

IL VIRUS INFLUENZALE SUINO (SIV) E LE PRINCIPALI ASSOCIAZIONI VIRALI, BATTERICHE E DA *MYCOPLASMA*

HYOPNEUMONIAE IN 150 EPISODI DI PATOLOGIA RESPIRATORIA NEL SUINO

M. GRADASSI, E. SOZZI, M. ZANONI, C. SALOGNI, P. CORDIOLI,
L. ALBORALI

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia
e dell'Emilia Romagna, Brescia.*

Parole chiave: Suino; Influenza; PRDC

Key words: Pig; Influenza; PRDC

Riassunto. Il virus dell'influenza suina (SIV) è causa frequente, nella specie, di patologia respiratoria acuta oltre ad essere un importante patogeno che concorre all'eziologia del complesso respiratorio del suino (PRDC). Tale studio retrospettivo ha come obiettivi principali sia quello di indagare la prevalenza di infezione da diversi sottotipi di SIVs in allevamenti del Nord Italia, a partire dai campioni conferiti ai Laboratori Veterinari della Sezione Diagnostica di Brescia, sia di valutare la prevalenza di diversi patogeni in associazione a SIV in episodi di patologia respiratoria. SIV è un agente in grado di determinare da solo un quadro di patologia respiratoria, e tale sua abilità è di considerevole valenza nella eventuale evoluzione del PRDC. La presenza dell'antigene di influenza virus tipo A, determinata attraverso l'ausilio di una RT-PCR, insieme con i segni clinici e/o le lesioni anatomo-patologiche indicativi di patologia respiratoria sono i criteri utilizzati per includere un episodio clinico nella presente indagine. Sono 150 i casi che hanno soddisfatto tali criteri nel periodo di studio. Il virus della PRRS è stato identificato nel 65,3% dei casi, il PCV-2 nel 34%, *Mycoplasma hyopneumoniae* nel 9,3% e gli agenti di pneumopatia batterica o setticemia nel 58,7%.

Abstract. The swine influenza virus (SIV) frequently causes acute respiratory disease in pigs worldwide and is an important pathogen in the porcine respiratory disease complex (PRDC). The purposes of this retrospective survey were to investigate the virologic prevalence of infection with SIV subtypes in North Italy farms, using samples submitted for a diagnosis to the Brescia Veterinary Diagnostic Laboratory, and to examine the prevalence of different pathogens detected in combination with SIV in field cases of respiratory diseases. The influenza virus is a respiratory pathogen able to cause disease by itself and its own ability is of great importance in the evolution of PRDC. The presence of Influenza Virus type A antigen, demonstrated by RT-PCR, together with clinical signs and/or pathological lesions of respiratory disease were taken as criteria to include a case in this survey. A total of 150 cases fulfilled these criteria during the study's period. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus was detected in 65,3% of the cases, PCV-2 in 34%, *Mycoplasma hyopneumoniae* in 9,3% and bacterial pneumonia or septicaemia in 58,7%.

INTRODUZIONE

Il virus dell'influenza suina (*SIV*) è endemico nella popolazione suina mondiale e rappresenta, in tale specie, una causa frequente e primaria di patologia respiratoria. Le infezioni da *SIV* si manifestano comunemente sotto forma di focolai caratterizzati da un quadro respiratorio acuto, a rapida insorgenza ed evoluzione, e da sintomi clinici quali febbre, anoressia, perdita di peso, letargia, scolo nasale ed oculare, tosse e dispnea. L'influenza suina può sfociare in importanti perdite economiche che non si misurano in relazione al tasso di mortalità, generalmente inferiore all' 1%, ma piuttosto in base alla perdita di produttività in termini di riduzione dell'incremento ponderale, perdita di peso e costo dei trattamenti sostenuti.

I virus influenzali di tipo A, membri della famiglia *Orthomyxoviridae*, sono elementi virali pleomorfi a RNA a singola catena, dotati di envelope, distinti in sottotipi virali in base alle caratteristiche antigeniche delle glicoproteine esterne emoagglutinine (H1-H16) e neuroaminidasi (N1-N9). Attualmente sono endemici nella popolazione suina in Europa i tre sottotipi virali H1N1 (classico ed "avian like"), H3N2 (c.d. "human like") ed H1N2 ("human avian reassortant").

La natura dei virus influenzali del suino differisce nelle diverse regioni geografiche ed è in continua evoluzione; questo ha importanti riflessi sulla diagnosi e sul controllo dell'infezione, che non possono quindi prescindere da una continua sorveglianza epidemiologica; è essenziale infatti l'impiego di ceppi specifici quali antigeni per la messa a punto e di vaccini e di strumenti diagnostici (Van Reeth, 2007).

