per micoplasma sono stati infettati con le diverse specie. I pool di salive e i campioni di siero sono stati prelevati settimanalmente fino alla necropsia. Kit Tween 20 ELISA specie-specifici sono stati utilizzati per misurare le risposte anticorpali, contemporaneamente ad altri quattro kit ELISA commerciali per *M. hyopneumoniae*. Gli animali di tutti i gruppi hanno sierconvertito al challenge con le diverse specie e non è stata rilevata alcuna cross-contaminazione. Una risposta anticorpale ritardata è stata rilevata in tutti i suini, a parte quelli infettati con *M. hyorhinis*. Risposte IgG cross-reattive sono state rilevate negli animali infetti con *M. hyopneumoniae* e *M.*

flocculare utilizzando il test ELISA Tween 20 per *M. hyorhinis*, mentre i sieri da animali infetti con *M. hyosynoviae* e *M. flocculare* sono risultati positivi in un kit commerciale. Nei pool salivari le risposte specifiche per *M. hyopneumoniae* anti-IgA sono state rilevate più precocemente dopo l'infezione, rispetto alle IgG nel siero.

Vet Microbiol. 2014 Sep 22.

Patogenesi del ceppo (US/Iowa/18984/2013) del virus della diarrea epidemica del suino in suini svezzati di 3 settimane.

Madson DM, Magstadt DR, Arruda PH, Hoang H, Sun D, Bower LP, Bhandari M, Burrough ER, Gauger PC, Pillatzki AE, Stevenson GW, Wilberts BL, Brodie J, Harmon KM, Wang C, Main RG, Zhang J, Yoon KJ.

Department of Veterinary Diagnostic and Production Animal Medicine, Iowa State University, Ames, IA, United States.

Il virus della diarrea epidemica del suino (PEDV) è associato a diarrea clinica in suini *naïve* di tutte le età. Questo report descrive la tempistica della produzione anticorpale e della progressione della malattia in seguito all'infezione con un isolato americano di PEDV, valutando l'escrezione fecale di virus, l'analisi morfometrica delle lesioni intestinali e l'intensità della colorazione immunostochimica. Sessantatre suinetti di 3 settimane sono stati distribuiti casualmente in due gruppi, uno di controllo (n=27) e uno di challenge (n=36). I suini del secondo gruppo sono stati infettati con 1mL di 1×10^3 PFU/ml dell'isolato PEDV US/Iowa/18984/2013 PEDV. Tre suini del gruppo controllo e quattro del gruppo challenge sono stati sottoposti a necropsopia ai giorni 1,2,3,4,7 post-infezione (dpi) e poi settimanalmente, fino alla fine dello studio, il giorno 35. Durante l'intera durata dello studio sono stati monitorati la comparsa di malattia clinica, l'escrezione fecale, il peso e la temperatura. La diarrea è stata osservata nei suini sottoposti a challenge iniziando per alcuni il giorno 2 dpi, colpendo la maggior parte dal giorno 6 dpi e diminuendo dal 10 dpi. L'incremento ponderale giornaliero è risultato significativamente più basso ($p < 0.001$) per una settimana post-infezione nei suini sottoposti a challenge. PEDV è stato rilevato nelle feci mediante PCR il giorno 1 dpi e, in un sottogruppo di suini, fino al giorno 24 dpi. L'antigene PEDV-specifico è stato rilevato negli enterociti dei villi dei suini del gruppo challenge mediante immunostochimica (IHC) i giorni 1, 2, 3, 4, 7, e 14 dpi. Le lesioni microscopiche comprendevano enterite atrofica diffusa grave con una significativa riduzione della lunghezza dei villi ($p < 0.001$) e sono state osservate a 3, 4, e 7 dpi. Da risultati ottenuti nelle condizioni di questo studio, è emerso che l'escrezione fecale di PEDV, e la positività immunostochimica,

possono precedere continuare oltre l'osservazione di sintomi clinici, e quindi, aumentare il rischio di trasmissione virale.

BMC Vet Res. 2014 Sep 20;10(1):219.

Risposte innata e adattativa di suini *snatch-farrowed porcine-colostrum-deprived* alla vaccinazione per *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Huang Y, Ladinig A, Ashley C, Haines DM, Harding J.

