

# ENCEFALOMIOCARDITE IN UN ALLEVAMENTO DA RIPRODUZIONE: FORMA RIPRODUTTIVA E MORTALITA' IN SCROFETTE

LAZZARO M.<sup>1</sup>,GIACOMINI E.<sup>1</sup>,SCALI F.<sup>1</sup>,SALOGNI C.<sup>1</sup>,GIOVANNINI S.<sup>1</sup>,PIZZONI G.<sup>1</sup>,GRAZIOLI S.<sup>1</sup>,GIBELLI L.<sup>3</sup>,NIGRELLI A.<sup>2</sup>,ALBORALI G.L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IZSLER, Brescia, Italy - <sup>2</sup>IZSLER, Mantova, Italy - <sup>3</sup>IZSLER, Milano, Italy.

## INTRODUZIONE

Lo scopo del report è descrivere un episodio di Encefalomiocardite che ha coinvolto le scrofette da rimonta e le scrofe nella fase finale di gestazione causando rispettivamente mortalità e turbe riproduttive.

La malattia, diffusa in tutto il mondo, è causata da un *Cardiovirus* (EMCV) e colpisce mammiferi, uccelli e roditori. Nel suino sono descritte due principali forme sintomatiche: morte improvvisa per miocardite acuta nei soggetti giovani e disturbi riproduttivi nella scrofa gestante (Koenen, 1999).

In Italia i casi più gravi, con elevata mortalità, sono stati descritti nei suinetti mentre nei suini all'ingrasso solo sporadica mortalità o infezioni asintomatiche (Maurice et al, 2005). I roditori sono considerati ospiti naturali del virus (Koenen, 1999) ed il maggiore fattore di rischio per l'allevamento suino, dove le infezioni più severe avvengono attraverso l'ingestione di cibo contaminato da feci o urine di roditori infetti o con l'ingestione delle loro carcasse (Margot and Bakkali-kassimi, 2012).

I suini rappresentano un potenziale reservoir per EMCV, tuttavia, la rilevanza della trasmissione diretta tra suini è stata chiarita solo recentemente: la diffusione tra box, attraverso la trasmissione orizzontale, è poco probabile poiché richiede uno stretto contatto tra soggetti, cosa direttamente legata alle condizioni di management aziendale (Maurice et al., 2016).

Nei suini EMCV solitamente induce miocardite focale con morte improvvisa dei soggetti colpiti. La miocardite è caratterizzata da infiammazione cardiaca e necrosi dei cardiomiociti. In alcuni casi sono stati osservati altri sintomi come: anoressia, apatia, paralisi e dispnea (Margot and Bakkali-kassimi, 2012).

Nei suini, il cuore è il principale organo bersaglio, tuttavia EMCV può essere isolato anche da: cervello, milza, intestino, pancreas, fegato, reni, cuore, polmoni e linfonodi (Margot and Bakkali-kassimi, 2012).

I suini sensibili sviluppano una grave miocardite che li porta a morte, quelli più resistenti sviluppano una miocardite più lieve che può rimanere asintomatica. Non sono state segnalate lesioni cardiache nelle scrofe con problemi riproduttivi ne tanto meno nei loro suinetti. Tuttavia, la patogenicità di EMCV nelle varie specie animali è risultata essere ceppo-dipendente (Margot and Bakkali-kassimi, 2012).

Nelle autopsie si trova accumulo eccessivo di essudato nelle cavità toracica ed addominale, mentre i cuori presentano aree focali di necrosi soprattutto nel ventricolo destro (con scolorimento irregolare di colore bianco grigiastro)(Koenen, 1999). Il virus può essere rilevato nel miocardio, anche quando le lesioni del miocardio sono piccole o assenti. L'analisi istologica dei cuori di suino rivela miocardite associato con l'infiltrazione e l'accumulo diffuso o localizzato di cellule mononucleate, congestione vascolare, edema e infarto, degenerazione della fibra, con necrosi. Nel cervello, la congestione è accompagnata da meningite, infiltrazione perivascolare di cellule mononucleate e degenerazione neuronale (Margot and Bakkali-kassimi, 2012).

