

ARTRITE DA *MYCOPLASMA HYORHINIS* E *MYCOPLASMA HYOSYNOVIAE* IN SUINI CON SEGNI CLINICI DI ZOPPIA - INDAGINI PRELIMINARI

MERENDA M.¹, CORNAGGIA M.¹, TONDO A.¹, FOIANI G.², BOTTINELLI M.¹,
TONELLI C.³, MONDIN P.⁴, VIO D.⁵, CATANIA S.¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Sezione Territoriale di Verona, Laboratorio di Diagnostica Clinica e Sierologia di Piano, U.O. Micoplasmici, Buttapietra (VR)

²Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Laboratorio di Istopatologia - SCS3, Legnaro (PD)

³Medico Veterinario Libero Professionista

⁴Medico veterinario, Huvepharma N.V.

⁵Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Sezione Territoriale di Pordenone, Laboratorio di Patologia e Benessere della Specie Suina, Cordenons (PN)

INTRODUZIONE

Il presente contributo descrive il riscontro di *Mycoplasma hyorhinis* (MHR) e *Mycoplasma hyosynoviae* (MHS) da articolazioni di suini con segni clinici di zoppia nella fase di svezzamento e magronaggio conferiti presso l'U.O. Micoplasmici della Sezione di Verona dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie.

L'insorgenza di zoppia nell'allevamento suino rappresenta un problema di grande impatto in tutte le fasi produttive, sia in termini di riduzione del benessere degli animali che dal punto di vista delle perdite economiche legate alle scarse performance produttive, alla riforma prematura degli animali colpiti, al deprezzamento di porzioni o dell'intera carcassa al macello.

Tra le cause di zoppia del suino, le artriti sono molto comuni e possono essere associate a molteplici fattori di rischio, sia infettivi che non infettivi.

Le artriti infettive sono nel suino principalmente causate da agenti batterici in grado di determinare setticemia e raggiungere quindi i siti articolari. Tra questi ricordiamo *Streptococcus suis*, *Glaesserella parasuis*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Actinobacillus suis*, *Streptococcus spp.*, *Trueperella pyogenes*, *Escherichia coli*. I micoplasmici, nello specifico MHR e MHS, sono altresì annoverati tra le cause di artrite infettiva del suino (1).

MHR è un microrganismo commensale delle alte vie respiratorie del suino, isolato comunemente da cavità nasali e polmoni, riconosciuto come agente di polisierosite e artrite in suinetti post-svezzamento; MHS invece colonizza principalmente le tonsille e, in particolari condizioni e con meccanismi ancora non del tutto noti, è in grado di localizzarsi a livello articolare determinando artrite principalmente in suini in accrescimento a partire dalle 10 settimane di età (3).

Le patologie sostenute da tali micoplasmici risultano alle volte sottostimate anche a causa della loro complessità diagnostica, dovuta anche alla particolare difficoltà di isolamento in laboratorio.

MHR e MHS sono considerati patogeni secondari in quanto la loro insorgenza clinica e le lesioni da loro determinate sono generalmente scatenate da fattori predisponenti. L'attuale sistema produttivo può creare le condizioni favorevoli affinché tali microrganismi, che posseggono intrinseche caratteristiche di rapida adattabilità e variabilità genetica, possano determinare l'insorgenza di forme cliniche impattanti. Questo in analogia a quanto già avvenuto nel settore avicolo con la comparsa di un ceppo di *Mycoplasma synoviae* in grado di determinare una nuova forma clinica denominata "anormalità del guscio delle uova" (5).

La descrizione di questo caso clinico vuole contribuire a sensibilizzare il settore suinicolo sul ruolo che alcune specie di micoplasmici rivestono nell'insorgenza di zoppia del suino, al fine

di stimolare l'inserimento di MHR e MHS in diagnosi differenziale e l'utilizzo di metodiche finalizzate all'isolamento del microrganismo.

La collezione di ceppi vitali è infatti di fondamentale importanza per l'allestimento di ulteriori approfondimenti, quali test di antibiotico-sensibilità, genotipizzazione, allestimento vaccini stabulogeni ed eventuali prove sperimentali.

