

FOCOLAIO DI PLEUROPOLMONITE FIBRINO-NECROTICO-EMORRAGICA IN UN'AZIENDA DA INGRASSO

DE LORENZI G.¹, BARBIERI G.², GHERPELLI Y.¹, PANGALLO G.¹,
MAGISTRALI CF.³, GIBELLI L.¹, BONILAURI P.¹, LUPPI A.¹

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale Della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Italy.

² Progeo, Italy, ³ Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Italy.

INTRODUZIONE

Scopo del presente lavoro è descrivere un focolaio di pleuropolmonite fibrino-necrotico-emorragica causato da *Pasteurella multocida* capsulotipo A *pfhA*+, come evidenziato dalle indagini diagnostiche effettuate, verificatosi in un'azienda da ingrasso (sito 3) del nord Italia.

Le malattie respiratorie sono responsabili di perdite economiche importanti nell'allevamento suino. *P. multocida* tipo A è uno dei batteri responsabili del cosiddetto complesso della malattia respiratoria del suino (PRDC) e viene frequentemente isolata da lesioni polmonari macroscopicamente assimilabili a broncopolmonite catarral-purulenta come agente secondario. Nel suino è opportunistica, complicante la polmonite enzootica da *Mycoplasma hyopneumoniae* (Mhyo). L'infezione si osserva più frequentemente negli animali in accrescimento e all'ingrasso. I segni clinici sono variabili e possono comprendere tosse, febbre intermittente, depressione, anoressia, respiro difficoltoso e cianosi nei casi più gravi.

La diffusione dell'infezione avviene principalmente per contatto diretto tra soggetti infetti attraverso le secrezioni nasali e occasionalmente tramite aerosol.

Alcuni ceppi di *P. multocida* tipo A possono comportarsi da patogeni primari e causare forme respiratorie nel suino in assenza di altri agenti patogeni predisponenti. Questi ceppi possono causare pleuropolmonite fibrino-necrotico emorragica e pericardite fibrinosa e possono essere identificati mediante PCR con l'amplificazione del gene *pfhA* (Oliveira Filho et al., 2018).

DESCRIZIONE DEL CASO

Il caso clinico in oggetto ha avuto luogo in una azienda da ingrasso (sito 3) di 1870 suini dislocati in 3 capannoni. I suini venivano allevati con il sistema tutto pieno/tutto vuoto, provenivano da 4 diversi siti 2 e ogni sito 2 riceveva suini da 3 diverse scrofaie. I suini entravano in azienda ad un peso di 31,2 kg. Il piano vaccinale adottato nelle scrofaie di provenienza e per i suini nell'azienda da ingrasso oggetto del focolaio è riportato in Tabella 1.

Tabella 1. Piano vaccinale dei suinetti nei siti 1 di provenienza e dei suini nell'allevamento da ingrasso.

Programma vaccinale suinetti siti 1 di provenienza	Mhyo + PCV2 (a 21 giorni di vita) + Malattia di Aujeszky (PRV)
Programma vaccinale ingrasso	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> (vaccino a corpo batterico) + PRV (2 interventi) + <i>Lawsonia intracellularis</i> + PRRSV

L'allevamento faceva parte di una filiera "antibiotic free" in cui era prevista l'assenza di somministrazione di molecole antibiotiche negli ultimi 4 mesi prima della macellazione. Nell'agosto del 2018, 20 giorni dopo l'arrivo nel sito 3 descritto precedentemente si osservava nei suini la comparsa di forme respiratorie, con tosse grassa, che persistevano fino alla macellazione.

La mortalità media si attestava all'8% nei primi 25 giorni dall'inizio della sintomatologia. Successivamente all'introduzione della terapia si riportava a valori dello 0.5% fino alla macellazione. Successivamente, persistendo la problematica, venne introdotta la terapia antibiotica con l'impiego di Florfenicolo iniettabile (15 mg/kg di peso corporeo) nei soggetti con grave forma clinica e presentanti anoressia, mentre un trattamento metafilattico sempre con l'impiego di Florfenicolo (200 ppm) per 4 giorni per os è stato approntato negli animali a rischio d'infezione. Tre suini morti con sintomi respiratori sono stati quindi conferiti presso l'IZSLER (sezione di Reggio Emilia) e sottoposti ad esame necroscopico. All'apertura della cavità toracica si osservava pleuropolmonite fibrino-necrotico-emorragica e pericardite fibrinosa in tutti i soggetti, non si osservavano altre lesioni macroscopiche di rilievo a carico di altri organi e apparati (Figura 1). Le diagnosi differenziali considerate comprendevano pleuropolmonite da *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Actinobacillus suis* e da ceppi pleuritici di *P. multocida* (Gottschalk, 2012). In sede necroscopica sono stati prelevati campioni da sottoporre ad indagini diagnostiche (Tabella 2).