Il virus può essere isolato su linee cellulari di diverse specie. Ci sono diversi test per l'identificazione degli anticorpi virali ma quello più specifico e più comunemente utilizzato è L'ELISA. Sperimentalmente l'utilizzo di RT-PCR ha avuto un notevole successo e più recentemente un metodo di trascrittasi inversa con amplificazione loop-mediata è stato segnalato come rapido, altamente sensibile, con possibilità di essere implementato in campo (CFSPH, 2015).

Non ci sono trattamenti per la patologia, nella fase acuta la mortalità può essere controllata diminuendo i fattori di stress ed eccitazione dei soggetti a rischio. I roditori giocano un ruolo chiave nell'introduzione e nell'aumento della diffusione del virus in allevamento. Alcuni tipi di pavimentazione come il grigliato, che permette una veloce rimozione delle feci dalle lettiere, sembra aiutare molto nel controllo della patologia in quanto riduce i tempi di esposizione dei suini al materiale contaminato (Maurice et al. 2007). Il virus è stabile in un ampio spettro di PH, può essere inattivato attraverso il trattamento a 60° per 30 min o con H2O contenente 0,5 ppm di cloro o ancora con disinfettanti a base di iodio o cloruro di mercurio (Margot and Bakkali-kassimi, 2012). Un eventuale aiuto può venire dalla vaccinazione degli animali in quanto si è visto che i soggetti vaccinati mantengono un'alta immunità umorale, e sono protetti dalla forma clinica e verso l'infezione transplacentare quando sperimentalmente sottoposti all'infezione con un ceppo virulento.

## DESCRIZIONE DEL CASO

L'episodio si è verificato in un allevamento da riproduzione (sito 1) di 1150 scrofe organizzato con parti in bande settimanali. I suinetti sono svezzati a un'età media di 26-28 giorni con un peso di 7,4-7,6 kg.

Lo stato sanitario dell'allevamento è buono: stabile per PRRS ed indenne per Aujeszky. I suinetti sono vaccinati per M. Hyo e PCV2 in sala parto, all'arrivo in svezzamento non ricevono, di norma, nessun trattamento medicato. In passato ed occasionalmente si sono manifestati problemi di meningite causata da *Streptococcus suis* che sono trattati con successo utilizzando iniezioni e medicazione in acqua di bevanda con amoxicillina.

Prima del focolaio i risultati tecnici di quest'allevamento erano buoni con aborti inferiori al 1%, nati morti e mummificati < 0,5 % e perdite in sala parto inferiori al 10 %.

Nel mese di ottobre 2016 sono comparsi aborti e si è verificato un notevole aumento del tasso di feti mummificati, rispetto ai dati medi storici dell'allevamento. Anche la mortalità nei suinetti in sala-parto aveva mostrato un incremento, soprattutto riferito ai primi giorni di vita, per la presenza di soggetti disvitali (Tabella 1). Questi eventi patologici si sono verificati in scrofe di tutte le classi di parto e in nidiata di diverse sale parto senza necessariamente coinvolgere le nidiata contigue. Nei riproduttori erano rare altre manifestazioni cliniche, solo qualche caso di lieve rialzo febbrile e disoressia.

Tab. 1. Mortalità in sala parto, numero nati morti e mummificati per nidiata, % aborti

Parametri	Luglio 2016	Agosto 2016	Settembre 2016	Ottobre 2016	Novembre 2016	Dicembre 2016	Gennaio 2017
Perdite in sala parto	0,7	0,6	0,8	1,3	2,1	1,9	0,9
nati morti e mummificati per nidiata	0,5	0,4	0,6	1,2	1,8	1,9	0,8
aborti %	0,7	0,9	1,4	1,1	0,8	0,6	0,6

Nei mesi di novembre e, ancor più, dicembre si sono registrate mortalità improvvise anche nel settore delle scrofette in accrescimento (70-130 kg PV) (Tabella 2). In alcuni casi era possibile notare una fase clinica con intensa dispnea prima della morte.

