

INFLUENZA SUINA: PROFILI SIEROLOGICI IN ANIMALI VACCINATI DI ALLEVAMENTI DEL NORD ITALIA

SWINE INFLUENZA: SEROLOGICAL RESPONSES IN VACCINATED PIGS IN ITALIAN HERDS

FONI E.¹, ARIOLI E.², BONGIOVANNI E.², BRESAOLA M.³, CODATO A.²,
DONNA R.², FACCENDA M.⁴, FRUTTERO F.⁴, GAMBA F.², GIORGIUTTI M.⁵,
SALVINI F.², ZIZIOLI B.², LEOTTI G.⁶, MERDY O.⁷, VILA T.⁷,
JOISEL F.⁷, OSTANELLO F.⁸

¹*Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna,
sezione di Parma, Italy;*

²*Veterinario libero professionista, Lombardia, Italy;*

³*Veneto, Italy;*

⁴*Piemonte, Italy;*

⁵*Friuli V.G., Italy;*

⁶*MERIAL SpA, Milano, Italy;*

⁷*MERIAL SAS, Lyon, France;*

⁸*Dip. Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna, Italy*

Parole chiave: virus influenzale suino (SIV), vaccinazione, profili sierologici

Key words: swine influenza virus (SIV), vaccination, serological responses

Riassunto

Nel corso del 2013 è stato eseguito uno studio sull'andamento temporale degli anticorpi nei confronti dei sottotipi H1N1, H3N2 e H1N2 del virus dell'influenza suina (SIV) in soggetti allevati in 11 aziende e immunizzati nei confronti di SIV con un vaccino trivalente inattivato. In ciascuna azienda sono stati selezionati tre gruppi di animali: un primo gruppo è stato vaccinato a 70-90 giorni di vita, con richiamo a distanza di quattro settimane e a circa 180 giorni di vita, con un vaccino trivalente nei confronti di SIV e con un vaccino nei confronti della malattia di Aujeszky (ADV), mediante inoculazione i.m. in due punti diversi. Un secondo gruppo è stato vaccinato, con la stessa tempistica, utilizzando una miscela dei due vaccini somministrata i.m. nello stesso punto di inoculo. Il terzo gruppo di animali è stato vaccinato solo nei confronti di ADV come tutti gli altri suini presenti nell'allevamento (gruppo di controllo). È stato effettuato un prelievo ematico da tutti gli animali appartenenti ai tre gruppi prima della vaccinazione, quattro settimane dopo il richiamo, in concomitanza con il terzo intervento vaccinale a 180 giorni di vita e prima dell'invio alla macellazione. I sieri sono stati analizzati per la ricerca di anticorpi nei confronti dei sottotipi H1N1, H3N2 e H1N2 mediante inibizione dell'emoagglutinazione. La vaccinazione nei confronti di SIV ha determinato un incremento significativo dei titoli anticorpali nei soggetti vaccinati rispetto a quelli di controllo. Tale differenza è stata riscontrata anche nelle aziende nelle quali è stato possibile, su base sierologica, ipotizzare la circolazione di SIV. La conferma virologica si è avuta soltanto in una azienda nella quale sono stati riscontrati evidenti sintomi respiratori. Le diverse modalità di somministrazione della vaccinazione non hanno determinato differenze significative nella risposta anticorpale.

Abstract

Serological responses of pigs vaccinated or not vaccinated with a commercial inactivated influenza vaccine containing H1N1, H3N2 and H1N2 strains, were compared in 11 farms in Northern Italy during 2013, to evaluate vaccine serological efficacy under current field conditions. In each farm two groups of 12-14 pigs were vaccinated against swine influenza virus (SIV) concomitantly to vaccination against Aujeszky Disease virus (ADV): twice before turn-to-fattening (70-90 days of age and 4 weeks later) and at 180 days of age, during fattening. One group received separated injections of the two vaccines and one group was vaccinated following dilution of the ADV vaccine dry pellet in the SIV vaccine. A third group of 12-14 pigs (controls) was also included in the study and were vaccinated only with ADV vaccine at the same dates as the other pigs of the flow. Blood samples were roughly collected at around 70-90, 130-150, 180-210 and 250 days of age (just before slaughter) for antibody titration against recent Italian SIV subtypes H1N1, H3N2, and H1N2 by inhibition of hemagglutination test. The vaccination appeared capable of inducing a significant antibody response against the SIV strains circulating in Italy. No clear difference was found in SIV antibody titers whatever the vaccination protocol.

