



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE  
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA  
"BRUNO UBERTINI"  
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

LA NOSTRA  
ESPERIENZA,  
LA VOSTRA  
**SICUREZZA.**

# FORME ENTERICHE NEL SUINETTO SOTTO-SCROFA: DIAGNOSTICA DIFFERENZIALE E TECNICHE DI CAMPIONAMENTO

Andrea Luppi, DVM, PhD, Dipl. ECPHM

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Sede di Parma

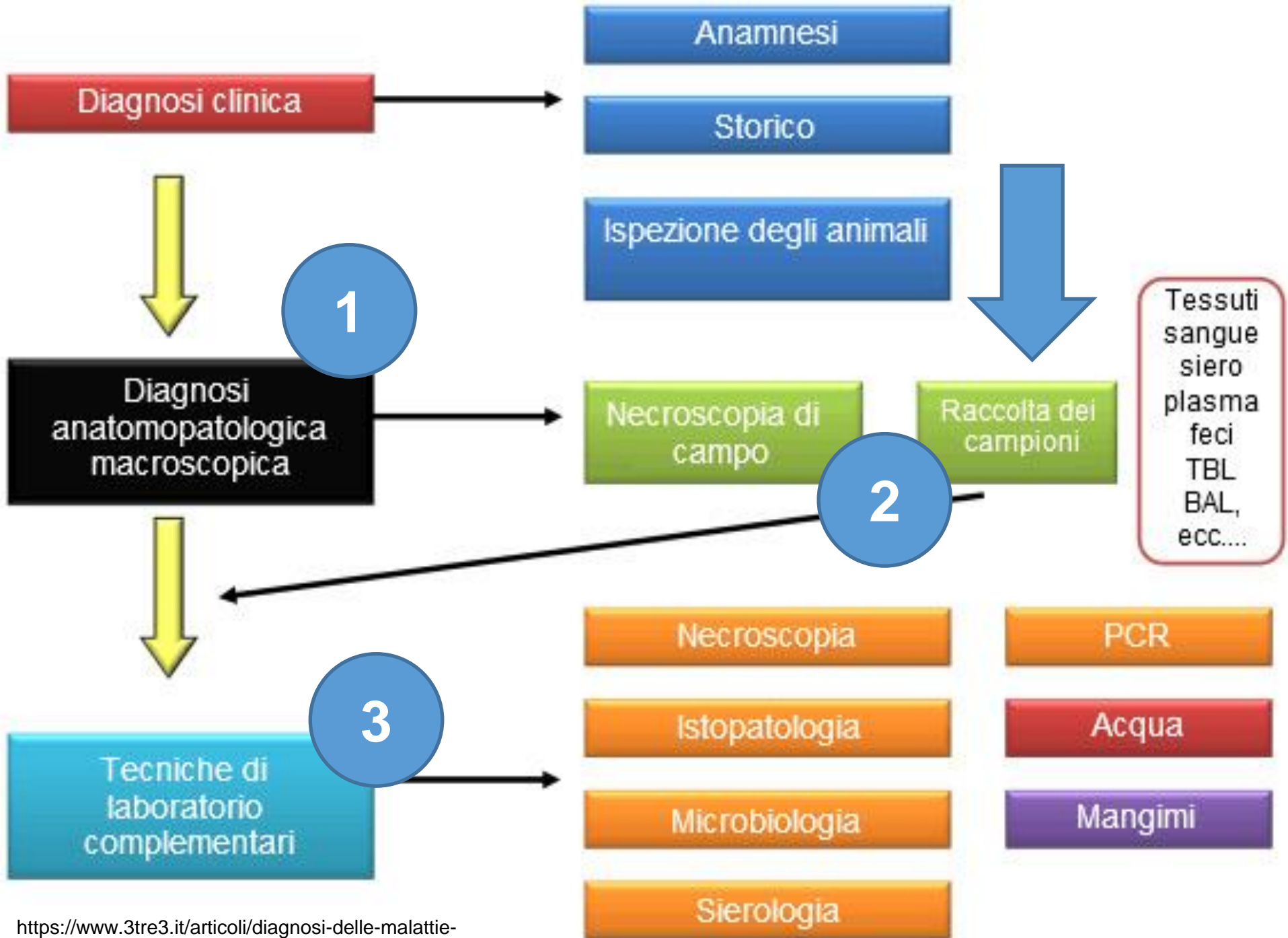


# DIAGNOSI



**Processo** di verifica della **presenza di un agente patogeno** associato a quadri clinici ed anatomo-isto-patologici, che porta ad una diagnosi eziologica.