Department of Large Animal Clinical Sciences, Western College of Veterinary Medicine, University of Saskatchewan, 52 Campus Drive, Saskatoon, Saskatchewan S7N 5B4 (Huang and Harding)

Il modello suino *snatch-farrowed porcine-colostrum-deprived* (SF-pCD), nel quale i suinetti neonati vengono allevati con colostro bovino commerciale, è un modello alternativo per la ricerca sulle malattie infettive del suino. Ad oggi non è chiaro se i suini SF-pCD abbiano performance di crescita e immunità comparabili a quelle dei suini convenzionali in campo. Questo lavoro confronta le performance di crescita e le risposte immunitarie di suini SF-pCD con quelle di fratelli cresciuti in condizioni normali di allevamento, dopo vaccinazione per *Mycoplasma hyopneumoniae* (Mhyo). Dodici suini SF-pCD e 13 cresciuti in normali condizioni di allevamento, sono stati vaccinati il giorno 7 (d7) e 26 d'età. I pesi sono stati misurati una o due volte a settimana ed è stato calcolato l'incremento medio giornaliero di peso (ADG). Le PBMC (peripheral blood mononuclear cells) sono state isolate il giorno 40. La secrezione di citochine dalle PBMC stimolate con l'antigene Mhyo o con forbolo miristato acetato con ionomicina (PMA/Iono) è stata valutata utilizzando la tecnica FMIA (multiplexed fluorescent microsphere immunoassay). Inoltre, la secrezione di interferone gamma (IFN γ) dai PBMC stimolati, è stata valutata tramite ELISPOT. I titoli di IgG per Mhyo sono stati misurati in ELISA nei sieri prelevati a 40 g. Le performance di crescita non sono risultate diverse tra i due gruppi prima dello svezzamento, ma i suini SF-pCD presentavano un maggiore ADG dopo lo svezzamento. In risposta alla stimolazione con Mhyo, il numero di PBMC secernenti IFN γ e i livelli di interleuchina 8 (IL8) e IL10 nel surnatante delle PBMC sono risultati significativamente maggiori nei suini SF-pCD, così come i livelli di anticorpi anti Mhyo nei sieri, e i livelli di IL1 β , IL8 and IL12 nel surnatante di PBMC stimolate con PMA/Iono. Nelle condizioni di questa sperimentazione, i suini SF-pCD hanno mostrato maggiori performance di crescita e un'aumentata immunità umorale e cellulo-mediata post vaccinazione. Se questi dati riflettono o meno una maggiore resistenza o tolleranza all'infezione, non è ancora chiaro, ma la capacità di reagire positivamente alla vaccinazione prova che i suini SF-pCD possono

rappresentare un modello alternativo per gli studi delle malattie del suino.

BMC Vet Res. 2014 Sep 21;10(1):218.

Primo caso di rilevamento di *Corynebacterium pseudotuberculosis* in lesioni di linfadenite caseosa nel suino Black Alentejano (*Sus scrofa domestica*).

Oliveira M, Barroco C, Mottola C, Santos R, Lemsaddek A, Tavares L, Semedo-Lemsaddek T.

Interdisciplinary Center of Research in Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine of the University of Lisbon, Lisbon, Portugal

Corynebacterium pseudotuberculosis è l'agente eziologico della linfadenite caseosa, una malattia comune nei piccoli ruminanti in tutto il mondo e responsabile di significative perdite economiche per i produttori. Per le conoscenze degli autori, questo studio è la prima caratterizzazione di *C. pseudotuberculosis* da lesioni di linfadenite caseosa in un suino Black Alentejano (*Sus scrofa domestica*). In questo studio, metodi di identificazione fenotipica e genotipica hanno permesso di caratterizzare gli isolati suini come *C. pseudotuberculosis* biovar ovis. La maggior parte degli isolati è stata in grado di produrre fosfolipasi D ed è risultata sensibile alla maggior parte degli antibiotici testati. I pattern di macrorestrizione ottenuti mediante Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) hanno permesso il raggruppamento di *C. pseudotuberculosis* in due cluster con un indice di omologia elevato, il che indica la loro relazione clonale. Inoltre, gli isolati di suino sono stati confrontati con i ceppi di *C. pseudotuberculosis* caprini e i pattern PFGE hanno anch'essi evidenziato similarità elevate, suggerendo la prevalenza di cloni dominanti e di una potenziale cross-diffusione tra questi due ospiti animali. Questo lavoro descrive per la prima volta il rilevamento di *Corynebacterium pseudotuberculosis* in lesioni di linfadenite caseosa in un suino Black Alentejano ed evidenzia l'importanza di stabilire misure di controllo e di gestione sanitaria adeguate per controllare l'infezione e deprecare la diffusione di questo importante patogeno ad altri ospiti animali.