INTRODUZIONE

I virus influenzali appartengono alla Famiglia *Orthomyxoviridae* e possiedono un genoma a RNA composto da 8 segmenti che codificano 10 proteine virali. Particolare interesse rivestono due glicoproteine: l'emoagglutinina (H) e la neuroaminidasi (N). In base alle caratteristiche di queste due proteine di superficie è possibile distinguere 17 tipi H e 9 tipi N. La particolare conformazione segmentata del genoma determina, tramite acquisizione di mutazioni puntiformi ed eventi di riassortimento di intere porzioni di genoma virale, una elevata variabilità antigenica e genetica del virus influenzale che comporta la circolazione di varianti a diffusione endemica ma anche di virus reassortanti che possono acquisire connotati di diffusione epidemica e pandemica. Il virus dell'influenza suina (SIV) è endemico nella popolazione suina mondiale e, indipendentemente dal sottotipo coinvolto, ha un ruolo primario come causa di patologia respiratoria. I focolai clinici di influenza sono frequentemente caratterizzati da un quadro respiratorio acuto, a rapida insorgenza ed evoluzione. La letalità è in genere contenuta (inferiore all'1%), ma le perdite economiche possono essere gravi in conseguenza della perdita di peso dei soggetti colpiti, della riduzione dell'incremento ponderale e del costo dei trattamenti terapeutici delle eventuali complicanze batteriche. I diversi sottotipi di SIV sono in continua evoluzione e la loro distribuzione differisce nelle diverse regioni geografiche; ciò ha importanti ripercussioni sulla diagnosi e sul controllo dell'infezione.

Nella popolazione suina europea si è stabilizzata negli anni la circolazione di SIV appartenenti ai sottotipi "avian like" H1N1, "human-like" H1N2 e "human-like" H3N2. Nei diversi Paesi europei si rilevano tuttavia differenze significative per quanto riguarda l'incidenza dei diversi sottotipi (Van Reeth et al., 2008); a decorrere dal 2009 viene monitorata la circolazione del virus pandemico H1N1 e recentemente anche dei suoi reassortanti (Brown, 2013). Nell'ambito degli allevamenti suinicoli italiani, alla stabilizzata circolazione dei sottotipi "avian like" H1N1 e "human-like" H3N2, documentata sin dai primi anni '80, si è affiancata a partire dal 1998 la circolazione del sottotipo "human-like" H1N2. Negli ultimi anni il sottotipo "human-like" H1N2, oltre che raggiungere un'incidenza superiore rispetto agli altri sottotipi, ha assunto connotati più vicini al virus influenzale umano per quanto riguarda le caratteristiche genetiche

della glicoproteina N (Foni et al., 2010, Moreno et al., 2012).

Gli strumenti per contrastare la diffusione della infezione da SIV all'interno degli allevamenti sono rappresentati da misure di profilassi diretta e indiretta. Le misure di profilassi diretta e di biosicurezza giocano un ruolo cruciale nel limitare la diffusione di SIV tuttavia, da sole, non sono in grado di prevenire efficacemente l'infezione (Andreasen et al., 2000). La vaccinazione rappresenta quindi lo strumento di profilassi indiretta più efficace per ridurre l'incidenza della patologia. Attualmente sono disponibili commercialmente vaccini a virus intero inattivato e addizionati di adiuvante; per il loro allestimento vengono utilizzati i soli sottotipi H1N1 e H3N2 di SIV o, nel caso dei vaccini trivalenti, anche il sottotipo H1N2. Vaccini a base di proteine ricombinanti, vaccini attenuati e vaccini a DNA, pur essendo stati sperimentati, non sono ad oggi mai stati commercializzati.

Il presente lavoro ha avuto come obiettivo la valutazione, in condizioni di campo, della risposta sierologica nei confronti dei sottotipi H1N1, H3N2 e H1N2 del virus influenzale in soggetti sottoposti a trattamento vaccinale con vaccino inattivato trivalente.