DESCRIZIONE DEL CASO

Il caso descritto è stato conferito presso la U.O. Micoplasmici della Sezione Territoriale di Verona nel mese di novembre 2022. I campioni erano costituiti inizialmente da n. 9 arti di suino, sia anteriori che posteriori, appartenenti a soggetti di 60-80gg di vita, con segni clinici di grave zoppia. Successivamente sono state richieste e conferite 3 carcasse di soggetti di 60-80gg di vita e 2 carcasse di soggetti di 110-120gg di vita, al fine di valutare il quadro anatomopatologico in modo completo. Tutti i soggetti selezionati non erano stati sottoposti a terapia antibiotica ed erano stati sacrificati ai fini diagnostici nel rispetto del benessere animale (Reg. UE 1099/2009). L'allevamento di provenienza è un allevamento da riproduzione a ciclo chiuso con 350 scrofe, gestito in bande trisettimanali e *antibiotic-free* nella fase produttiva (dai suinetti in sala parto fino alla macellazione). La rimonta è esclusivamente interna da circa 8 anni. Il veterinario aziendale segnalava una problematica clinica rilevante con presenza di gonfiori articolari, zoppie fino alla perdita di stabilità del treno posteriore che interessava circa il 20% di soggetti per banda, a partire dai 40gg di età e fino ai 110-120gg di età.

La problematica interessava quindi sia il settore svezzamento (28-90gg), che il magronaggio (90-150gg) ed era presente in allevamento da circa 3 mesi.

Il dato anamnestico riportava inoltre precedenti casi di zoppia nelle scrofette in accrescimento alcuni mesi prima dell'inizio della forma clinica nel settore produttivo.

Il protocollo vaccinale prevedeva la vaccinazione dei suinetti per PRRSV, PCV2 e *Mycoplasma hyopneumoniae*, e delle scrofe per PRRSV, Parvovirus, Malrossino, Influenza.

L'allevamento è positivo per PRRSV: in anamnesi veniva riportato un *outbreak* con sintomatologia riproduttiva nel gennaio dello stesso anno ed evidenze periodiche di instabilità rilevate tramite il monitoraggio effettuato su emosieri testicolari.

Indagini di laboratorio

All'esame necroscopico degli arti conferiti in prima istanza si evidenziava gonfiore da moderato a grave delle articolazioni di carpo e/o tarso ed una grave artrosinovite con presenza di abbondante essudato sierofibrinoso in cavità articolare, edema, iperemia e iperplasia della membrana sinoviale (**Fig. 1**).

L'esame necroscopico sulle carcasse ha permesso di confermare il quadro anatomopatologico articolare, che interessava pressochè tutte le articolazioni del treno anteriore e posteriore. Era presente inoltre in tutti i soggetti una imponente linfadenomegalia generalizzata, abbondante versamento sieroso nelle cavità toracica, pericardica e addominale, broncopolmonite catarrale con epatizzazione dei lobi apicali, medi e parte dei basali. Un soggetto di 60-80gg di vita presentava anche una grave pericardite fibrino-purulenta con ispessimento ed iperemia del pericardio ed abbondante essudato sierofibrinoso in cavità.

Sono stati effettuati esami batteriologici da liquido articolare, milza, polmone, versamento pericardico e addominale. Il protocollo batteriologico era idoneo all'isolamento di patogeni esigenti con particolare riferimento a *Glaesserella parasuis*.

I fluidi articolari ed il versamento pericardico sono stati sottoposti ad esame colturale per la ricerca di *Mycoplasma spp.* ed alla ricerca di *Glaesserella parasuis* con metodica biomolecolare (PCR).

MHR è stato ricercato inoltre con metodica biomolecolare dai polmoni.



Fig. 1 Quadro anatomopatologico macroscopico di artrosinovite sierofibrinosa con iperplasia e congestione della membrana sinoviale.