E' noto che il *SIV*, indipendentemente dal sottotipo coinvolto, ha un ruolo attivo e primario nell'evoluzione della patologia respiratoria: è infatti in grado da solo, quale unico agente causale, di determinare una forma clinicamente manifesta. Tale virus è capace di replicare attivamente all'interno delle cellule epiteliali dell'intero tratto respiratorio, quindi a livello della mucosa nasale, delle amigdale, della trachea e dei polmoni. Proprio per tale abilità può essere considerato un "door-opener" per altre infezioni respiratorie batteriche e virali tipiche del suino e si inserisce bene nell'evoluzione di una sindrome respiratoria multifattoriale cronica quale la PRDC (*Porcine Respiratory Disease Complex*). Tale sindrome è manifestazione clinica dell'azione integrata di vari agenti eziologici (*SIV*, *PRRSV*, *PCV2*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Streptococcus suis* ed *Haemophilus parasuis* i principali), oltre ad essere la conseguenza di condizioni ambientali e di strategie manageriali non idonee. La PRDC è quindi spesso sostenuta dall'azione contemporanea e sinergica di agenti sia virali che batterici e si esprime attraverso quadri clinici ed anatomo-patologici complessi e variegati, di difficile diagnosi e risoluzione, con tendenza alla cronicizzazione. Scopo di questo studio retrospettivo è di conoscere l'attuale circolazione dei diversi stipiti di virus influenzale negli allevamenti del Nord Italia; altro obiettivo prefissato, limitatamente ai casi confermati di influenza, è l'esame della prevalenza delle associazioni e delle combinazioni batteriche e virali che possono concorrere insieme con il *SIV* al verificarsi di episodi di PRDC nel nostro Paese.

MATERIALI E METODI

Finestra di studio

Il periodo di osservazione si sviluppa tra il Gennaio 2006 e il Settembre 2008; nel corso di questi 33 mesi, presso la Sede centrale di Brescia dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, sono stati accettati 2253 campioni, in prevalenza carcasse, polmoni e tamponi nasali, con anamnesi di patologia respiratoria.

Influenza viruses

Tutti i campioni sono stati sottoposti a *screening* tramite tecnica *Real Time* RT-PCR genematrice per la ricerca del genoma virale di influenza virus tipo A (Spackman *et al.*, 2002). A partire dalle matrici risultate positive a tale esame (182/2253; 8,1%) si è proceduto all'isolamento virale con le metodiche finalizzate, che prevedono l'inoculazione del campione in:

- coltura cellulare su monostrato di cellule MDCK (*Madin-Darby Canine Kidney*);
- cavità allantoidea di almeno 5 uova embrionate di pollo SPF di 9-11 giorni di età.

In seguito il liquido allantoideo ed il surnatante delle cellule sono stati analizzati con:

- test di emoagglutinazione (HA) per valutare l'attività emoagglutinante del virus;
- metodica immuno-enzimatica ELISA sandwich con Mab anti-NPA.

Da ultimo, è stata portata avanti la determinazione del sottotipo virale isolato per mezzo delle prove di inibizione dell'emoagglutinazione (HI) e di inibizione della neuroaminidasi (NI); quando necessario, il ceppo virale è stato sottotipizzato con l'ausilio di 4 RT-PCR che utilizzano 8 *primers* specifici per amplificare le porzioni dei geni codificanti per H1, H3, N1 e N2 (Chiapponi *et al.*, 2003).

PRDC

Il nostro intento di effettuare l'analisi delle associazioni batteriche e virali ci ha portato a selezionare quali campioni di studio l'insieme dei casi che soddisfino i seguenti requisiti: sintomi clinici e/o lesioni anatomo-patologiche indicativi di problemi respiratori; positività dei campioni alla RT-PCR per Influenza virus tipo A.

La presenza di PRRSV, PCV2 e *Mycoplasma Hyopneumoniae* è stata dimostrata tramite l'utilizzo di tecniche di biologia molecolare: per *Mycoplasma Hyopneumoniae* si è utilizzata una PCR messa a punto a partire dal protocollo descritto da Stakenborg *et al.*, 2006, la quale utilizza una copia di *primer* selezionata in una regione specie-specifica; per PRRSV una reazione *One-Step* RT-PCR *multiplex* con *primers* specifici, descritti da Persia *et al.*, 2001, che permettono di differenziare il genotipo europeo dal genotipo americano; per PCV-2 la metodica PCR, descritta da Larochelle *et al.*, 1999, che amplifica un frammento di DNA di 263 bp.

L'isolamento e l'identificazione di ceppi batterici responsabili di setticemia e/o polmonite batterica è stato possibile per mezzo delle procedure di *routine* di coltura batterica e tipizzazione attualmente in uso presso la Sezione Diagnostica di Brescia.

RISULTATI

Influenza viruses

Le analisi RT-PCR per Influenza virus tipo A delle diverse matrici, quali carcasse, visceri e tamponi nasali, hanno identificato 182 campioni positivi; la distinzione di questi in base alla categoria produttiva di appartenenza, in Tab. 1, mostra che le positività si concentrano in particolare nella fase di svezamento, che raccoglie il 54,4 % dei campioni totali positivi.