MATERIALI E METODI

Selezione degli allevamenti e degli animali

La valutazione è stata condotta in 11 aziende del nord Italia (9 a ciclo chiuso con strutture multi-sito e una a ciclo chiuso in unico sito, con un numero di scrofe compreso tra 300 e 1000; un allevamento che ingrassa suini da ristallo provenienti dalla Danimarca). In precedenza, in nessun allevamento erano in atto piani vaccinali contro l'influenza nei suini destinati all'ingrasso. In ciascuna azienda sono stati selezionati in modo casuale 36-40 suini destinati all'ingrasso di età compresa tra le 10 e 14 settimane di vita. All'interno di ciascun allevamento, gli animali selezionati sono stati identificati individualmente mediante l'applicazione di marche auricolari e distribuiti in 3 gruppi (A, B, C) di pari numerosità stabulati nei medesimi ambienti.

Vaccinazioni

I soggetti del gruppo A (gruppo di controllo) sono stati vaccinati i.m., a circa 70-90 giorni di vita con un vaccino vivo-attenuato contro la malattia di Aujeszky (AKIPOR®, Merial, Lione, Francia); le vaccinazioni successive sono state effettuate dopo 4 settimane dal primo intervento e a circa 6-7 mesi di vita.

I suini del gruppo B sono stati inoculati i.m., a circa 70-90 giorni di vita, con lo stesso vaccino contro la malattia di Aujeszky utilizzato per il gruppo A e con un vaccino nei confronti di SIV (GRIPOVAC® 3, Merial, Lione, Francia); le vaccinazioni successive sono state effettuate dopo 4 settimane dal primo intervento e a circa 6-7 mesi di vita. I vaccini sono stati somministrati in due diversi punti di inoculo, rispettivamente nella fossetta retroauricolare destra e sinistra.

Gli animali del gruppo C sono stati immunizzati con le stesse tempistiche previste per gli altri due gruppi, utilizzando un inoculo i.m. da 2 ml ottenuto dopo diluizione della frazione liofilizzata del vaccino contro la malattia di Aujeszky con 2 ml del vaccino nei confronti di SIV. Questa modalità di somministrazione viene frequentemente utilizzata in considerazione del progressivo ritiro dal mercato europeo di vaccini contenenti sia il virus della malattia di Aujeszky sia SIV.

Il vaccino nei confronti di SIV utilizzato, pronto all'uso, contiene 3 ceppi inattivati dei sottotipi H1N1, H3N2 e H1N2 mentre il vaccino contro la malattia di Aujeszky è allestito

a partire dal ceppo vivo attenuato Bartha gE deleto. Per entrambi i vaccini la posologia prevede la somministrazione i.m di 2 ml di prodotto.

Prelievi ematici e determinazione dei titoli anticorpali

Nel corso della prova sono stati previsti 4 prelievi ematici da tutti gli animali selezionati: 1° prelievo, il giorno della prima vaccinazione (t1); 2° prelievo, 4 settimane dopo la seconda vaccinazione (t2); 3° prelievo, il giorno della terza vaccinazione (t3); 4° prelievo, in fase di pre-macellazione e comunque non prima di 30 giorni dalla data presunta dell'invio al macello (t4). In 4 delle 11 aziende coinvolte non è stato possibile effettuare il 4° prelievo ematico previsto dal protocollo di prova. Complessivamente sono stati esaminati 1369 sieri. Sui sieri prelevati è stata eseguita la determinazione dei titoli anticorpali nei confronti dei sottotipi H1N1, H3N2 e H1N2 di SIV utilizzando come antigeni stipiti di recente isolamento: H1N1 A/sw/It/267505/10, H3N2 A/sw/It/312583/09 e H1N2 A/sw/It/284922/09. Per la diagnosi sierologica è stata utilizzata l'inibizione dell'emoagglutinazione (HI) (OIE, 2012). I sieri sono stati considerati positivi nei confronti di uno specifico sottotipo quando il titolo anticorpale risultava ≥ 20 .

E' stata sospettata la circolazione aziendale di uno specifico sottotipo quando almeno 2 dei soggetti del gruppo di controllo (A) presentavano un titolo HI >20 contro quello specifico sottotipo.

Osservazione clinica

Ai veterinari aziendali è stato chiesto di monitorare clinicamente gli animali nel corso dell'intero periodo di prova e di segnalare tempestivamente il sospetto di focolai di influenza suina: in tal caso era richiesto il prelievo di campioni diagnostici e il loro invio al laboratorio (IZSLER, sez. di Parma) per gli accertamenti virologici.