**Deve sottostare a definiti criteri diagnostici.**





# MALATTIA ENTERICA: CAMPIONAMENTO

Dal campionamento **dipende** gran parte del successo dell'iter diagnostico

La **risposta ad alcune domande** dovrebbe aiutare ad un corretto campionamento:

Le **procedure di campionamento** sono **standardizzate, codificate e adeguate** rispetto al sospetto clinico e al quadro anatomopatologico osservato?

Le **quantità** necessarie per l'esecuzione degli esami e le modalità di **conservazione** sono idonee?

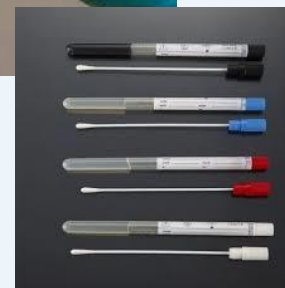
Sono state considerate le indagini diagnostiche **d'elezione** e quelle **complementari**?



Malattia/agente	Approccio diagnostico d'elezione	Analisi complementare
<b>Colibacillosi</b> ( <i>Escherichia coli</i> )	Isolamento microrganismo Genotipizzazione (tossine e fimbriae)	Istopatologia
<b>Porcine epidemic diarrhoea</b> (PED) - Coronavirus	Istopatologia Dimostrazione del patogeno (PCR, IHC)	-
<b>Clostridiosi</b> <i>Clostridium perfringens</i> Tipo C	Isolamento (quantificazione) Genotipizzazione	Istopatologia
<b>Clostridiosi</b> <i>Clostridium perfringens</i> Tipo A	Isolamento (quantificazione) Genotipizzazione	Istopatologia
<b>Clostridiosi</b> <i>Clostridium difficile</i>	Isolamento Dimostrazione tossine TcdA e/o TcdB Istopatologia	-
<b>Rotavirusi</b> Rotavirus	Istopatologia Dimostrazione del patogeno (PCR, IHC)	-
<b>Coccidiosi</b> ( <i>Cystoisospora suis</i> )	Flottazione, Istopatologia	Modificato da Ségales et al., 2014



# MALATTIA ENTERICA: CAMPIONAMENTO



**Esame  
anatomopatologico**

+4°C

**Esame  
parassitologico**

+4°C

**Esame  
virologico**

-20°C

**Esame  
batteriológico**

+4°C

**Esame  
istologico**

+4°C



# ESAME BATTERIOLOGICO e VIROLOGICO

- N
- S
- n
- c
- n
- s
- d
- C
- (-

cam

alat

4 ore a T° ambiente (28°C)

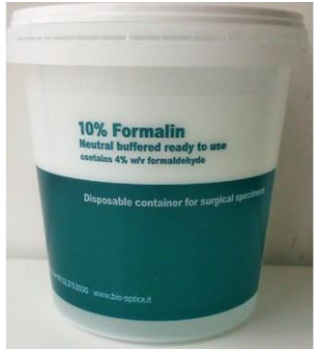
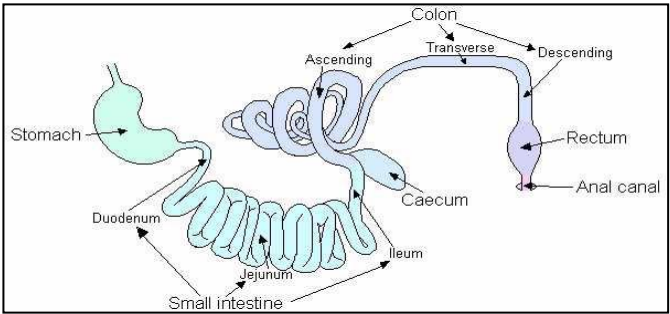
inter viro

zione



# MALATTIA ENTERICA: ESAME ISTOLOGICO

Tessuto/campione	Forma enterica
Linfonodi	Mesenterici 1 cm di spessore
Tonsille	Prelevare metà tonsilla
Milza	1 cm di spessore
Fegato	2x2x0.5 cm
Stomaco	3x3x1 cm
Digiuno	3 sezioni, 2 cm di lunghezza
Ileo	3 sezioni, 2 cm di lunghezza
Cieco e Colon spirale	3 sezioni, 2 cm di lunghezza