Categoria produttiva	N° campioni SIV +	SIV + (%)
Svezamento	99	54,4
Magronaggio	46	25,3
Ingrasso	13	7,1
Sottoscrofa	13	7,1
Scrofetta	1	0,5
Non noto	10	5,5
TOTALE	182	100

Tabella 1: Distribuzione dei campioni SIV + in funzione della categoria produttiva di appartenenza.

Tali campioni provengono da un totale di 131 allevamenti suini (Tab. 2), per la maggior parte da riproduzione (36,6 + 16 = 52,6% delle aziende), con netta prevalenza del sistema a ciclo aperto (36,6%) rispetto al ciclo chiuso (16%):

Tipologia Aziendale	N° Allevamenti SIV +	SIV + (%)
Riproduzione_ciclo_aperto	48	36,6
Ingrasso_finissaggio	30	22,9
Riproduzione_ciclo_chiuso	21	16
Ingrasso_svezamento	8	6,1
Ingrasso_magronaggio	2	1,5
Non noto	22	16,8
TOTALE	131	100

Tabella 2: Numero di allevamenti e tipologie aziendali SIV +.

A partire dalle positività in PCR si è giunti alla sottotipizzazione di 81 ceppi virali circolanti in 68 aziende del territorio; in particolare (Tab. 3) H1N1 è stato isolato in 28 aziende (41,2%), H3N2 in 22 aziende (32,4%) ed H1N2 in 7 aziende (10,3%). E' possibile la circolazione di più ceppi virali all'interno della stessa unità produttiva: l'associazione H1N1-H3N2, dimostrata in 6 aziende (8,8%), risulta la più rappresentata:

Sottotipo virale	N° Aziende SIV +	SIV + (%)
H1N1	28	41,2
H3N2	22	32,4
H1N2	7	10,3
H3	1	1,5
N1	1	1,5
H1N1 + H1N2	2	2,9
H1N1 + H3N2	6	8,8
H1N2 + H3N2	1	1,5
TOTALE	68	100

Tabella 3: risultati della sottotipizzazione dei virus influenzali isolati.

Visualizziamo di seguito, in Fig. 1, la distribuzione geografica delle diverse aziende del territorio con dimostrata circolazione di ceppi influenzali e di associazioni virali:

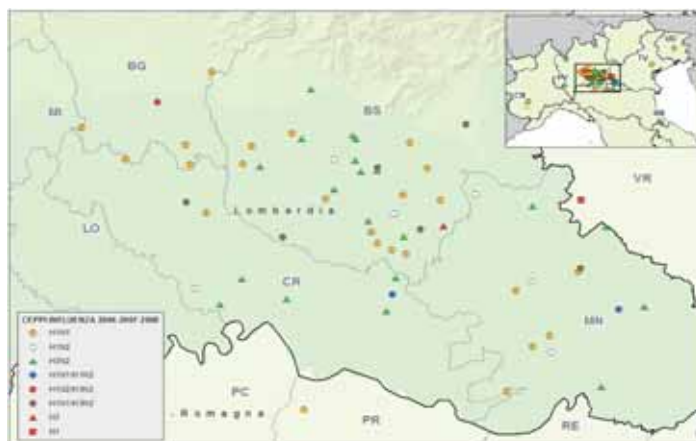


Figura 1: distribuzione geografica delle aziende suinicole con dimostrata circolazione dei sottotipi influenzali tipici del suino.

PRDC

All'interno del periodo di indagine, 150 casi di patologia respiratoria soddisfacevano i requisiti stabiliti quali premesse allo studio. Di questi, 85 (56,6%) si presentavano con lesioni anatomopatologiche tipiche dell'influenza suina: tracheobronchite catarrale e/o focolai ben demarcati di consolidamento lobulare o lobare, di colore dal rosso-porpora al grigio, localizzati a livello dei lobi cranio ventrali dei polmoni (Quadro A). In sovrapposizione alle lesioni tipiche (nel 33,9% dei casi) o in sostituzione ad esse (nel 28,1% dei casi) si aggiungevano i seguenti quadri: pleuropolmonite o polisierosite (42,1%; Quadro D), forme interstiziali di polmonite (24,7%; Quadro B), congestione polmonare (11,4%; Quadro C). In 13 casi (8,7%) non erano state apprezzate lesioni macroscopiche rilevanti (Quadro E). In Tab. 4 sono riportati i quadri anatomico-patologici e le rispettive combinazioni:

Tabella 4: principali quadri anatomopatologici osservati negli episodi di patologia respiratoria.

	Quadri tipici e complicati								
	A	A+D	A+B	A+B+D	A+C	A+C+D	A+B+C+D		
N° di Casi	34	25	11	11	2	1	1		
% Casi	22,7	16,7	7,3	7,3	1,3	0,7	0,7		
	Quadri non tipici								
	B	C	D	E	C+D	B+C	B+D	B+C+D	Non noto
N° di Casi	8	6	19	13	3	3	2	1	10
% Casi	5,3	4,0	12,7	8,7	2,0	2,0	1,3	0,7	6,7

Didascalia: Quadro A: tracheobronchite catarrale e-o epatizzazione rosso-grigia ai lobi apicali polmonari; Quadro B: polmonite interstiziale; Quadro C: congestione polmonare; Quadro D: pleuropolmonite o polisierosite; Quadro E: assenza di lesioni.