Analisi statistica

L'andamento temporale dei titoli sierologici nei confronti di ciascun sottotipo è stato valutato in funzione del gruppo di appartenenza dei soggetti (A, B, C) e dello stato sanitario dell'azienda nei confronti di SIV. Ciascuna azienda è stata considerata infetta da uno specifico sottotipo quando almeno 2 dei soggetti del gruppo di controllo (A) presentavano un titolo HI >20 contro quello specifico sottotipo. Preliminarmente, è stata valutata la normalità della distribuzione campionaria dei titoli sierologici utilizzando il test di Kolmogorov-Smirnov. Sulla base dei risultati di questo test, i successivi confronti sono stati realizzati mediante test U di Mann-Whitney o test di Kruskal-Wallis. Tutte le analisi sono state condotte utilizzando SPSS 21.0, previa trasformazione logaritmica (\log_2) dei risultati sierologici.

RISULTATI

In base ai risultati degli esami sierologici dei soggetti appartenenti al gruppo di controllo (A), non vaccinati nei confronti di SIV, è possibile ritenere che ceppi appartenenti a diversi sottotipi di SIV siano circolati in tutte le aziende durante il periodo di sperimentazione.

In particolare, il sottotipo H1N1 era verosimilmente presente in 3 delle 11 aziende, H3N2 in 5 su 11 e H1N2 in 4 su 11 (tab. 1). In 10 aziende ha circolato un solo sottotipo mentre nell'azienda n. 11 erano presenti i sottotipi H1N1 e H3N2.

In una sola azienda (n. 1) è stato confermato un focolaio clinico di malattia, avvenuto all'inizio della fase di ingrasso; gli accertamenti virologici hanno permesso l'isolamento di SIV sottotipo H3N2.

Tabella 1. Sospetta circolazione dei diversi sottotipi di SIV nelle aziende esaminate;
*conferma virologica

Table 1. Suspected circulation of the different subtypes of SIV in the examined herds;
*virological confirmation

Azienda	Sottotipo SIV presente in azienda		
	H1N1	H3N2	H1N2
1	-	pos*	-
2	-	-	pos
3	-	-	pos
4	pos	-	-
5	-	pos	-
6	-	pos	-
7	-	-	pos
8	-	pos	-
9	pos	-	-
10	-	-	pos
11	pos	pos	-
	3/11	5/11	4/11

All'inizio dello studio (t1) nessuna differenza significativa ($p > 0,05$) è stata messa in evidenza per quanto riguarda i titoli anticorpali nei confronti di H1N1, N3N2 e H1N2 sia considerando i tre gruppi in sperimentazione (A, B, C), sia considerando la condizione sanitaria dell'azienda (circolazione o meno di uno specifico sottotipo) (fig. 1-3).

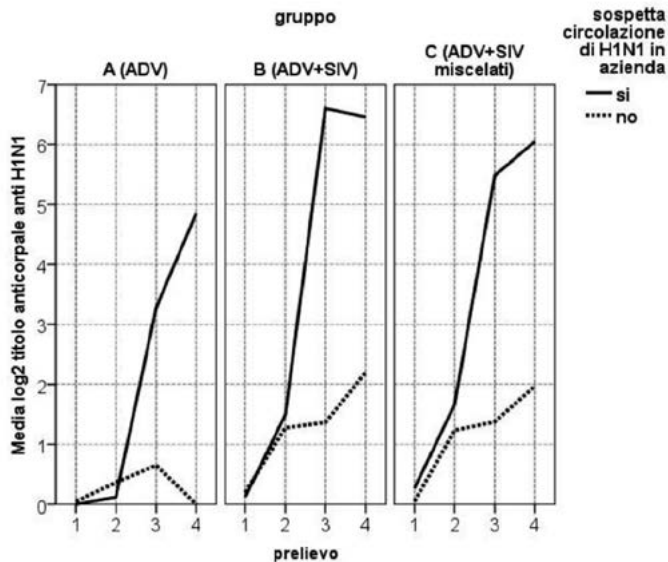
L'andamento temporale dei titoli anticorpali nei confronti di H1N1 nei 3 gruppi in sperimentazione, in funzione dello stato sanitario dell'azienda, è riportato nella fig. 1.

Al momento del secondo e terzo prelievo (t2, t3), sia nelle aziende infette, sia in quelle non infette i titoli anticorpali nei confronti del sottotipo H1N1 sono significativamente più elevati ($p < 0,05$) nei soggetti vaccinati (gruppi B o C) rispetto a quelli di controllo (A) mentre i titoli anticorpali dei gruppi vaccinati B o C non differiscono tra loro.