Virus Res. 2014 Sep 18.

Un nuovo vaccino inattivato gE/gI deleto per il virus della pseudorabbia (PRV) protegge completamente i suini dal challenge con una variante emergente di PRV.

Gu Z, Dong J, Wang J, Hou C, Sun H, Yang W, Bai J, Jiang P.

Key Laboratory of Animal Diseases Diagnostic and Immunology, Ministry of Agriculture, College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China.

Una variante antigenica, altamente virulenta del virus della pseudorabbia (PRV) è comparsa in Cina alla fine del 2011 e ha causato notevoli perdite economiche all'industria suinicola. In questo studio, è stato generato un clone di cromosoma artificiale batterico (BAC) infettante contenente l'intero genoma del ceppo PRV ZJ01 (variante emergente del PRV). I virus ottenuti mediante BAC, vZJ01-GFPΔgE/gI (ceppo deleto gE/gI, e con auto-fluorescenza verde), vZJ01ΔgE/gI (ceppo deleto gE/gI), e vZJ01gE/gI-R (ceppo revertant gE/gI), hanno mostrato caratteristiche di crescita in vitro simili a quelli del ceppo parentale. Nei suini, il vaccino generato dal ceppo inattivato vZJ01ΔgE/gI mostrava livelli significativamente maggiori di anticorpi neutralizzanti nei confronti di ZJ01, rispetto al vaccino vivo Bartha-K61 ($p < 0.05$). Dopo challenge con il ceppo ZJ01, tutti i suini del gruppo vaccinato con ceppo inattivato vZJ01ΔgE/gI sono sopravvissuti senza mostrare alcun sintomo clinico, ma due dei cinque animali presentavano sintomi del sistema nervoso centrale nel gruppo vaccinato con il vaccino vivo Bartha-K61. Nel frattempo, tutti gli animali di controllo non vaccinati sono morti al giorno 7 post infezione. Questi risultati indicano il vaccino inattivato vZJ01ΔgE/gI come promettente candidato per il controllo delle varianti del virus della pseudorabbia, circolanti ora in Cina.

Front Microbiol. 2014 Oct 8;5:513.

Relazione genetica tra isolati Giapponesi e Europei di *Clostridium difficile* isolati da suini e il rischio associato alla sanità pubblica.

Usui M, Nanbu Y, Oka K, Takahashi M, Inamatsu T, Asai T, Kamiya S, Tamura Y.

Laboratory of Food Microbiology and Food Safety, Department of Health and Environmental Sciences, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University Hokkaido, Japan.

La colonizzazione da parte di *Clostridium difficile* dell'intestino suino rappresenta un possibile rischio per la salute pubblica. In Giappone, la prevalenza di *C. difficile* nei suinetti è stata valutata per chiarire l'origine dei ceppi isolati e il livello di rischio associato, utilizzando metodiche molecolari e microbiologiche su isolati clinici suini e umani dal Giappone ed esteri. *C. difficile* è stato isolato da 120 campioni fecali di suinetti neonati. Il profilo del gene della tossina, la sensibilità antimicrobica, il ribotipo mediante PCR, e l'analisi MLVA (multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis) degli isolati suini sono stati determinati e confrontati con quelli di isolati clinici umani dal Giappone ed esteri. Sono stati isolati cento ceppi di *C.*