I dati presentati in Figura 2 mostrano la distribuzione dei casi sulla base delle diverse associazioni batteriche o virali intercorse. In 123 episodi (82%) il virus dell'influenza suina è associato ad altri agenti di patologia respiratoria. La copresenza di SIV + PRRSV + Batteri è la combinazione più comune con 32 casi (21,3%). Seguono in ordine decrescente di prevalenza altre coinfezioni: SIV + PRRSV + PCV-2 + Batteri (28 casi; 18,7%), SIV + PRRSV (17 casi; 11,3%), SIV + Batteri (14 casi; 9,3%), SIV + PRRSV + PCV-2 (9 casi; 6%), SIV + PCV-2 (7 casi; 4,7%), SIV + PRRSV + PCV-2 + *M. hyopneumoniae* + Batteri (4 casi; 2,7%), SIV + PRRSV + *M. hyopneumoniae* (2 casi; 1,3%), SIV + PCV-2 + Batteri (2 casi; 1,3%); SIV + *M. hyopneumoniae* + Batteri (1 caso; 0,7%) e SIV + PCV-2 + *M. hyopneumoniae* + Batteri (1 caso; 0,7%). Sono solo 27 (18%) gli episodi in cui è stata confermata una infezione da Influenza virus non associata ad altri agenti eziologici.

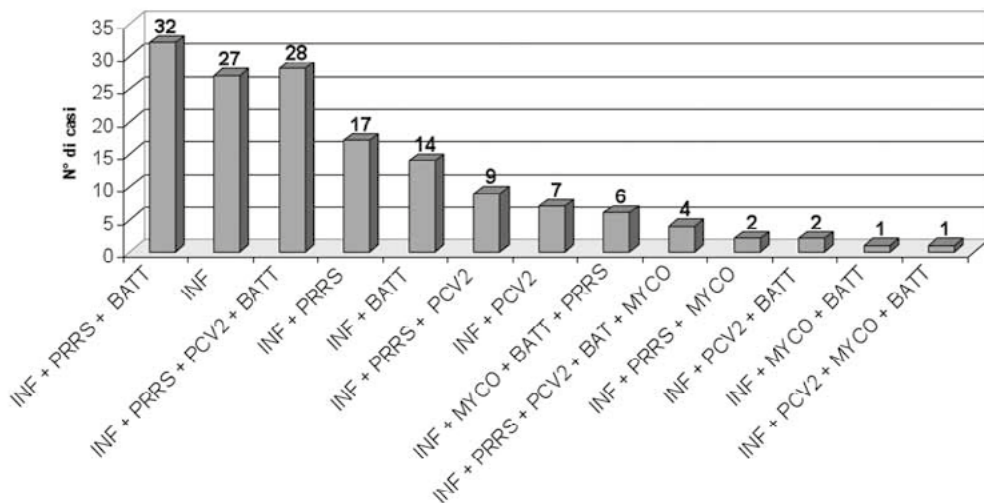


Figura 2: numero di casi di patologia respiratoria per le diverse combinazioni di patogeni associate a SIV.

Quindi la prevalenza complessiva dell'associazione con SIV (Tab. 5) è del 65,3% per PRRSV (98 casi), del 58,7% per agenti batterici (88 casi), del 34% per PCV-2 (51 casi), e del 9,3% per *M. hyopneumoniae* (14 casi). Per quanto concerne l'associazione SIV + PRRSV, è bene specificare che in 94 casi (95,9%) è stato identificato il PRRSV ceppo europeo, in 2 casi il solo ceppo americano ed infine nei rimanenti 2 casi entrambi i ceppi, americano ed europeo.

Tabella 5: numero di casi in cui SIV si associa ad un altro agente patogeno, batterico o virale.

	Associazioni batteriche e virali			
	SIV + PRRSV	SIV + BATTERI	SIV + PCV-2	SIV + <i>M. hyopneumoniae</i>
N° di Casi	98	88	51	14
% Casi	65,3	58,7	34	9,3

La coinfezione del virus influenzale con batteri primari e secondari di patologia respiratoria, presente nel 58,7% dei casi analizzati, viene illustrata in Figura 3:

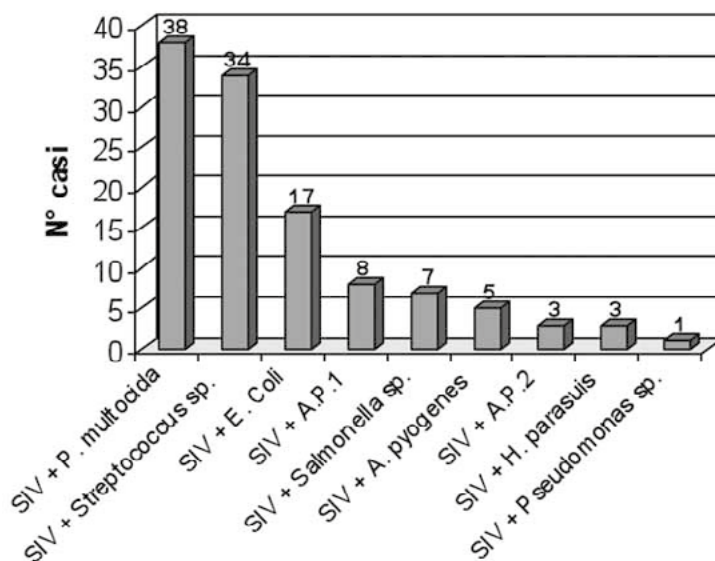


Figura 3: numero di casi con coinfezione SIV + agenti batterici.

Complessivamente, la più alta prevalenza spetta all'associazione SIV + *Pasteurella multocida* (38 casi; 25,3%) alla quale seguono in ordine decrescente: *Streptococcus* sp., che è stato isolato in 34 casi (22,7%) e tipizzato in 19 nelle sierovarianti *Streptococcus suis* sierotipo 2 (8 casi), *Streptococcus dysgalactiae* (6 casi) e *Streptococcus pyogenes*

(5 casi) (Tab. 6); *E. Coli* (17 casi; 11,3%) (Tab. 6); *Actinobacillus pleuropneumoniae* biotipo 1 (8 casi; 5,3%) (Tab. 6); *Salmonella sp.* (7 casi; 4,7%) nelle *serovars choleraesuis* (3), *typhimurium* (2), *thompson* (1) e *livingstone* (1) (Tab. 6); *Actinomyces pyogenes* (5 casi; 3,3%); *Actinobacillus pleuropneumoniae* biotipo 2 e *Haemophilus parasuis* (3 casi; 2%); *Pseudomonas sp* (1 caso; 0,7%).

Tabella 6: risultati delle tipizzazioni degli isolati batterici del Gen. Streptococcus, Salmonella ed Escherichia.

Gen. Streptococcus	N° isolati
<i>Streptococcus suis</i> sierotipo 2	8
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	6
<i>Streptococcus pyogenes</i>	5
<i>Streptococcus sp.</i>	15
Gen. Salmonella	N° isolati
<i>Salmonella choleraesuis</i>	3
<i>Salmonella typhimurium</i>	2
<i>Salmonella thompson</i>	1
<i>Salmonella livingstone</i>	1
Gen. Escherichia	N° isolati
<i>Escherichia Coli</i>	14
<i>Escherichia Coli emolitico</i>	3

Nell'evoluzione dello stesso episodio respiratorio, si è dimostrata frequente la sovrapposizione a SIV di 2 e talvolta 3 agenti batterici (Fig. 4): SIV + *Pasteurella multocida* + *Streptococcus sp.* (7 casi; 8%) è la predominante.

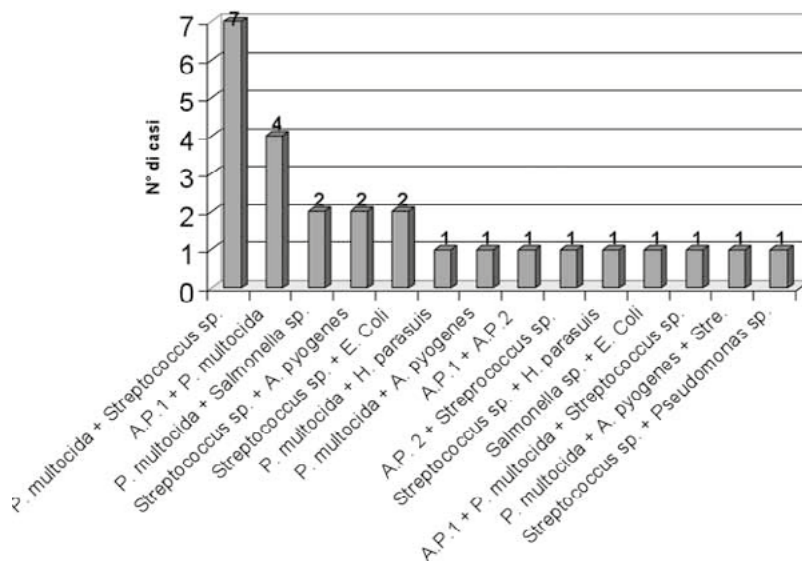


Figura 4: numero di casi in cui SIV si associa a 2 o 3 agenti batterici

DISCUSSIONE

Influenza viruses

I dati presentati, in sintonia con precedenti indagini virologiche (Luppi *et al.*, 2007; Barigazzi e Donatelli, 2003), confermano l'attuale presenza negli allevamenti del Nord Italia dei tre sottotipi virali H1N1, H3N2 e H1N2, in ordine di prevalenza. L'infezione da influenza virus interessa prevalentemente la categoria produttiva dello svezzamento (54,4%) ed il sistema di allevamento da riproduzione a ciclo aperto (36,6%). Tale tipologia aziendale risulta epidemiologicamente più a rischio in quanto *SIV* può fare il suo ingresso in allevamento attraverso l'introduzione di capi infetti; la stessa rappresenta poi, grazie alla continua disponibilità di giovani suini, suscettibili all'infezione, e di nuovi riproduttori, un ecosistema ideale alla circolazione ed al mantenimento di tale virus (Brown, 2000).