L'esame colturale per la ricerca di *Mycoplasma spp.* ha permesso di isolare MHR e MHS rispettivamente da 3 e 2 fluidi articolari sui 9 campionati inizialmente. MHR è stato inoltre isolato da fluido articolare di un soggetto e pericardio di 2 soggetti di 60-80gg di vita, compreso il soggetto con grave pericardite fibrinosa.

In un soggetto di 110-120gg di vita è stata evidenziata una coinfezione da MHR e MHS a livello di liquido articolare del tarso.

La ricerca di *Glaesserella parasuis* mediante PCR ha dato esito negativo in tutti i campioni esaminati (fluidi articolari e versamento pericardico)

Le analisi batteriologiche hanno permesso di isolare *Pasteurella multocida* da due polmoni. Per verificare in modo completo lo stato sanitario dei soggetti conferiti è stata indagata la presenza di virus che possano svolgere il ruolo di fattore predisponente per l'insorgenza o l'esacerbazione di infezioni da microrganismi opportunisti.

Le analisi hanno permesso di accertare la presenza di PRRSV e l'assenza di PCV2 rispettivamente da pool di polmoni e di linfonodi inguinali superficiali.

Porzioni di articolazioni (tarso) dalle quali sono stati isolati MHR o MHR+MHS, sono state sottoposte ad esame istologico, evidenziando una diffusa artrite fibrino-purulenta cronico-attiva, da marcata a grave, associata a tenosinovite linfoplasmacellulare, proliferazione fibrovascolare reattiva, iperplasia e focolai di erosione dei sinoviociti (**Fig. 2**).

Nelle sezioni di pericardio del soggetto prima menzionato (MHR-positivo), si osserva inoltre

una grave pericardite fibrino-purulenta e linfoplasmacellulare cronico-attiva, caratterizzata da marcato ispessimento del pericardio viscerale e parietale ad opera di tessuto fibrovascolare reattivo ed estesi tappeti di piccoli linfociti e plasmacellule.

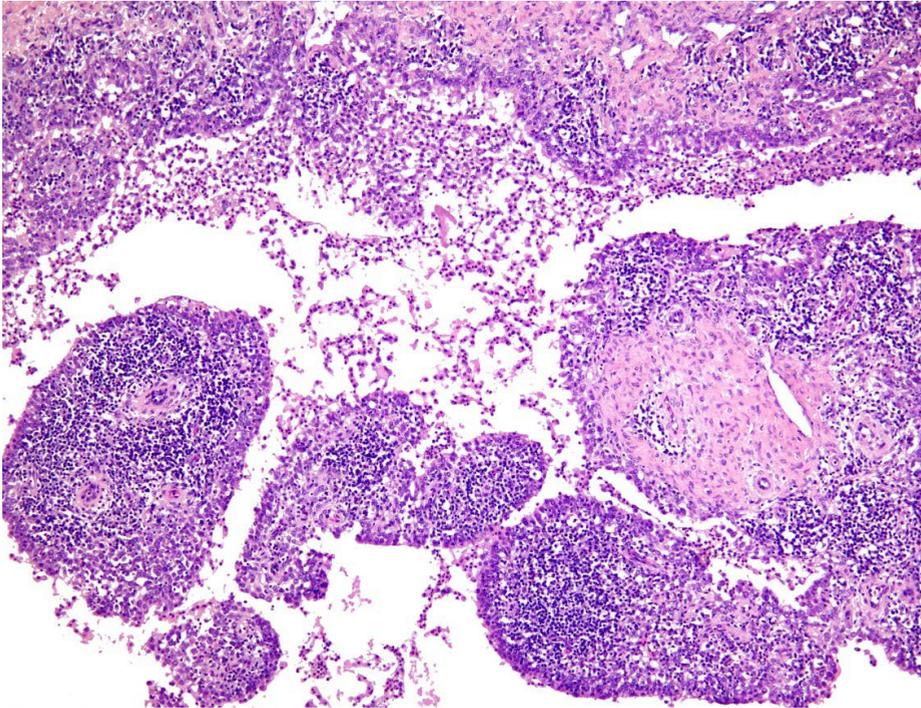


Fig. 2. Immagine istologica di membrana sinoviale (20x). I villi sinoviali sono irregolarmente espansi da un abbondante infiltrato linfoplasmacellulare e da tessuto fibrovascolare reattivo, con iperplasia dei sinoviociti. Si evidenzia inoltre scarso materiale fibrinoso nel lume articolare, frammisto a neutrofilo degenerati, macrofagi schiumosi e sinoviociti esfoliati.