difficile da 69 (57.5%) campioni, e 61 isolati (61%) sono risultati positivi per il gene tossina. Alcuni isolati sono risultati resistenti agli antibiotici, contribuendo alla diarrea antibiotico-associata da *C. difficile*. Questi risultati suggeriscono che *C. difficile*, prevalente tra i ceppi Giapponesi, rappresenti un potenziale rischio per la diarrea antibiotico-associata. Inoltre, il ribotipo 078 (12 isolati), associato a focolai multipli in tutto il mondo, è stato il terzo più frequentemente isolato dei 14 ribotipi identificati. Inoltre l'analisi MLVA ha rivelato che tutti i 12 ribotipi PCR 078 isolati, erano geneticamente correlati ai ceppi Europei ribotipo PCR 078, rilevati sia nell'uomo che nel suino. La correlazione genetica degli isolati di *C. difficile* provenienti da suini giapponesi con quelli di origine europea, suggeriscono una possibile introduzione in Giappone mediante l'importazione di suini.

PLoS One. 2014; 9(10): e109541.

Peso alla nascita, ritardo di crescita intrauterina e sensibilità del feto al virus della sindrome riproduttiva e respiratoria del suino.

Ladinig A., Foxcroft G., Ashley C., Lunney G.K., Plastow G. and Harding J.C.S.

Department of Large Animal Clinical Sciences, Western College of Veterinary Medicine, University of Saskatchewan, Saskatoon, Saskatchewan, Canada

In questo studio è stata confrontata la gravità della sindrome riproduttiva e respiratoria del suino in scrofette gravide provenienti da nidiata con basso o alto peso alla nascita. Centoundici scrofette sperimentalmente infettate con PRRSV il giorno 85 (± 1) di gestazione, sono state sacrificate e sottoposte a necropsia insieme ai loro feti, 21g dopo. I tassi di ovulazione e la dimensione della nidiata non sono risultati differenti tra i due gruppi, ma i feti delle scrofette con basso peso alla nascita sono risultati più corti, leggeri e mostravano i segni di una crescita asimmetrica (ad esempio effetto di centralizzazione del circolo). Il numero di feti con ritardata crescita intrauterina è stato significativamente maggiore nelle scrofette a basso peso alla nascita, rispetto alle altre. Nonostante le cellule T $\gamma\delta$ siano significativamente diminuite nel tempo nelle scrofette a peso maggiore alla nascita, il titolo virale nel siero e nei tessuti, i livelli di citochine nel siero delle scrofette, e le caratteristiche della nidiata, inclusa la percentuale di feti morti per nidiata, non sono risultate differenti tra i gruppi. Questo studio non ha dimostrato che la gravità della PRRS sia influenzata dal diverso peso alla nascita delle scrofe. Ciononostante, i feti con crescita intrauterina ritardata presentavano carichi virali minori nel timo del feto e nell'endometrio adiacente all'ombelico. Le lunghezze vertice-sacro (crown rump length) non erano diverse tra feti sopravvissuti e quelli morti durante l'ultima settimana prima del termine. In generale questo studio dimostra chiaramente che il peso alla nascita è un tratto

transgenerazionale nel suino, e indica che i feti di maggiori dimensioni sono molto più sensibili all'infezione transplacentare da PRRSV.

PLoS One. 2014; 9(9): e107040.

La morsicatura della coda nei suini: serotonina nel sangue e paura sono pezzi del puzzle?

Ursinus WW, Van Reenen CG, Reimert I, and JE Bolhuis

Adaptation Physiology Group, Department of Animal Sciences, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands; Animal behaviour & Welfare, Wageningen UR Livestock Research, Wageningen, The Netherlands