PRDC

La significativa presenza, pari all' 82%, di vari agenti patogeni nei casi esaminati di patologia respiratoria *SIV*-associata, avvalorata l'ipotesi che il virus dell'influenza suina possa ricoprire un ruolo protagonista nell'evoluzione della sindrome PRDC. Lo studio del meccanismo patogenetico proprio di tale virus è utile a meglio comprendere i fenomeni di interazione e di sinergia che possono intercorrere fra *SIV* ed altri microrganismi; il *SIV* replica all'interno delle cellule dell'intero tratto respiratorio, prevalentemente a livello dell'epitelio bronchiale e bronchiolare, causando processi di degenerazione e necrosi delle cellule epiteliali. L'evoluzione successiva in una pneumopatia *SIV*-indotta è subordinata al realizzarsi di diverse condizioni, fra cui importante evento iniziale è l'infezione a carico della mucosa delle porzioni distali delle vie respiratorie (Jung *et al.*, 2002), cui faccia seguito una massiva replicazione del *SIV* a livello del parenchima polmonare. L'entità di tale fase replicativa sembra determinante poiché regola la capacità chemiotattica e la conseguente liberazione di mediatori dell'infiammazione quali IFN- α , TNF- α , IL-1 ed IL-6: sono tali citochine infatti le principali responsabili dei danni a carico del parenchima polmonare (Van Reeth, 2007). Alcuni autori suggeriscono poi che il *SIV* possa infettare e distruggere i macrofagi polmonari e di conseguenza portare ad una riduzione della *clearance polmonare* (Jung *et al.*, 2002).

L'azione patogena *SIV*-associata a carico delle prime vie respiratorie può tradursi in una spiccata disponibilità dei soggetti colpiti all'ingresso di nuovi agenti patogeni; dunque, l'influenza suina in combinazione con altri agenti e attraverso un processo di addizione, complementarietà o sinergia dei meccanismi patogenetici coinvolti può dar luogo ad un quadro respiratorio più prolungato e ad un tasso di mortalità più alto rispetto a quanto normalmente si osserva in episodi respiratori non complicati.

A partire dai nostri dati, si ricava che il **PRRSV**, uno dei virus da sempre più comunemente coinvolti in episodi di PRDC, rappresenta l'agente eziologico che più di altri coesiste con il *SIV* (65,3% dei casi). Tale associazione, che comprende spesso anche complicazioni batteriche (21,3%), fornisce un esempio di complementarietà dei meccanismi patogenetici: se da un lato infatti il virus dell'influenza suina replica

prevalentemente a livello dell'epitelio bronchiale e bronchiolare, e solo in minor grado all'interno dei pneumociti e dei macrofagi alveolari (Vincent *et al.*, 1997), dall'altro il PRRSV seleziona proprio tali elementi cellulari quali siti di replicazione primaria portando alla sostituzione degli stessi con cellule immature del tutto incapaci di contenere eventuali infezioni batteriche. Di conseguenza l'azione integrata di tali virus apre con facilità la strada ad infezioni batteriche secondarie; viene a tale proposito confermata sperimentalmente da alcuni autori una maggiore suscettibilità di soggetti PRRS positivi alla colonizzazione polmonare da parte di *Streptococcus suis sierotipo 2* (Thanawongnuwech *et al.*, 2000); è interessante notare che nella nostra casistica ben 26 ceppi di *Streptococcus sp.*, sui 34 totali, sono stati isolati da soggetti PRRSV e SIV positivi (dati non riportati). Anche in assenza di complicazioni batteriche, come dimostrato da Van Reeth *et al.*, 1996, la coinfezione SIV-PRRSV può assumere un carattere di sinergia.

Meno rappresentato risulta il binomio SIV + **PCV-2**; questo infatti intercorre nel 34% dei casi, e spesso in concomitanza con il virus della PRRS e con agenti batterici. Dalla letteratura ci è noto che nell'evoluzione del complesso respiratorio l'azione del PCV-2 è spesso associata a SIV, PRRSV e *Mycoplasma hyopneumoniae* (Ellis *et al.*, 2004); in tali casi la presenza del PCV-2 si può considerare indipendente dalla diagnosi di PMWS e si manifesta con quadri di broncopolmonite interstiziale granulomatosa (Opriessnig *et al.*, 2007). Una infezione da influenza virus può rappresentare uno stimolo importante alla replicazione del PCV-2, poichè il ciclo replicativo di quest'ultimo è tipicamente subordinato al processo di divisione cellulare (Steiner *et al.*, 2008); tale processo mitotico viene infatti stimolato dall'azione di altri agenti di patologia respiratoria, come il SIV, in grado di causare la morte cellulare e di promuovere la successiva rigenerazione tessutale.

