

SIPAS NEWSletter

Dicembre 2014

ANNO VII n. 11

Vet J 2014 Nov 7.

Sequence types e sensibilità alle pleuromutiline di isolati di *Brachyspira hyodysenteriae* da suini italiani con dissenteria suina: 2003-2012.

Rugna G, Bonilauri P, Carra E, Bergamini F, Luppi A, GherPELLI Y, Magistrali CF, Nigrelli A, Alborali GL, Martelli P, La T, Hampson DJ, Merialdi G.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Via Bianchi 9, 25124 Brescia, Italy.

La dissenteria suina è una colite mucoemorragica del suino causata dall'infezione da *Brachyspira hyodysenteriae*. La malattia può essere controllata dal trattamento con antibiotici, quelli più utilizzati sono pleuromutiline, come tiamulina e valnemulina. Negli ultimi anni, sono aumentate le segnalazioni di *B. Hyodysenteriae* con ridotta sensibilità a questi antibiotici. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di determinare le variazioni nel tempo dei gruppi genetici e della sensibilità alle pleuromutiline degli isolati di *B. hyodysenteriae* in Italia. La tecnica multi locus sequence typing (MLST) è stata condotta su 108 isolati da 87 allevamenti in diverse regioni Italiane dal 2003 al 2012, inoltre è stata determinata la minima concentrazione inibente (MIC) per tiamulina e valnemulina. Un'analisi di regressione logistica è stata applicata per valutare le associazioni tra sensibilità ai due antibiotici e gruppo genetico, anno e regione di isolamento. Gli isolati sono stati raggruppati in 23 sequence types (STs), con cinque cluster clonali (Ccs) e sette singleton. Più del 50% degli isolati sono risultati resistenti ad entrambe le pleuromutiline (MIC >2.0 µg/mL per la tiamulina e >1.0 µg/mL per la valnemulina). Tutti i 10 isolati nel ST83 sono risultati resistenti; questo tipo è stato isolato a partire dal 2011 e in 9 allevamenti diversi, suggerendo un'ampia diffusione di ceppi resistenti negli ultimi anni. Associazioni significative sono state rilevate tra la proporzione di isolati sensibili alle pleuromutiline e gruppo genetico e anno di isolamento. Nonostante ceppi resistenti siano stati trovati in tutti i Ccs, gli isolati in Ccs 2 e 7 avevano oltre 5 volte più probabilità di essere sensibili rispetto a quelli in altri Ccs. Inoltre, è stato osservato un trend significativo di riduzione della sensibilità nel tempo.

Viruses 2014 Nov 14;6(11):4424-36.

Diversità genetica di virus della PRRS in campioni di aria prelevati in quattro regioni differenti di

un'area ad alta densità di suini durante la stagione ad alta incidenza dell'infezione.

Brito B, Dee S, Wayne S, Alvarez J, Perez A.

Department of Veterinary Population Medicine, College of Veterinary Medicine, University of Minnesota, 385A Animal Science Veterinary Medicine Building, 1988 Fitch Avenue, St. Paul, MN 55108, USA.

Il virus della sindrome riproduttiva e respiratoria del suino (PRRS) è uno dei più importanti patogeni del suino negli USA, e causa ingenti perdite economiche. Il controllo della malattia è difficile anche a causa della dinamica virale, poiché il virus della PRRS (PRRSV) può essere trasmesso per via aerogena tra allevamenti diversi, soprattutto in quelle regioni con un'alta densità di suini. Nonostante sia stato dimostrato il trasporto del virus anche su lunghe distanze attraverso l'aria, ci sono poche informazioni riguardo le dinamiche di infezione con virus trasmessi per via aerogena in regioni ad alta densità di suini. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di descrivere la frequenza di rilevamento, la dose e la diversità di isolati di PRRSV in campioni di aria prelevati in quattro regioni in un'area ad elevata concentrazione suinicola durante la stagione ad alto rischio per PRRS (ottobre-dicembre) nel centro ovest degli USA nel 2012. Tra il 29 e il 42% dei campioni di aria sono risultati positivi in tutti e quattro i siti di campionamento. Il sequenziamento dei virus ottenuti ha mostrato un ampio range di diversità tra varianti di campo e ceppo vaccinale. Maggiore frequenza, dose e diversità dei virus della PRRS sono stati osservati nei campioni da zone a maggiore densità suinicola. Questi dati suggeriscono che la diffusione di PRRSV dovuta alla trasmissione per via aerogena rappresenti un'importante rischio per gli allevamenti sensibili in regioni ad elevata densità di suini, dove PRRSV è endemico.