La morsicatura della coda nel suino è un diffuso problema negli allevamenti intensivi. Si è ipotizzato che la tendenza a sviluppare questo comportamento sia associato alla funzionalità serotonergica e a caratteristiche individuali del suino. In questo studio è stato analizzato come il mordere la coda nel suino possa essere associato alla serotonina nel sangue e alle risposte comportamentali e fisiologiche in risposta ad eventi nuovi. I suini (n=480) utilizzati in questo studio sono nati in box parto convenzionali e dopo lo svezzamento a 4 settimane di età sono stati posizionati in box con (E) o senza (B) arricchimento ambientale con paglia. I suini sono stati esposti a livello individuale a back-test e al test nuovo ambiente prima dello svezzamento, e dopo lo svezzamento al test nuovo oggetto (es. secchio) in un ambiente non familiare. L'analisi in componenti principali sui comportamenti durante i test e il cortisolo salivare (solo per il test nuovo oggetto) hanno rilevato cinque fattori per entrambi i sistemi di stabulazione, definiti come 'esplorazione nelle prime fasi di vita', 'vicino al nuovo oggetto', 'cortisolo', 'vocalizzazioni e posizione di allerta' e 'reazione al back-test'. Campioni di sangue sono stati prelevati a 8, 9 e 22 settimane d'età per determinare la serotonina nelle piastrine del sangue. Nelle differenti fasi della vita, i suini sono stati classificati come morsicatori o non, a seconda del comportamento di morsicatura della coda o come vittime o non in base alla presenza di ferite alla coda. La combinazione delle classificazioni permette di identificare i suini in quattro tipologie: morsicatori, vittime, morsicatori e vittime e neutrali. In generale, solo nelle fasi della vita nelle quali i suini sono stati classificati come morsicatori sembravano avere un minor accumulo di serotonina a livello di piastrine e una maggiore velocità di uptake delle piastrine. I suini morsicati avevano anch'essi un minor accumulo di serotonina nel sangue. Inoltre nei suini del gruppo B, i morsicatori avevano indici significativamente minori del fattore 'vicino al nuovo oggetto', che indica potenzialmente una maggiore paura in questo gruppo. Ulteriori ricerche sono necessarie per chiarire la natura delle correlazioni tra 5-HT periferica, paura e morsicatura della coda, e per sviluppare strategie e

interventi efficaci per prevenire e ridurre il fenomeno della morsicatura della coda.

J Anim Sci. 2014 Nov 3.

Una breve esposizione a stress da calore diminuisce l'appetito e l'integrità intestinale in suini in crescita.

Pearce SC, Sanz-Fernandez MV, Hollis JH, Baumgard LH, Gabler NK.

Department of Animal Science, Iowa State University, Ames, IA 50011.

Lo stress da calore acuto (HS) e il colpo di calore possono essere dannosi per la salute, il benessere e le performance nei mammiferi, compreso il suino. Pertanto, l'obiettivo di questo studio è stato quello di caratterizzare cronologicamente come un suino percepisce e inizialmente compensa un notevole carico di calore. Trentadue scrofette ($63,8 \pm 2,9$ kg) sono state sottoposte a condizioni di HS (37° C, 40% di umidità) e assunzione *ad libitum* di cibo per 0, 2, 4, o 6 ore ($n = 8$ /time point). Temperatura rettale (Tr), frequenza respiratoria (RR) e assunzione di cibo sono state determinate ogni 2 ore. I suini sono stati sacrificati ad ogni tempo e campioni di ileo e colon sono stati montati in camere di Ussing modificate per valutare l'integrità e la funzionalità intestinale *ex vivo*. Sono poi state valutate la resistenza elettrica transepiteliale (TER) e la permeabilità di destrano marcato con fluoresceina isotiocianato (FD4). Come previsto, Tr è aumentata linearmente nel tempo ($p < 0,001$) con la temperatura più alta osservata a 6 h HS. Rispetto ai suini a temperatura neutra (TN) a h 0, RR è aumentata (230%; $p < 0,001$) nelle prime 2 ore ed è rimasta elevata nell'arco delle 6 h di HS ($p < 0,05$). L'assunzione di cibo è stata drasticamente ridotta a causa di HS e corrispondeva a cambiamenti significativi di glucosio plasmatico, grelina e peptide insulinotropico glucosio-dipendente ($p < 0,050$). Già nelle 2 h di HS, la TER ileale è linearmente diminuita ($P < 0,01$), mentre FD4 è aumentata linearmente con il tempo ($P < 0,05$). TER e FD4 del colon sono cambiate in conseguenza al HS in modo quadratico nel tempo ($p = 0,050$), così come nell'ileo, ma erano meno pronunciate. In risposta a HS, mRNA delle heat shock protein (HSP)70 e quantità di proteina sono aumentati in modo lineare nel tempo ($P < 0,050$). Complessivamente, questi dati indicano che una breve durata di HS (2-6 h) compromette l'assunzione di cibo e l'integrità intestinale nel suino in crescita.