P. multocida è stata isolata in coltura pura da polmoni ed essudati bronchiali prelevati dai tre suini sottoposti a necroscopia e tramite PCR multiplex è stato possibile individuare la presenza di geni codificanti per il capsulotipo A e l'emoagglutinina filamentosa pfhA (filamentous haemoagglutinin).

All'esame istopatologico dei polmoni si osservava pleuropolmonite fibrinosa caratterizzata da iperemia, edema, alveoli contenenti abbondante detrito cellulare necrotico con "oat cells" ed essudazione fibrino-necrotica sulla sierosa pleurica.

I risultati degli esami di laboratorio effettuati sono riportati in Tabella 2.

Tabella 2. Esami di laboratorio effettuati e risultati.

Esame di laboratorio	Campione	Metodo	Risultati
Esame colturale	Polmone e essudato bronchiale	Semina su Agar globuli addizionato con NAD incubato a 37 °C per 48 ore in microaerofilia	Sviluppo di <i>Pasteurella multocida</i>
	Rene e milza	Semina su Agar siero e Gassner agar incubati a 37 °C per 48 ore in aerobiosi	Negativo per agenti patogeni
PCR multiplex <i>P. multocida</i> (Townsend et al., 2001)	Ceppo batterico	Rilevazione dei geni <i>capA</i> , <i>capB</i> , <i>capD</i> , <i>capE</i> e <i>capF</i> e del gene <i>kmt</i> specie-specifico per <i>P. multocida</i>	Kmt + Capsulotipo A
PCR multiplex <i>P. multocida</i> (Atashpaz et al., 2009)	Ceppo batterico	Rilevazione dei geni codificanti per i fattori di virulenza specifici: <i>toxA</i> , <i>tbpA</i> , <i>hgbB</i> e <i>pflA</i>	<i>pflA</i> +
PCR PRRSV	Polmone	Rilevazione della presenza dell'RNA del virus della PRRS tramite One-step RT-PCR	Negativa
PCR SIV	Polmone	Rilevazione della presenza di RNA appartenente al virus dell'influenza tipo A mediante reazione di Retrotrascrizione e Real-Time PCR	Negativa
Istologia	Polmone	Valutazione istomorfologica dei tessuti colorati con ematossilina-eosina, in seguito a fissazione in formalina al 10%	Pleuropolmonite fibrino-necrotico-emorragica

La suscettibilità del ceppo di *P. multocida* isolato ad un pannello standard di antibiotici è stata testata mediante il metodo della disco diffusione (Test di Kirby – Bauer).

I risultati del test, in accordo con i parametri interpretativi indicati dal Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2008 e 2013), ha evidenziato la sensibilità del ceppo di *P. multocida* ad Acido Nalidixico (30 µg), Amoxicillina + Acido Clavulanico (20/10µg), Cefalotina (30µg), Ceftiofur (30µg), Enroloxacin (5 µg), Gentamicina (10 µg), Kanamicina (30 µg), Spectinomina (100 µg), Tiamulina (30 µg), Tilmicosina (15 µg), Trimethoprim + Sulfonamidi (1.25/23.75 µg).

Il ceppo ha mostrato sensibilità intermedia al Florfenicolo (30 µg) mentre è risultato resistente ad Ampicillina (10 µg) e Tetraciclina (30 µg).

In accordo con i risultati dell'antibiogramma i suini sono stati sottoposti a trattamento antibiotico con Trimethoprim + Sulfonamidi (156 e 780 ppm rispettivamente) nel mangime per 4 giorni (in totale 3 cicli di trattamento, di cui il primo e il secondo a distanza di 7 giorni e il secondo e il terzo a distanza di 14 giorni) e con Tiamulina (400 ppm) nel mangime per 4 giorni. L'intervento terapeutico descritto si è dimostrato risolutivo e dopo questo non sono comparsi nuovi casi clinici riconducibili alla problematica sanitaria descritta.