Gli isolati di MHR e MHS sono stati sottoposti a verifica del profilo di antibiotico-sensibilità, mediante determinazione della Minima Concentrazione Inibente (MIC).

Entrambi i microrganismi hanno presentato bassi valori di MIC e sono stati quindi considerati sensibili a Florfenicolo, Lincomicina, Spectinomina, Spiramicina, Tiamulina, Tilmicosina e Tilosina. Entrambi i ceppi hanno presentato valori elevati di MIC nei confronti di Enrofloxacin e Eritromicina: tali antibiotici sono stati quindi considerati resistenti. MHS è risultato inoltre resistente a Ossitetraciclina.

Dato che i suini facevano parte di un circuito *antibiotic-free*, il veterinario aziendale ha optato per il trattamento dei riproduttori con Tiamulina 10gg prima e 10gg dopo il parto al fine di ridurre la carica infettante nella fase sottoscrofa.

I risultati preliminari di tale approccio terapeutico sembrano promettenti, e verranno meglio valutati nel prossimo futuro.

Sarà inoltre valutata la possibilità di utilizzo di un vaccino stabulogeno per gestire la problematica nel lungo termine, con la duplice finalità di ridurre la sintomatologia clinica ed evitare trattamenti per il controllo di tale infezione, riducendo quindi anche il rischio di insorgenza di fenomeni di antimicrobico resistenza.

DISCUSSIONE

MHR e MHS sono riconosciuti come agenti di artrite del suino e sono entrambi considerati come microrganismi ubiquitari nella popolazione suina in tutto il mondo.

MHR è un commensale delle alte vie respiratorie, ma può diffondere in presenza di fattori predisponenti e attraverso meccanismi patogenetici ancora non del tutto conosciuti, determinando polisierosite, artrite, aborto, otite e congiuntivite. Viene segnalato inoltre un suo potenziale ruolo nella *Porcine respiratory disease complex* (PRDC) (3).

Studi recenti hanno identificato MHR come il più frequente microrganismo presente in casi di poliartrite batterica del periodo post-svezzamento nel Nord Italia (4), con un riscontro di MHR nel 61.7% dei casi analizzati.

MHS colonizza primariamente le tonsille, e in questo organo può rimanere persistente determinando la presenza di suini portatori fino all'età adulta. Dalle tonsille, anche in questo caso con meccanismi patogenetici ancora non noti, MHS si localizza a livello articolare determinando artrite generalmente in soggetti in accrescimento di età superiore alle 10 settimane.

Le informazioni disponibili sulla epidemiologia di MHS sono scarse, ma i casi di artrite associati all'isolamento di MHS sembrano aumentati negli anni, anche se non è chiaro se questo sia dovuto ad un reale aumento di prevalenza o al miglioramento delle capacità diagnostiche nei confronti di questo microrganismo (3).

Nella realtà italiana già Moronato et al. (2) nel 2017 avevano descritto un grave episodio di zoppia causata da MHS in un allevamento suino a ciclo chiuso.

Nello studio di Salogni et al. (4) la percentuale di riscontro di MHS è pari al 3% dei casi campionati.

Nell'ambito di un progetto di collaborazione tra laboratori che si occupano di isolamento micoplasmici, finalizzata alla raccolta di ceppi di MHS in diversi Paesi Europei, sono emerse differenze interessanti nella percentuale di isolamento di questo microrganismo, con alcuni Paesi in cui la prevalenza sembrerebbe alta in contrapposizione ad altri, come l'Italia, in cui si ha un minore riscontro della presenza di tale microrganismo. Oltre all'ipotesi legata alle differenti tipologie di allevamento nei diversi Paesi Europei, ne emerge un'altra, ancora da confermare, legata al fatto che il trattamento con molecole attive nei confronti di *Mycoplasma spp.*, effettuato per altre patologie della fase di magronaggio-ingrasso, potrebbe in alcune realtà ridurre la carica di MHS e mascherare la sintomatologia. Questo può determinare in alcune aree una sottostima del problema clinico e di conseguenza una scarsità di dati sulla diffusione di MHS.