Tab. 2. Mortalità in scrofette in accrescimento

Parametri	Luglio 2016	Agosto 2016	Settembre 2016	Ottobre 2016	Novembre 2016	Dicembre 2016	Gennaio 2017
% mortalità scrofette in accrescimento	2,5	1,3	2,8	2,3	10,2	16,5	6,2

Negli svezzamenti esterni, nello stesso periodo, non sono stati osservati sintomi o mortalità riconducibili all'episodio precedentemente descritto.

In concomitanza con la mortalità nelle scrofette, con i primi episodi di aborto e l'aumento dei soggetti nati morti e mummificati, sono stati sottoposti ad esame anatomopatologico e ad indagini di laboratorio: le carcasse di 4 scrofette di circa 130 kg di peso e 23 suinetti (11 feti e 12 nati morti da 5 scrofe).

L'esame necroscopico è stato eseguito secondo metodiche standardizzate presso il laboratorio. Dal materiale patologico prelevato durante le necroscopie sono state condotte indagini batteriologiche e virologiche.

Gli esami effettuati sui campioni prelevati in sede autoptica, secondo le metodiche standardizzate presso il laboratorio, sono schematizzati in Tabella 3

Tabella 3 Schema degli esami effettuati sugli organi prelevati

Campione	Provenienza	Indagine
Cuore	Scrofette, suinetti	Batteriologico, Immunoistochimica, RT-PCR EMCV, Esame istologico
Polmone	Scrofette, suinetti	RT-PCR PRRSV, Esame istologico
Milza	Scrofette, suinetti	Batteriologico, RT-PCR PRRSV, Esame istologico
Cervello	Suinetti <sup>1</sup>	Batteriologico, PCR virus Malattia di Aujeszky, Esame istologico
Rene	Suinetti <sup>1</sup>	Batteriologico, PCR Leptospira spp., Esame istologico
Fegato	Suinetti <sup>1</sup>	PCR virus pseudorabbia, Esame istologico
Pancreas		Esame istologico
Linfonodi (mesenterici, mediastinici e inguinali superficiali)		Esame istologico

Nei suinetti disvitali e in altrettante scrofe sono stati prelevati 25 campioni di sangue. Delle scrofe prelevate, 15 erano madri di nidiate colpite dalla grave forma clinica descrit-

ta e 10 madri di nidiate in cui i suinetti non hanno presentato alcun sintomo durante il focolaio. I campioni sono stati sottoposti alla ricerca di PRRSV e anticorpi anti-PRRSV, rispettivamente mediante RT PCR (Martinez et al , 2008) e test ELISA.

L'esame anatomopatologico nelle scrofette ha evidenziato lesioni ricorrenti, caratterizzate da: congestione pluriviscerale, edema polmonare, versamento sieroso pleurico e pericardico. Rari focolai di colore biancastro erano osservabili a livello miocardico. Nei soggetti disvitali e nati morti erano osservabili congestione poliorganica ed aree cardiache biancastre mentre nei mummificati non erano presenti lesioni macroscopiche. Le indagini batteriologiche hanno avuto esito negativo. Gli esami in PCR per la ricerca del virus della PRRS e della Malattia di Aujeszky, sono costantemente risultati negativi. Tutti i campioni testati in PCR per la ricerca di EMCV sono risultati positivi. Le indagini istopatologiche non hanno evidenziato lesioni di rilievo a livello di milza, rene, fegato, pancreas, linfonodi mesenterici, mediastinici ed inguinali superficiali. A livello cardiaco è stata evidenziata una miocardite interstiziale acuta associata a epicardite. Nelle sezioni istologiche del miocardio erano presenti numerosi focolai di flogosi con la presenza nell'interstizio di linfociti, macrofagi e neutrofili. La reazione immunostochimica è risultata positiva soprattutto a livello del citoplasma dei miocardiociti.