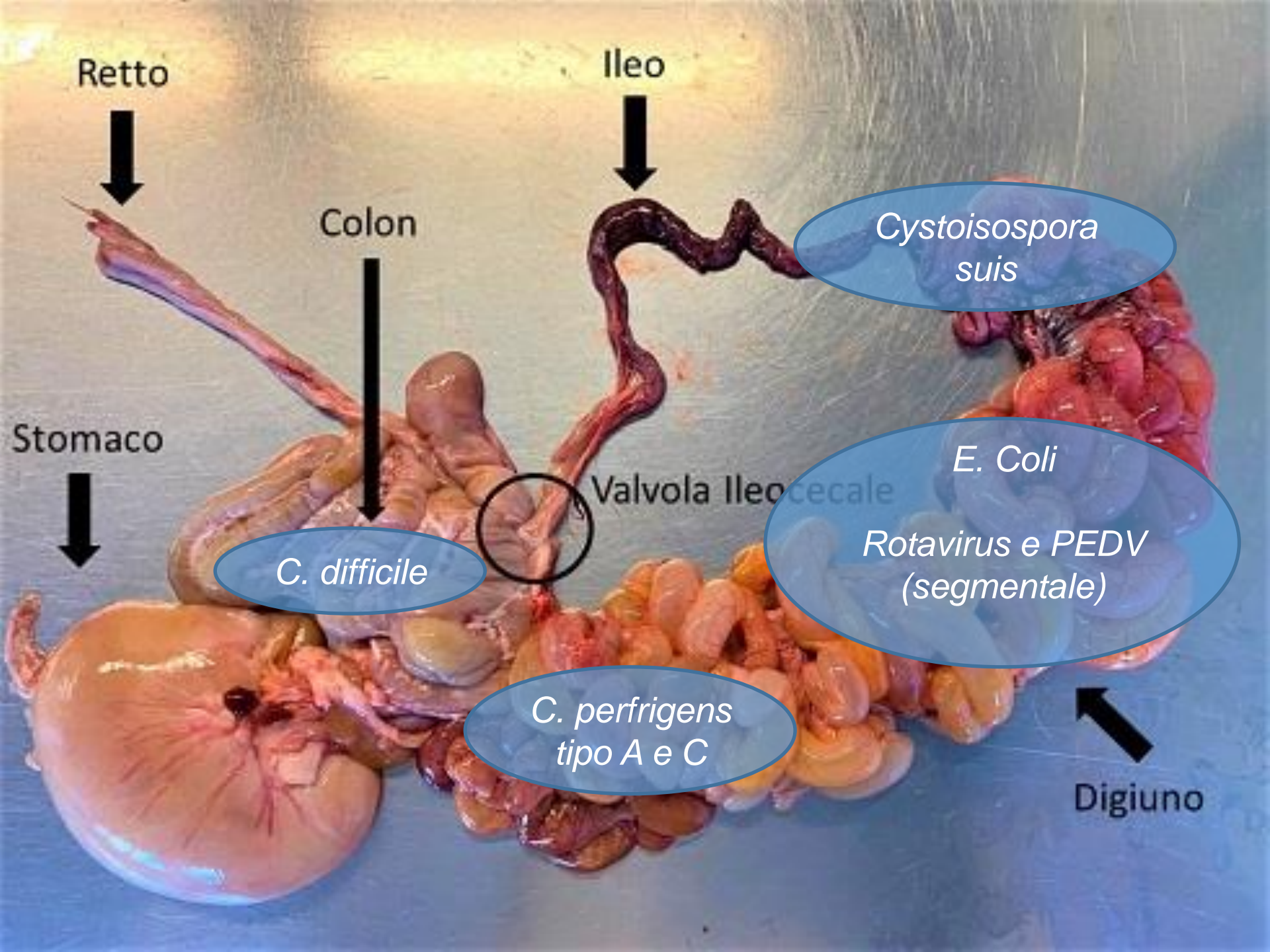


R  
(p  
m

ut  
r

:10  
0,8





Retto

Ileo

Colon

*Cystoisospora suis*

Stomaco

*E. Coli*

Valvola Ileocecale

*Rotavirus e PEDV (segmentale)*

*C. difficile*

*C. perfringens tipo A e C*

Digiuno





# DIAGNOSI MALATTIE ENTERICHE: CRITICITA'

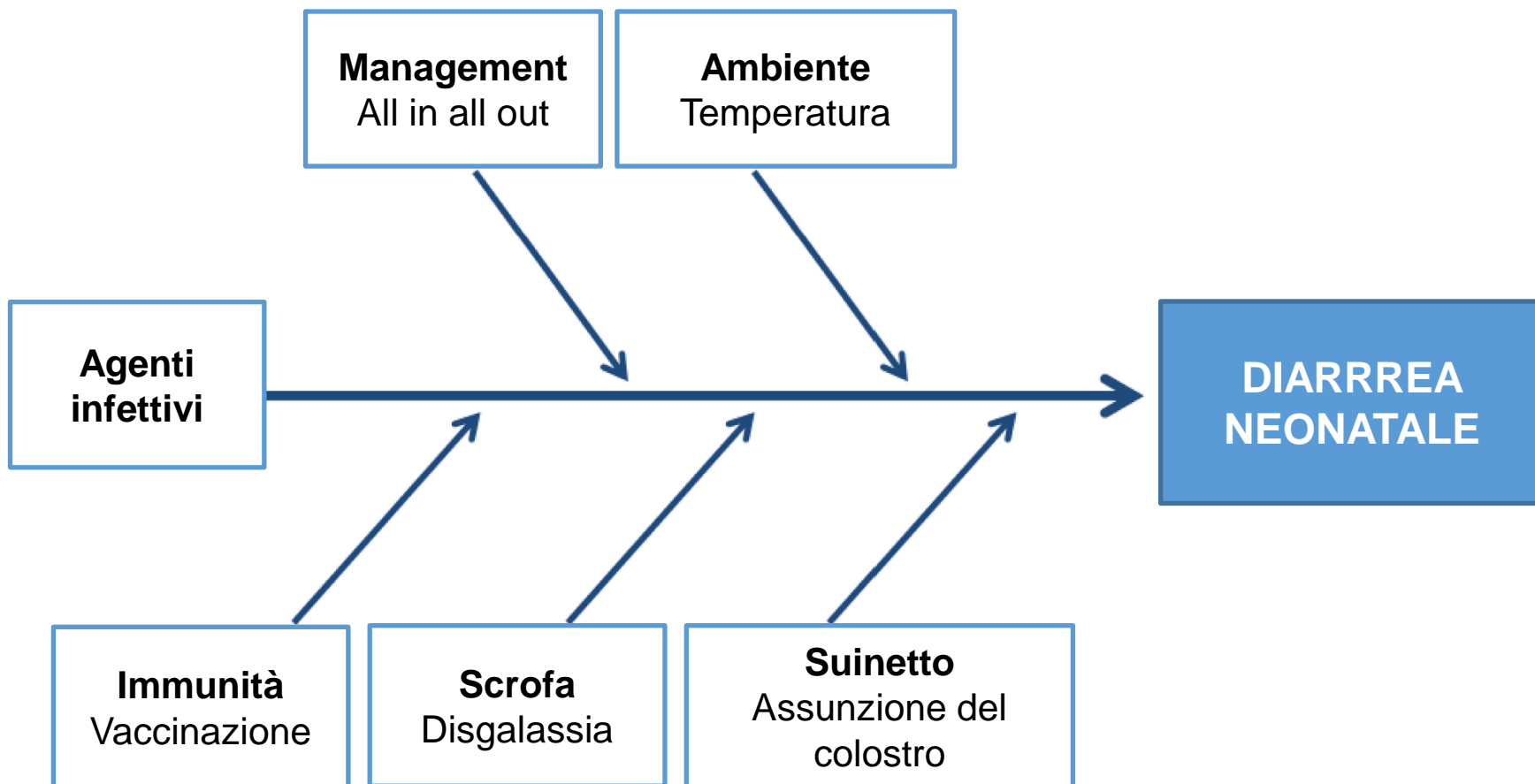