I micoplasmici sono classicamente definiti "*fastidious bacteria*" (microrganismi particolarmente esigenti) in quanto la coltura in laboratorio richiede l'utilizzo di condizioni di crescita particolari e tempistiche non paragonabili rispetto all'isolamento dei più comuni batteri di interesse diagnostico. L'isolamento culturale dei micoplasmici è infatti una procedura complessa e *time-consuming*, ma i vantaggi di collezionare ceppi vivi di tali microrganismi sono notevoli. Innanzitutto il ceppo isolato può essere sottoposto a test di antimicrobico-sensibilità al fine di verificare l'appropriatezza del trattamento antibiotico e aiutare il clinico nella scelta oggettiva e consapevole delle molecole antimicrobiche, oltre che monitorare l'insorgenza di fenomeni di resistenza sia a livello di allevamento che di territorio.

La disponibilità di ceppi permette inoltre di poter procedere con studi di caratterizzazione genotipica, utili per comprendere l'epidemiologia dei micoplasmici di interesse per il settore suinicolo, oltre che dare le possibilità di eseguire infezioni sperimentali anche con ceppi di campo, fondamentali per studiarne la patogenesi.

Da ultimo gli isolati di un allevamento potranno anche essere utilizzati per l'allestimento di vaccini stabulogeni, al fine di una gestione delle problematiche infettive più consapevole e

rispettosa dei nuovi obiettivi europei nella logica di una riduzione dell'utilizzo di farmaco ed inserita nel nuovo sistema *One Health*.

MHR e MHS sono considerati patogeni opportunisti; la loro espressione clinica e patogenetica può essere influenzata da fattori predisponenti che, quando presenti, permettono loro di esprimersi dando origine a casi clinici di impatto rilevante per l'allevamento. Nel caso descritto l'assenza di trattamenti antibiotici nella fase produttiva e la circolazione di PRRSV nelle categorie interessate può aver messo in evidenza una forma clinica particolarmente grave e rilevante per la gestione e l'economia aziendale.

Sulla base dei dati recenti su MHR e MHS e delle loro intrinseche caratteristiche si evidenzia l'importanza di mantenere alta l'attenzione al fine di ridurre per quanto possibile il loro adattamento al sistema produttivo italiano e nel contempo di monitorare eventuali variazioni delle espressioni cliniche, sottoponendo campioni appropriati fondamentali per le indagini di laboratorio.

BIBLIOGRAFIA

1. Madson D.M., et al. Nervous and locomotor system. In: Zimmermann JJ et al. eds. Disease of swine. 11th ed. Wiley, 2019: 339-372
2. Moronato, ML., Ustulin, M., Vio, D., Nicholas, RAJ., Catania, S. (2017) Diagnosis and control of a severe outbreak of lameness caused by *Mycoplasma hyosynoviae* in a closed pig unit. *Veterinary Record Case Reports* 5: e000500.
3. Palzer A. et al. *Mycoplasma hyorhinis* and *Mycoplasma hyosynoviae* in pig herds. In: Maes D., et al. eds. *Mycoplasmas in swine*. 1st edition, 2020: 248-265.
4. Salogni C, Capucchio MT, Colombino E, Pozzi P, Pasquali P, Alborali GL. Bacterial polyarthritis in post-weaning pigs in a high-density swine breeding area in Italy. *J Vet Diagn Invest*. 2022 Jul;34(4):709-711.
5. Catania S, Gobbo F, Bilato D, Gagliazzo L, Moronato ML, Terregino C, Bradbury JM, Ramírez AS. Two strains of *Mycoplasma synoviae* from chicken flocks on the same layer farm differ in their ability to produce eggshell apex abnormality. *Vet Microbiol*. 2016 Sep 25;193:60-6.