## **DISCUSSIONE E CONCLUSIONI**

Nel presente caso clinico è stato descritto un grave focolaio di malattia, sostenuto da EMCV, in un allevamento intensivo da riproduzione situato in provincia di Brescia. Sono stati osservati contemporaneamente problemi riproduttivi e mortalità improvvisa in soggetti di pesi elevati.

Il focolaio di EMCV è stato confermato dalla presenza di caratteristiche lesioni istopatologiche a livello di miocardio e dalle positività della reazione immunostochimica e della RT-PCR, nelle scrofette e nei soggetti nati morti e disvitali.

L'episodio oggetto del presente lavoro si è verificato in una zona geografica che negli ultimi anni è stata interessata da numerosi focolai di EMCV e, pertanto, potrebbe essere considerata endemica. Maurice e Colleghi avevano osservato una maggior frequenza di focolai nel suino in specifiche aree geografiche. La particolarità del focolaio illustrato in questo caso clinico è rappresentata dalla sua gravità. Sono state osservate contemporaneamente la forma riproduttiva e la forma cardiaca con mortalità in soggetti di pesi elevati. In questo episodio sono state osservate lesioni cardiache gravi anche nei soggetti adulti, diversamente da quanto precedentemente segnalato in focolai di EMCV, dove la gravità delle lesioni macroscopiche e di quelle istopatologiche del cuore è inversamente correlato all'età dei suini (Billinis et al. 2004). Nell'azienda del presente caso clinico il focolaio dell'EMCV ha causato rilevanti problemi di natura economica dovuti ad un aumento della mortalità e riduzione delle performance riproduttive. Considerando che ad oggi non vi sono trattamenti per l'EMCV, la prevenzione resta l'unica arma disponibile per ridurre gli effetti negativi causati dal virus. Così come consigliato anche dalla letteratura, si è proceduto alla corretta esecuzione dei piani di derattizzazione ed alla rimozione delle feci, nel più rapido tempo possibile, dai locali di stabulazione. Inoltre, si è dato il via ad una approfondita pulizia e disinfezione dei locali, dove erano stabulati gli animali che presentavano la sintomatologia, seguita da un periodo di vuoto sanitario per avere maggiori garanzie di eliminazione del virus dall'ambiente.

## **BIBLIOGRAFIA**

Koenen, F., Vanderhallen, H., Castryck, F., & Miry, C. (1999). Epidemiologic, pathogenic and molecular analysis of recent encephalomyocarditis outbreaks in Belgium. *Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe B. Journal of veterinary medicine. Series B*, 46(4), 217-231.

Martinez, T. A., Nevel, A., Twomey, D. F., & McGowan, M. R. (2008). Poor reproductive performance in pigs—a case series study. *Pig Journal*, 61, 49-56.

Carocci, M., & Bakkali-Kassimi, L. (2012). The encephalomyocarditis virus. *Virulence*, 3(4), 351-367.

Maurice, H., Nielen, M., Brocchi, E., Nowotny, N., Kassimi, L. B., Billinis, C., ... & Koenen, F. (2005). The occurrence of encephalomyocarditis virus (EMCV) in European pigs from 1990 to 2001. *Epidemiology and Infection*, 133(03), 547-557.

Billinis, C., Leontides, L., Psychas, V., Spyrou, V., Kostoulas, P., Koenen, F., & Papadopoulos, O. (2004). Effect of challenge dose and age in experimental infection of pigs with encephalomyocarditis virus. *Veterinary Microbiology*, 99(3), 187-195.

Maurice, H., Thulke, H. H., Schmid, J. S., Stegeman, A., & Nielen, M. (2016). The impact of compartmentalised housing on direct encephalomyocarditis virus (EMCV) transmission among pigs; insight from a model. *Preventive Veterinary Medicine*, 127, 105-112.

The Center for Food Security and Public Health (CFSPH) (2015). Encephalomyocarditis Virus. Reperibile su <http://www.cfsph.iastate.edu/pdf/shic-factsheet-encephalomyocarditis-virus>