Vet Immunol Immunopathol. 2014 Nov 20.

Caratteristiche cliniche e istologiche delle risposte alla intradermoreazione con brucellina in suini infetti da *Brucella suis* biovar 2.

Dieste-Pérez L, Barberán M, Muñoz PM, Moriyón I, Blasco JM.

Unidad de Sanidad Animal, Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (CITA) del Gobierno de Aragón, Av. Montañana 930, 50059 Zaragoza, Spain.

Gli attuali test per la brucellosi suina rilevano gli anticorpi per il polisaccaride O di *Brucella* (O/PS). Quando sono presenti infezioni con batteri cross

reattivi, questi test presentano reazioni sierologiche false positive (FPSR). Nel suino, lo skin test con frazioni proteiche solubili di *Brucella* rappresenta la miglior alternativa diagnostica per differenziare le infezioni vere da *Brucella suis* dalle FPSR. Questo test viene raramente utilizzato nei suini infetti da *B. suis*, per questo motivo, non sono state ben descritte le caratteristiche cliniche e istologiche del test. In questo lavoro vengono analizzati gli eventi clinici ed istologici in suini infetti con *B. suis* testati con una frazione proteica citosolubile O/PS free derivante da un mutante Tn5::per di *Brucella abortus* forma rugosa. Un estratto similare da *Ochrobactrum intermedium* forma rugosa, è stato utilizzato come comparazione. Nessuna differenza rilevante è stata evidenziata tra allergeni omologhi o eterologhi, e la principale caratteristica clinica è stata un'area di ispessimento cutaneo con diversi gradi di indurimento. Inoltre, un'importante reazione vascolare con iperemia ed emorragia è stata evidenziata nella maggior parte delle scrofe 24-48h dopo l'inoculazione, facilitando l'interpretazione clinica delle reazioni positive. Istologicamente, sono state identificate reazioni combinate di ipersensibilità immediata (tipo III) e ritardata (tipo IV) come caratteristica principale delle risposte infiammatorie prodotte.

Viruses 2014 Dec 5;6(12):4839-4855.

Virus-Like Particles di Circovirus suino tipo 2 chimerico ricombinante come carrier antigenico per epitopi eterologhi.

Zhang H, Qian P, Liu L, Qian S, Chen H, Li X.

State Key Laboratory of Agricultural Microbiology,
Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070,
Hubei, China.

Particelle virus simili (virus-like particles, VLPs) di un circovirus suino tipo 2 (PCV2) chimerico sono state generate sostituendo il segnale di localizzazione nucleare (NLS; alla posizione 1-39 aa) della proteina del capsido (Cap) con un epitopo T-cell (1446-1460 aa) della peste suina classica (PSV), un epitopo B-cell della PSC (693-716 aa) e un epitopo T-cell della PSC coniugato con un epitopo B-cell. Le proteine ricombinanti sono state espresse utilizzando il sistema di espressione Baculovirus e rilevate mediante immunoblotting e immunofluorescenza indiretta. L'abilità di formare PCV2 VLPs è stata confermata mediante microscopia elettronica. L'immunogenicità delle proteine ricombinanti è stata valutata in topo. I risultati indicano che la delezione del NLS dalla proteina del Cap, o la sostituzione con epitopi della PSC non ha influenzato la capacità di assemblamento delle VLPs. Tre proteine chimeriche del Cap possono formare VLPs e indurre una immunità umorale e cellulare efficiente nei confronti di PSC nel topo. I risultati dimostrano che le virus like particles da PVC2 possono essere utilizzate come efficiente carrier antigenico per epitopi eterologhi, anche per l'applicazione in nuovi vaccini.

Transbound Emerg Dis. 2014 Dec 9.

Sorveglianza per il virus dell'influenza A utilizzando campioni di saliva da suinetti pre-svezzamento.

Panyasing Y, Goodell C, Kittawornrat A, Wang C, Levis I, Desfresne L, Rauh R, Gauger PC, Zhang J, Lin X, Azeem S, Ghorbani-Nezami S, Yoon KJ, Zimmerman J.

Department of Veterinary Diagnostic and Production
Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Iowa
State University, Ames, IA, USA.