All'ultimo prelievo (t4), sia nelle aziende infette sia in quelle non infette, i titoli anticorpali nei confronti di H1N1 sono significativamente più elevati ($p < 0,05$) solo nei soggetti del gruppo B rispetto a quelli di controllo (A). I titoli sierologici degli animali del gruppo C sono risultati significativamente maggiori di quelli del gruppo A solo nelle aziende non infette. I titoli anticorpali dei 2 gruppi vaccinati (B o C) continuano a non differire tra loro.

Figura 1. Titoli anticorpali anti H1N1 nei tre gruppi in sperimentazione in funzione dello stato sanitario dell'azienda

Figure 1. Antibody titre kinetics against H1N1 subtypes in the 3 experimental groups, according to the health status of herds



La fig. 2 riporta l'andamento temporale dei titoli anticorpali anti H3N2 nei 3 gruppi in sperimentazione, in funzione dello stato sanitario dell'azienda.

Al momento del secondo prelievo (t2), sia nelle aziende infette, sia in quelle non infette i titoli anticorpali anti H3N2 sono significativamente più elevati ($p < 0,05$) nei soggetti vaccinati (gruppi B o C) rispetto a quelli di controllo (A) mentre i titoli anticorpali dei 2 gruppi vaccinati (B e C) non differiscono tra loro.

Questi risultati si mantengono anche al terzo e quarto prelievo (t3 e t4) nelle aziende non infette. Al contrario, nelle aziende infette, non sono state evidenziate (sia a t3 sia a t4) differenze significative tra i titoli anticorpali dei soggetti vaccinati (gruppi B o C) e quelli non vaccinati (A).

Figura. 2. Titoli anticorpali anti H3N2 nei tre gruppi in sperimentazione in funzione dello stato sanitario dell'azienda

Figure 2. Antibody titre kinetics against H3N2 subtypes in the 3 experimental groups, according to the health status of herds

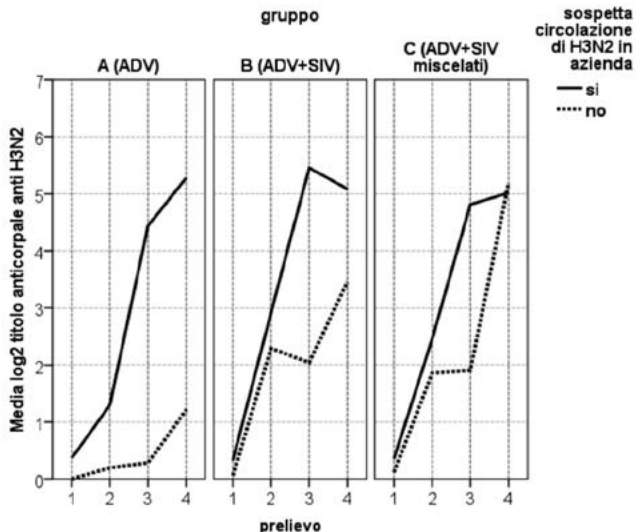
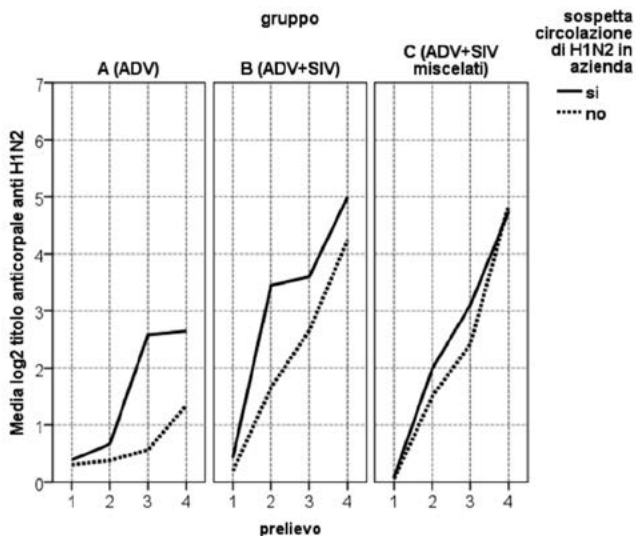


Figura. 3. Titoli anticorpali anti H1N2 nei tre gruppi in sperimentazione in funzione dello stato sanitario dell'azienda

Figure 3. Antibody titre kinetics against H1N2 subtypes in the 3 experimental groups, according to the health status of herds



L'andamento temporale dei titoli anticorpali anti H1N2 nei 3 gruppi in sperimentazione, in funzione dello stato sanitario dell'azienda, è riportato nella fig. 3.