La nostra indagine solo nel 9,3 % dei casi ha registrato la contemporanea positività in PCR per Influenza virus e per **Mycoplasma hyopneumoniae**, nonostante il ruolo primario di quest'ultimo in episodi di PRDC e la condivisione con SIV degli stessi tessuti bersaglio: *Mycoplasma hyopneumoniae* infatti colonizza la superficie luminale delle cellule epiteliali bronchiali e bronchiolari, aderisce alle ciglia dell'epitelio provocando ciliostasi, perdita delle ciglia ed effetto citopatico (Kwon *et al.*, 2002; Young *et al.*, 2000). E' di particolare interesse, al fine di interpretare tale bassa prevalenza, quanto risulta da uno studio sperimentale condotto da Thacker *et al.*, 2001: tali autori evidenziano, in caso di coinfezione SIV-M. *hyopneumoniae*, la mancanza di quegli aspetti di interazione tipicamente osservati tra *Mycoplasma* ed altri virus, quali PRRSV e PCV-2; *Mycoplasma* ed il virus dell'influenza suina sembrano agire indipendentemente l'uno dall'altro, provocando lesioni relativamente transitorie e percorrendo la propria evoluzione patogenetica in assenza di un effetto di potenziamento reciproco.

L'infezione simultanea da influenza virus e **batteri**, spesso descritta in letteratura, viene ampiamente confermata dalla presente ricerca: SIV coincide con l'isolamento di agenti batterici, setticemici e non, nel 58,7 % degli episodi respiratori. Il virus dell'influenza infatti non solo facilita l'ingresso di tali microrganismi ma è in grado anche di potenziare l'abilità patogenetica di alcuni batteri, in particolare di *Pasteurella multocida* e di *Streptococcus suis sierotipo 2*. Tale rapporto sinergico assume poi carattere di reciprocità quando SIV si accompagna a microrganismi come *Streptococcus pyogenes* (Mancini *et al.*, 2005) e *Streptococcus suis tipo 2* (Wang e Lu., 2008),

batteri questi in grado di produrre proteasi extracellulari con un ruolo attivo nel clivaggio dell'emoagglutinina virale; ciò che porta ad un incremento della capacità infettante del virus influenzale. A ragione di quanto appena descritto e dell'alta prevalenza sia di *Pasteurella multocida* (25,3%) che di *Streptococcus sp.* (22,7%) riteniamo che il ruolo di tali agenti patogeni nell'evoluzione del complesso respiratorio del suino non debba essere sottostimato.

La co-infezione *SIV-Escherichia Coli* è stata osservata in 17 casi di patologia respiratoria (11,3%) nelle fasi di inizio svezzamento e sottoscrofa (dati non riportati): è infatti durante tale periodo produttivo che alcuni patotipi del batterio possono essere causa di setticemia primaria o secondaria, di polisierosite, di danni polmonari endotossine- e citotossine-dipendenti.

Sono risultate infine meno frequenti, in combinazione con *SIV*, altre forme setticemiche di polmonite batterica, nello specifico da *Salmonella sp.*, *Actinomyces pyogenes* e *Haemophilus parasuis*. Sporadici anche gli episodi di pleuropolmonite da *Actinobacillus pleuropneumoniae*: non sono attualmente note infatti associazioni batteriche o virali che predispongano ad APP (Serrano-Rubio *et al.*, 2008) o che abbiano effetto sull'evoluzione delle lesioni APP-indotte (Pol *et al.*, 2007; Van Reeth *et al.*, 1996).

CONCLUSIONI

Ad oggi sono pochi i lavori scientifici che indagano la prevalenza ed il ruolo di *SIV* in episodi di PRDC, dunque i casi di co-infezione ed i meccanismi di interazione con altri agenti patogeni. Data la natura endemica di *SIV* nella popolazione suina mondiale ed il ruolo primario dello stesso quale patogeno respiratorio, è auspicabile uno sforzo maggiore attraverso studi retrospettivi e prospettivi volti a meglio comprendere il peso che tale agente virale può assumere nell'evoluzione del complesso respiratorio del suino.