La sorveglianza per il virus dell'influenza A (IAV) mediante l'utilizzo di campioni di saliva da nidiato di suinetti è stata valutata in allevamenti da riproduzione con scrofe vaccinate per IAV. I campioni di saliva sono stati prelevati da 600 nidiato e i campioni di siero dalle loro madri allo svezzamento. I campioni di saliva della nidiato sono stati testati per IAV mediante isolamento virale, RT-PCR quantitativa (qRT-PCR), sottotipizzazione mediante RT-PCR e sequenziamento. Per caratterizzare gli anticorpi anti-NP nella saliva di suinetti e nel siero delle scrofe sono stati utilizzati kit ELISA per la nucleoproteina (NP) e tecniche isotipo NP specifiche (IgM, IgA e IgG). Tutti i campioni di saliva delle nidiato (n = 600) sono risultati negativi all'isolamento virale. Venticinque salive (25/600 = 4.2%) sono risultate positive in qRT-PCR sia allo screening (Laboratorio 1) che al test di conferma (Laboratorio 2). Non sono state ottenute sequenze dei geni di emoagglutinina (HA) e neuroaminidasi (NA), mentre le sequenze del gene della matrice (M) sono state ottenute per tutti i campioni positivi in qRT-PCR inviati al sequenziamento (n = 18). L'analisi genetica ha rilevato che le sequenze del gene M erano identiche tra loro (GenBank accession no. KF487544) e appartenevano al cluster del gene M triplo riassortante (TRIG M), precedentemente identificato nel suino. La proporzione di campioni positivi IgM- e IgA è risultata significativamente maggiore nel siero di scrofa e nella saliva delle nidiato, rispettivamente (p<0.01). Coerentemente con l'uso estensivo del vaccino IAV, non è stata rilevata nessuna differenza nel rapporto di sieri e salive positivi per IgG e in ELISA blocking. Questo studio supporta l'utilizzo dei campioni di saliva per la sorveglianza dell'influenza nei suini e dimostra una circolazione inapparente di IAV nei suinetti. Lavori futuri sull'utilizzo della diagnostica su saliva dovrebbero focalizzarsi sull'implementazione di procedure per l'isolamento virale, la sottotipizzazione e il sequenziamento dei geni di HA ed NA. Il ruolo degli anticorpi anti AIV nella sorveglianza dell'infezione rimane da chiarire, ma la valutazione longitudinale di anticorpi specifici ha il potenziale nel fornire informazioni riguardo le modalità di infezione, lo stato vaccinale e di immunità dell'allevamento.

Effetto della stabulazione in gruppi dopo lo svezzamento sul benessere e il comportamento sessuale della scrofa.

Rault JL, Morrison RS, Hansen CF, Hansen LU, Hemsworth PH.

Animal Welfare Science Centre, University of Melbourne, Parkville VIC 3010, Australia

Questo studio ha avuto come scopo quello di confrontare gli effetti del raggruppamento delle scrofe dopo lo svezzamento o entro 2 giorni dopo l'inseminazione, su comportamento sessuale, aggressioni, ferite, stress e successo della fecondazione. Allo svezzamento (g0), 360 scrofe sono state raggruppate in gruppi di 10 scrofe con 4.4 m(2) per scrofa (gruppo svezzate [GpW]) o in box individuali (gabbie svezzate [StW]), con 18 gruppi per ogni trattamento. Sei giorni dopo lo svezzamento (g6), 7 scrofe GpW fecondate sono state spostate in recinti con 2.1m(2) per scrofa e lasciate familiarizzare, e simultaneamente, gruppi di 7 scrofe StW fecondate sono state unite a 2.1 m(2) per scrofa. Le scrofe del gruppo svezzate GpW hanno mostrato una maggiore variabilità nella comparsa dell'estro ($p=0.02$) ma non nella durata dell'estro, rispetto alle scrofe StW ($p=0.21$), con il 7% in meno di scrofe GpW fecondate entro 5 g dallo svezzamento ($p=0.05$). Le scrofe del gruppo GpW hanno mostrato minori score di recettività sessuale, con un minor riflesso di immobilizzazione durante l'esposizione al verro e compensando parzialmente con una maggiore risposta alla test di pressione sul dorso (entrambi $p<0.01$). Il gruppo GpW ha mostrato anche una maggiore variabilità nelle scrofe fecondate due volte entro 6 g dallo svezzamento, con 3 box su 18 con solo 5 scrofe fecondate su 10. Il rimescolamento dopo lo svezzamento è risultato in maggiori livelli di stress rispetto a quelli dopo la fecondazione, con le scrofe del gruppo GpW con concentrazioni maggiori di cortisolo plasmatico rispetto alle scrofe StW al g 1 ($p<0.001$), ma nessuna differenza tra gruppi al g 7 nella concentrazione di cortisolo o aggressività in presenza di cibo ($p= 0.48$). Le scrofe del gruppo svezzate hanno avuto una maggiore perdita di peso durante la prima settimana post-svezzamento ($p=0.05$). In conclusione, le scrofe stabulate in gruppi allo svezzamento e raggruppate di nuovo dopo la fecondazione, presentavano un maggiore stress rispetto alle scrofe in box singoli allo svezzamento e raggruppate dopo la fecondazione. La conseguenza è stata un minore successo nella fecondazione entro 5 g dallo svezzamento, che a sua volta ha aumentato la variabilità inter-settimanale. La minor recettività sessuale nelle scrofe raggruppate allo svezzamento può essere dovuta ad una inibizione del comportamento correlato all'estro con il presentarsi dell'ovulazione, o ad una ovulazione ritardata oltre il g 6. Ulteriori ricerche sono necessarie per identificare i meccanismi basali per ridurre la variabilità, controllare l'aggressività e il comportamento sessuale, e