Al momento del secondo prelievo (t2), sia nelle aziende infette, sia in quelle non infette i titoli anticorpali nei confronti di H1N2 sono significativamente più elevati ($p < 0,05$) nei soggetti vaccinati (gruppi B o C) rispetto a quelli di controllo (A). I titoli anticorpali dei soggetti del gruppo B sono significativamente più elevati di quelli del gruppo C solo nelle aziende infette.

Questi risultati si mantengono anche al terzo e quarto prelievo nelle aziende non infette. Al contrario, nelle aziende infette, al terzo prelievo non sono evidenti differenze significative tra i soggetti vaccinati (gruppi B o C) e quelli non vaccinati (A) che tornano a differire significativamente al 4° prelievo. Nelle aziende infette, sia a t3 sia a t4 non sono state evidenziate differenze tra i gruppi B e C.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Il virus dell'influenza suina è uno dei principali patogeni respiratori del suino ed è in grado, da solo o in associazione con altri microrganismi batterici o virali, di determinare gravi perdite economiche. La gravità delle conseguenze è inoltre direttamente proporzionale alla prevalenza di aziende infette e alla prevalenza intra-aziendale (Bennett, 2003).

I risultati del presente studio, realizzato coinvolgendo contemporaneamente un numero consistente di aziende, confermano la frequente circolazione di SIV, anche in allevamenti nei quali non vengono segnalati chiari problemi clinici che possano correlarsi all'infezione da SIV.

Con questi presupposti, la valutazione (almeno da un punto di vista sierologico) dell'efficacia della vaccinazione assume un significato importante in termini di scelta delle misure intra-aziendali di profilassi. E' stato infatti dimostrato sperimentalmente che la vaccinazione, pur non in grado di prevenire l'infezione, riduce sensibilmente le probabilità di sviluppo della malattia (Kitikoon et al., 2006) e che i titoli anticorpali HI sono direttamente correlati con la protezione nei confronti delle forme cliniche.

Nelle aziende in cui non è stata sospettata la circolazione dello specifico sottotipo, nell'intero periodo di osservazione, i soggetti non vaccinati (gruppo A) presentano titoli anticorpali anti H1N1, N3N2 o H1N2 significativamente più bassi rispetto ai soggetti vaccinati (gruppo B o gruppo C). Il lieve aumento dei titoli anticorpali che è possibile osservare nei soggetti non vaccinati verso il termine della sperimentazione (t3 e t4) potrebbe essere interpretato come la conseguenza di cross-reazioni con ceppi appartenenti ad altri sottotipi o con la circolazione a bassa prevalenza del sottotipo specifico. Questa osservazione indica che, anche in assenza di stimolazione immunitaria legata alla presenza in azienda dello specifico sottotipo, i soggetti vaccinati presentano un livello di protezione immunitaria superiore grazie anche alla cross reattività fra i sottotipi. E' stato inoltre dimostrato che la maggior parte dei vaccini induce la produzione di anticorpi neutralizzanti e quindi una parziale cross-protezione anche nei confronti dell'infezione sostenuta dal ceppo pandemico (H1N1) 2009 (Durrwald, 2010).

Nelle aziende considerate infette da H1N1 e H1N2 è stato osservato un comportamento simile, con titoli anticorpali inferiori nei soggetti non vaccinati rispetto a quelli vaccinati. Al contrario, nelle aziende con infezione da H3N2, il profilo sierologico degli animali vaccinati e non vaccinati è molto simile (fig. 2). Nel corso degli anni è stato osservato che il virus H3N2 induce in genere una risposta anticorpale più elevata rispetto a quella di altri sottotipi, sia nei soggetti vaccinati sia in quelli che sono stati infettati. Altra spiegazione della similitudine osservata tra i profili sierologici per H3N2 degli animali

vaccinati e di quelli non vaccinati potrebbe essere una più alta vicinanza antigenica tra il ceppo usato come antigene nel test di HI e i ceppi circolanti: H3N2 è infatti il sottotipo che si è modificato meno negli anni.