DISCUSSIONE

Il caso clinico descritto riporta un focolaio di pleuropolmonite fibrino-necrotico-emorragica con isolamento di *P. multocida* tipo A pfhA+, verificatosi in un'azienda da ingrasso. La diagnosi è stata formulata sulla base dei rilievi anatomopatologici e degli esami di laboratorio, mediante l'isolamento in tutti i suini sottoposti ad indagini diagnostiche di *P. multocida*, la caratterizzazione molecolare dell'isolato e l'esame istopatologico.

P. multocida comprende 5 sierotipi capsulari (A, B, D, E, ed F) e 16 sierotipi distinti sulla base dei lipopolisaccaridi di parete. I capsulotipi A e D sono quelli più comuni nel suino e il capsulo tipo A è quello più frequentemente isolato in corso di polmonite.

Generalmente i ceppi dotati di capsula sono più virulenti rispetto ai ceppi acapsulati. La capsula batterica permette infatti di resistere alla fagocitosi e interferisce con il richiamo dei granulociti neutrofili. La patogenicità di *P. multocida* è associata anche ad altri fattori di virulenza che costituiscono importanti *marker* di patogenicità. Tra questi fattori l'emoagglutinina filamentosa (filamentous haemoagglutinin o pfhA) è codificata da un gene generalmente associato ai capsulotipi A, B, E ed F ed è presente nei ceppi ad alta patogenicità di *P. multocida* (Oliveira Filho et al., 2018).

Sebbene la pleuropolmonite fibrino-necrotico-emorragica riconosca come causa eziologica più importante *l'Actinobacillus pleuropneumoniae*, la diagnosi differenziale dev'essere posta con possibili casi dovuti ad *Actinobacillus suis* ed i cosiddetti ceppi pleuritici di *Pasteurella multocida* che raramente possono essere responsabili di queste lesioni anatomo-patologiche nel suino (Gottschalk et al., 2012). Casi di pleuropolmonite fibrino-necrotico-emorragica in allevamenti da ingrasso causati da ceppi di *P. multocida* tipo A con lesioni cosiddette "*A. pleuropneumoniae*-like" sono state descritte da altri Autori (Oliveira Filho et al., 2015).

Oliveira Filho et al. (2015) hanno descritto una sperimentazione in cui è stata somministrata una soluzione a diversa concentrazione di *P. multocida* tipo A ceppo 11246 per via intranasale a 4 gruppi di suini.

Gli Autori riportano che i suini cui era stata somministrata la soluzione con uguale numero di u.f.c di *P. multocida* tipo A presentavano lesioni differenti sia macroscopicamente che all'esame istopatologico. Gli Autori hanno ipotizzato che queste differenze potessero essere dovute alla diversa suscettibilità dei singoli animali all'infezione.

Nel caso clinico in oggetto lo sviluppo di pleuropolmonite in corso di infezione da *P. multocida* tipo A potrebbe dipendere sia dalla risposta individuale dei suini all'infezione, sia da fattori legati alla diversità genetica dei ceppi di *P. multocida* circolanti in allevamento.

L'elevata patogenicità del ceppo isolato di *P. multocida* tipo A e lo sviluppo di lesioni *Actinobacillus pleuropneumoniae*-like, infatti, potrebbe indicare la presenza di possibili differenze genetiche e di virulenza tra i ceppi circolanti.

Il trattamento antibiotico adottato nel caso clinico in oggetto si è dimostrato efficace, tuttavia in alcuni casi non ha portato ad una completa guarigione clinica degli animali. Questo potrebbe essere imputabile alla incapacità del farmaco antibiotico di raggiungere concentrazioni terapeutiche nel parenchima polmonare gravemente compromesso (Register KB et al., 2012).