ottimizzare il rilevamento dell'estro nei sistemi che prevedono il raggruppamento delle scrofe allo svezzamento.

PLoS One. 2014 Nov 20;9(11):e113720.

Elevata prevalenza di co-infezioni con varie specie di Torque teno virus in allevamenti suini italiani.

Blois S, Mallus F, Liciardi M, Pilo C, Camboni T, Macera L, Maggi F, Manzin A.

Department of Biomedical Sciences, Clinical Microbiology and Virology Unit, University of Cagliari Medical School, Cagliari, Italy.

I Torque teno viruse (TTVs) sono un gruppo di piccoli virus che infettano i vertebrati, con DNA circolare a singolo filamento, classificati nella famiglia *Anelloviridae*. Nel suino le due specie conosciute, geneticamente distinte, Torque teno sus virus 1a (TTSuV1a) e 1b (TTSuV1b) sono state raggruppate nel genere *lotatorqutenovirus*. Recentemente, una nuova specie di Torque teno virus, definita Torque teno sus virus k2b (TTSuVk2b) è stata compresa insieme al Torque teno sus virus k2a (TTSuVk2a) nel genere *Kappatorquevirus*. Questo studio ha valutato la prevalenza di TTSuV1 (TTSuV1a e TTSuV1b), TTSuVk2a e TTSuVk2b in 721 campioni di siero di suini sani provenienti dalla Sardegna. La prevalenza globale dell'infezione è risultata del 83.2% (600/721), con una prevalenza del 62.3% (449/721), 60.6% (437/721), e 11.5% (83/721) per TTSuV1, TTSuVk2a e TTSuVk2b, rispettivamente. Inoltre è stato valutato il tasso di infezioni con due o tre specie. I dati hanno mostrato che le co-infezioni erano più frequenti che le infezioni singole, e che la doppia infezione con TTSuV1+TTSuVk2a era la combinazione prevalente (35.4%). I risultati quantitativi ottenuti utilizzando real time qPCR specie-specifiche hanno evidenziato i livelli medi maggiori di viremia nel sottogruppo TTSuV1, e i minori nel sottogruppo TTSuVk2b. E' interessante notare che le infezioni multiple con specie distinte di TTSuV sembrano influenzare significativamente il carico di DNA e nello specifico, i dati sottolineano che una doppia infezione con TTSuVk2a aumenta i titoli virali di TTSuV1, così come la co-infezione con TTSuVk2b aumenta i titoli di TTSuVk2a.

Prev Vet Med 2014 Dec 1;117(3-4):413-424.

Meta-analisi mediante mixed treatment comparison, dei vaccini per circovirus suino tipo 2 (PCV2) utilizzati nei suinetti.

da Silva N, Carriquiry A, O'Neill K, Opriessnig T, O'Connor AM.

Department of Statistics, Iowa State University College of Liberal Arts and Sciences, Ames, IA 50011, United States.