Per quanto riguarda le diverse modalità di somministrazione del vaccino nei confronti di SIV (inoculazione separata nel gruppo B oppure miscela dei 2 vaccini e inoculazione in un unico punto nel gruppo C) è stata messa in evidenza una sostanziale equivalenza dei titoli HI nelle aziende con e senza circolazione del sottotipo H1N2 in tutti i prelievi (fig. 3) e, per quanto riguarda H3N2 fino al terzo prelievo (fig. 2).

Nel caso del sottotipo H1N1 (fig. 1) la risposta anticorpale nei due gruppi di soggetti vaccinati è simile; tuttavia, risulta sensibilmente inferiore (per entrambe le tipologie di somministrazione) nelle aziende senza circolazione virale.

Complessivamente, dai risultati ottenuti emerge l'efficacia, in termini di stimolazione della risposta immunitaria evidenziabile con il test HI, del vaccino nei confronti di SIV considerato. Nelle condizioni in cui l'infezione non è stata sospettata, la risposta anticorpale dei soggetti vaccinati (di entrambi i gruppi B e C) è sempre significativamente superiore rispetto a quella dei soggetti non vaccinati, rafforzando l'ipotesi del ruolo primario della vaccinazione nell'induzione di una immunità umorale. Inoltre nelle aziende in cui è stata ipotizzata la circolazione virale, la risposta sierologica dei soggetti vaccinati (a prescindere dalle modalità di somministrazione) tende ad essere più rapida ed intensa rispetto a quella dei soggetti non vaccinati, contribuendo così alla riduzione della circolazione virale e quindi al rischio di sviluppo di forme cliniche. Per quanto riguarda l'efficacia delle due diverse modalità di somministrazione, l'utilizzo di una miscela dei vaccini nello stesso punto di inoculo induce in genere una risposta immunitaria inferiore (anche se non significativa) rispetto alla somministrazione separata. L'utilizzo di questa pratica andrebbe quindi attentamente valutato in funzione delle specifiche condizioni di rischio di ciascuna azienda.

BIBLIOGRAFIA

Andreasen M., Nielsen J.P., Baekbo P., Willeberg P., Bøtner A. (2000). A longitudinal study of serological patterns of respiratory infections in nine infected Danish swine herds. *Prev. Vet. Med.* 45, 221-235.

Bennett R. (2003). The 'direct costs' of livestock disease: the development of a system of models for the analysis of 30 endemic livestock diseases in Great Britain. *J. Agr. Econ.* 54, 55-71.

Brown I.H. (2013). History and epidemiology of Swine Influenza in Europe. *Curr. Top. Microbiol.* 370, 133-146.

Dürwald R., Krumbholz A., Baumgarte S., Schlegel M., Vahlenkamp T.W., Selbitz H.J., Wutzler P., Zell R. (2010). Swine influenza A vaccines, pandemic (H1N1) 2009 virus, and cross-reactivity. *Emerg. Infect. Dis.* 16, 1029-1030.

Foni E., Chiapponi C., Sozzi E., Barbieri I., Moreno A.M., Merenda M., Luppi A., Alborali L., Cordioli P. (2010). Caratterizzazione di virus influenzali circolanti nel suino negli anni 2008-2009 in Italia. In: *Atti XXXVI Meeting Annuale SIPAS 2010*, Montichiari (BS), 25-26 marzo 2010; 159-166.

Kitikoon P., Nilubol D., Erickson B.J., Janke B.H., Hoover T.C., Sornsen S.A., Thacker E.L.(2006). The immune response and maternal antibody interference to a heterologous H1N1 swine influenza virus infection following vaccination. *Vet. Immunol. Immunop.* 112, 117–128.

Moreno A., Chiapponi C., Boniotti M.B., Sozzi E., Foni E., Barbieri I., Zanoni M.G., Faccini S., Lelli D., Cordioli P. (2012). Genomic characterization of H1N2 swine influenza viruses in Italy. *Vet. Microbiol.* 156, 265-276.

OIE. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. 7th ed. OIE, 2012. Chapter 2.8.8, Swine Influenza.

Van Reeth K., Brown I.H., Durrwald R., Foni E., Labarque G., Lenihan P., Maldonado J., Markowska-Daniel I., Pensaert M., Pospisil Z., Kochi G. (2008). Seroprevalence of H1N1, H3N2 and H1N2 influenza viruses in pigs in seven European countries in 2002–2003. *Influenza Other Res.* 2, 99-105.