Le più alte prevalenze di polmonite da *P. multocida* si osservano negli allevamenti ad elevata densità con scadente qualità dell'aria. La riduzione della diffusione di *P. multocida* in allevamento dipende principalmente da fattori manageriali quali tutto pieno/tutto vuoto, limitare l'introduzione di suini da altre aziende e determinare lo stato sanitario dell'azienda di provenienza, ridurre al minimo i rimescolamenti, e la densità degli animali. Storicamente *P. multocida* è considerata un patogeno opportunista secondario nel complesso della malattia respiratoria del suino. Studi recenti tuttavia hanno confermato il ruolo di patogeno primario di ceppi di *P. multocida* ad alta virulenza in grado determinare lesioni *A. pleuropneumoniae*-like (Olivera Filho et al., 2015)

A causa dell'impossibilità di arrivare a conclusioni eziologiche su base clinica o partendo dalle lesioni anatomo-patologiche, è importante svolgere esami di laboratorio di conferma sia a fini diagnostici, sia per la determinazione dei fattori di virulenza dei ceppi di *P. multocida* isolati da casi di pleuropolmonite fibrino-necrotico-emorragica.

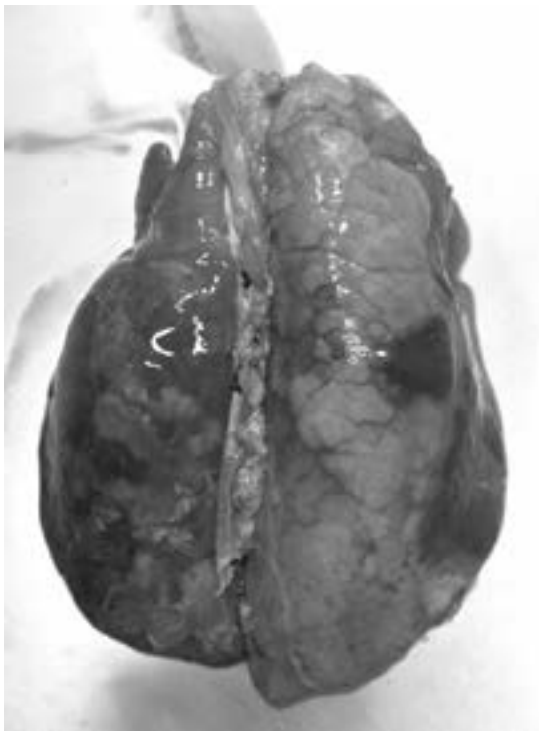


Fig. 1. Polmoni di uno dei suini morti con sintomi respiratori. Pleuropolmonite fibrino-necrotico emorragica

BIBLIOGRAFIA

1. Atashpaz S, Shayegh J, Hejazi MS. (2009) "Rapid virulence typing of *Pasteurella multocida* by multiplex PCR". Res Vet Sci. 87(3):355-7.
2. CLSI M31-A3: Performance standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria isolated From Animals; Approved Standards – Third Edition, vol. 28 n. 8, 2008.
3. CLSI VET01-A4: Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals; Approved Standard- Fourth Edition July 2013.
4. Gottschalk M. (2012) "Actinobacillosis" in Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Scharz KJ, Stevenson W. "Disease of swine", 10a ed., UK, Wiley-Blackwell, 653-669.
5. Oliveira Filho JX, Morés MAZ, Rebelatto R, Agnol AMD, Plieski CLA, Klein CS, Barcellos D, Morés N. (2015) "*Pasteurella multocida* type A as the primary agent of pneumonia and septicaemia in pigs". Pesq. Vet. Bras. 35(8):716-72.
6. Oliveira Filho JX, Morés MAZ, Rebellato R, Kich JD, Cantão ME, Klein CS, Guedes RMC, Coldebella A, Barcellos DESN, Morés N. (2018) "Pathogenic variability among *Pasteurella multocida* type A isolates from Brazilian pig farms". BMC Vet Res. 22;14(1):244.
7. Register KB, Brockmeier SL, de Jong MF, Pijoan C. "Pasteurellosis" in Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Scharz KJ, Stevenson W. "Disease of swine", 10a ed., UK, Wiley-Blackwell, 798-810.
8. Townsend KM, Boyce JD, Chung JY, Frost AJ, Adler B. (2001) "Genetic organization of *Pasteurella multocida* cap Loci and development of a multiplex capsular PCR typing system". J Clin Microbiol. 39(3):924-9.