La vaccinazione per Circovirus suino tipo 2 (PCV2) è a livello mondiale il vaccino più utilizzato nei suini da quando alcune preparazioni vaccinali sono diventate disponibili in commercio a partire dal 2006. Nonostante molti studi abbiano descritto l'efficacia dei vaccini per PCV2 in confronto alla non vaccinazione, pochi studi hanno fatto una comparazione prodotto-prodotto per valutare l'efficacia vaccinale. Data la bene conosciuta efficacia dei vaccini per PCV2, le informazioni circa l'efficacia comparativa dei vaccini disponibili è più importante per i produttori e i veterinari, che il confronto con i non vaccinati. L'obiettivo di questo studio è stato quello di fornire stime comparative dell'effetto sull'incremento ponderale giornaliero associato all'utilizzo dei vaccini commerciali per PCV2. Come fonte di dati sono stati utilizzati PubMed, CAB Abstracts, AGRICOLA, the USA Department of Agriculture Center for Veterinary Biologics database of licenses and provisions, e gli atti del meeting annuale della American Association of Swine Veterinarians, delle Allen D. Lemman Swine Conference, Iowa State University Swine Disease Conference for Swine Practitioners, e del congresso della International Pig Veterinary Society. Per la meta-analisi sono state considerate rilevanti le sperimentazioni condotte con vaccini per PCV2 somministrati secondo le specifiche del produttore a suinetti in allevamenti intensivi, con uno status conosciuto per la sindrome riproduttiva e respiratoria del suino (PRRS). Gli studi considerati dovevano riportare l'incremento ponderale giornaliero (ADG) dallo svezzamento alla macellazione e l'infezione da PCV2 doveva essere naturale e non sperimentale.

Talanta. 2015 Jan 15;132:258-68.

Analisi delle feci animali come strumento per il monitoraggio dell'utilizzo di antibiotici.

Berendsen BJ, Wegh RS, Memelink J, Zuidema T, Stolker LA.

RIKILT, Wageningen University and Research Centre, Akkermaalsbos 2, 6708WB, P.O. Box 230, 6700AE Wageningen, The Netherlands.

La ricerca e l'analisi degli antibiotici nelle feci animali sono importanti per ottenere più informazioni sulla possibile formazione di resistenze batteriche a livello intestinale negli animali, per conoscere l'escrezione di antibiotici nell'ambiente, per monitorare i trend di utilizzo degli antibiotici e per rilevare l'utilizzo di antibiotici illegali o non autorizzati. Per facilitare questi studi viene qui descritto un metodo integrale per l'analisi di livelli traccia di 44 antibiotici, compresi tetracicline, chinoloni, macrolidi e sulfonamidi, nelle feci animali mediante cromatografia liquida, in combinazione con la rilevazione in spettrometria di massa tandem (LC-MS/MS). Il metodo è stato completamente validato secondo la normativa europea e ha mostrato soddisfacenti performance quantitative conformemente ai ristretti criteri adottati, con

l'eccezione di alcuni composti macrolidi, che possono essere analizzati con una elevata incertezza di misura. Al fine di monitorare feci da suini e bovini è stato condotto un ampio studio e sono stati ottenuti risultati interessanti. Nel 55% delle feci di suino, provenienti dall'80% degli allevamenti del paese e nel 75% delle feci di bovino, provenienti dal 95% degli allevamenti bovini, sono stati rilevati antibiotici. Ossitetraciclina, doxiciclina e sulfadiazina sono stati gli antibiotici più rilevati, seguiti da tetraciclina, flumequine, lincomicina e tilosina. Oltre il 34% dei campioni di feci contenevano uno o più antibiotici differenti con un massimo di otto. Nel presente articolo verranno discussi le possibili spiegazioni e gli effetti di tali risultati.

J Comp Pathol. 2014 Nov 10;151(4):380-383.

Ganglioneuromatosi ileale in un suinetto: analisi istopatologica e immunoistochimica.

Quiroga MA, Lozada MI, Madariaga G, Cappuccio JA, Machuca MA, Barrales H, Pérez EM, Perfumo CJ.

Department of Veterinary Pathology, Faculty of Veterinary Science, La Plata National University, cc 296, B1900AVW, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

La ganglioneuromatosi (GNM) è una rara condizione caratterizzata dalla proliferazione benigna delle cellule del ganglio, delle fibre nervose e delle cellule di supporto del sistema nervosa enterico. L'esame necroscopico di un suinetto femmina di 4 Kg ha rivelato un segmento dell'ileo terminale ben demarcato di 20 cm con addensamento della parete. Microscopicamente, la lamina propria era infiltrata da cellule gliali enteriche e da grandi cellule del ganglio. All'interno dello strato sottomucosale e muscolare aggregati di neuroni erano intrecciati con cellule di Schwann e cellule gliali enteriche a formare anelli concentrici. In immunoistochimica, i neuroni erano debolmente colorati per S-100 e per enolasi neurone-specifica, le cellule di Schwann esprimevano S-100 e vimentina e le cellule gliali enteriche esprimevano la proteina fibrillare acida gliale e S-100. I risultati patologici e immunoistochimici supportano una diagnosi di GNM ileale.