Bibliografia:

1. Barigazzi G., Donatelli I. (2003): *Swine influenza* in Italy. *Veterinary Research Communication*, **27**: 93-99.
2. Brown I.H. (2000): The epidemiology and evolution of *influenza viruses* in pigs. *Vet. Microbiology*, **74**: 29-46.
3. Chiapponi C., Fallacara F., Foni E. (2003): Subtyping of H1N1, H1N2 and H3N2 *swine influenza viruses* by two multiplex RT-PCR. In: *Proceedings of the 4th International Symposium on emerging and re-emerging Pig Diseases*, Rome, Italy, p.257.
4. Ellis J., Clark E., Haines D., West K., Krakowka S., Kennedy S., Allan G.M. (2004): Porcine circovirus-2 and concurrent infections in the field. *Veterinary Microbiology*, **98**: 159-163.
5. Jung T., Choi C., Chae C. (2002): Localization of *Swine Influenza Virus* in naturally infected Pigs. *Vet. Pathol.*, **39**: 10-16.
6. Kwon D., Choi C., Chae C. (2008) : Chronologic localization of *Mycoplasma hyopneumoniae* in experimentally infected pigs. *Vet. Pathol.*, **39**: 584-587.
7. Larochelle R., Antaya M., Morin M., Magar R. (1999): Typing of porcine circovirus in clinical specimens by multiplex PCR. *Journal of Virological Methods*, **80**: 69-75.
8. Luppi A., Barbieri I., Moreno A.M., Lelli D., Sozzi E., Zanoni M.G., Fiorentini L., Alborali L., Cordioli P. (2007): Caratterizzazione genetica delle emoagglutinine e neuroaminidasi di virus influenzali suini circolanti nel Nord Italia nel periodo 1998-2006. *Atti Sipas* , XXXIII, 231-242.
9. Mancini D.A.P., Mendonca R.M.Z; Dias A.L.F, Mendonca R.Z., Pinto J.R. (2005): Co-infection between *influenza virus* and flagellated bacteria. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, **47**: 275-280.
10. Opriessnig T., Meng X.J., Halbur P.G. (2007): Porcine circovirus type 2-associated disease: Update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. *J.Vet. Diagn. Invest.*, **19**: 591-615.
11. Persia D., Pacciarini M.L., Cordioli P., Sala G. (2001): Evaluation of three RT-PCR assays for the detection of porcine and respiratory syndrome virus (PRRSV) in diagnostic samples. In: *Proceedings of the X International Symposium of Veterinary Laboratory Diagnosticians*, Salsomaggiore-Parma, Italy, p. 440-441.
12. Pol J.M., Van Leengoed L.A., Stockhofe N., Kok G., Wensvoort G. (1997): Dual infections of PRRS/*influenza* or PRRSV/*Actinobacillus pleuropneumoniae* in the respiratory tract. *Vet. Microbiol.*, **55**: 259-264.
13. Serrano-Rubio Luis E., Tenorio-Gutiérrez V., Suarez-Guemes F., Reyes-Cortes R., Rodriguez-Mendiola M., Arias-Castro C., Godinez-Vargas D., de la Garza M., (2008): Identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae* biovars 1 and 2 in pigs using a PCR assay. *Molecular and Cellular Probes*, **22**: 305-312.
14. Spackman E., Senne D.A., Myers T.J., Bulaga L.L., Garber L.P., Perdue M.L., Lohman K., Daum L.T., Suarez D.L. (2002): Development of a real-time

- reverse transcriptase PCR assay for type *A influenza virus* and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes. *J. Clin. Microbiol.*, **40**: 3256-3260.
15. Stakenborg T., Vicca J., Butaye P., Imberechts H., Peeters J., de Kruif A., Haesebrouck F., Maes D. (2006): *A multiplex PCR to identify porcine mycoplasmas present in broth cultures. Veterinary Research Communications*, **30**: 239-247.
 16. Steiner E., Balmelli C., Herrmann B., Summerfield A., McCullough K. (2008): Porcine circovirus type 2 displays pluripotency in cell targeting. *Virology*, **378**: 311-322.
 17. Thacker E.L., Thacker B.J., Janke B.H. (2001): Interaction between *Mycoplasma hyopneumoniae* and *swine influenza virus*. *J. Clin. Microbiol.*, **39**: 2525-2530.
 18. Thanawongnuwech R., Brown G.B., Halbur P.G., Roth J.A., Royer R.L., Thacker B.J. (2000): Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced increase in susceptibility to *Streptococcus suis* infection. *Vet. Pathol.*, **37**:143-152.
 19. Van Reeth K. (2007): Avian and *swine influenza viruses*: our current understanding of the zoonotic risk. *Vet. Res.*, **38**: 243-260.
 20. Van Reeth K., Nauwynck H., Pensaert M. (1996): Dual infection of feeder pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus followed by > porcine respiratory coronavirus or *swine influenza virus*: a clinical and virological study. *Veterinary Microbiology*. **48**: 325-335.
 21. Vincent L., Janke B., Paul P., Halbur P. (1997): A monoclonal-antibody-based immunohistochemical method for the detection of *swine influenza virus* in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **9**: 191-195.
 22. Wang K., Lu C. (2008): *Streptococcus suis* type 2 culture supernatant enhances the infection ability of the *Swine Influenza virus* H3 subtype in MDCK cells. *Berl. Munch. Tierartzi Wochenschr.*, **121**: 198-202.
 23. Young T.F., Thacker E.L., Erickson B.Z., Ross R.F. (2000): A tissue culture system to study respiratory epithelial adherence of selected swine *mycoplasmas*. *Vet. Microbiol.*, **71**: 269-279.