# DIAGNOSI MALATTIA ENTERICA: CRITICITA'



- **Multifattoriale condizionata**



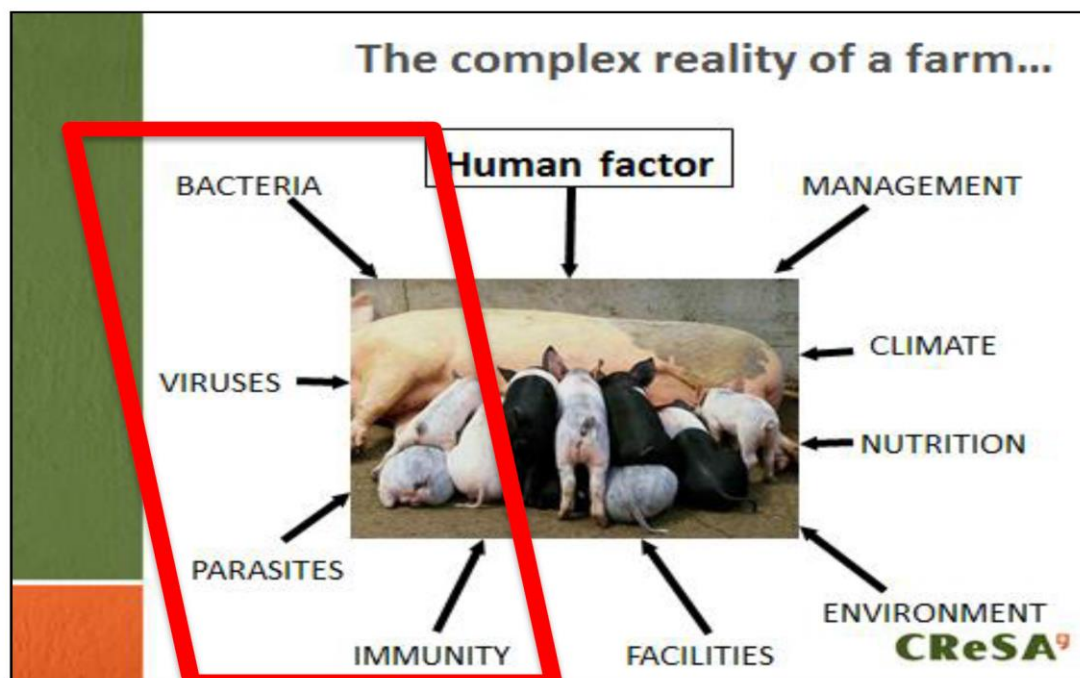




# CRITICITA'



Le malattie **infettive/contagiose** sono percepite come le più importanti.  
Normalmente la prima domanda di fronte a un problema sanitario è:  
**"Qual'è l'agente patogeno causale ?"**



**LABORATORY ANALYSES HELP HERE!**





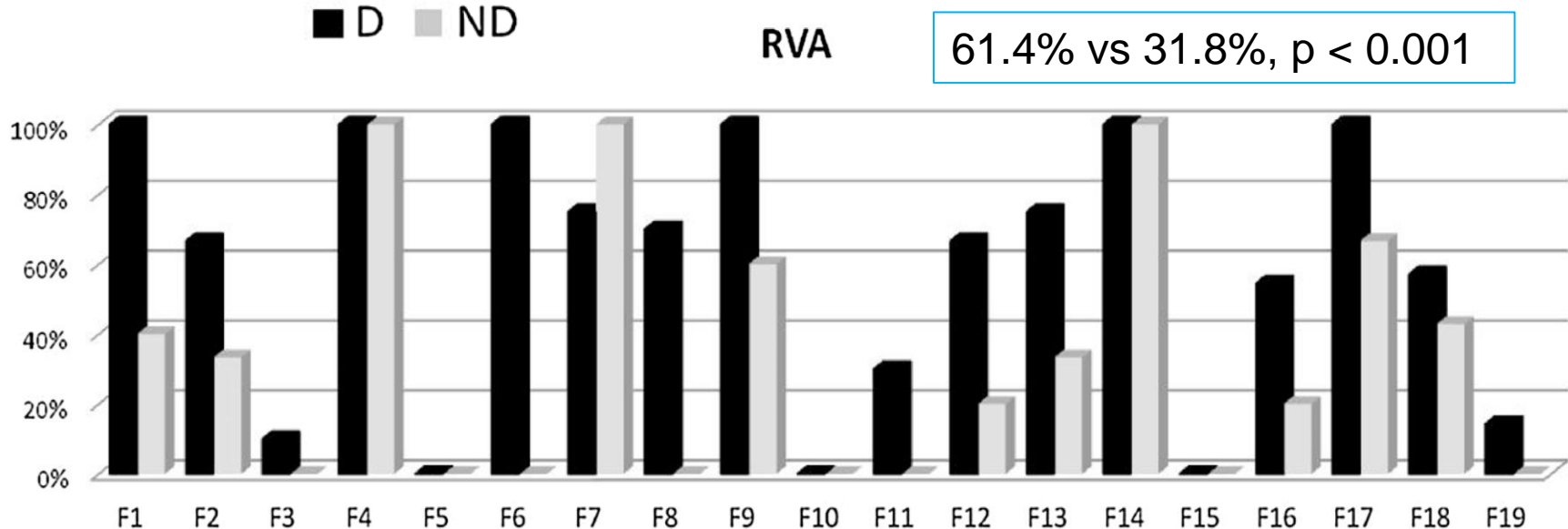
Country	Year	Diagnostic test	Age (days)	Symptoms	n=	% RVA positive	Reference
USA, Canada, Mexico	2009-2011	RT-qPCR	1-3	D	954	30%	[62]
			4-21	D	2144	46%	
			22-55	D	2538	84%	
			>55	D	1207	61%	
Argentina	1999	PAGE + antigen EIA	<45	ND	901	3.3%	[63]
Canada	2005-2007	RT-PCR	Slaughter	ND	96	8.3%	[64]
			>24	ND	50*	16.0%	
Denmark	2006-2007	EIA	1-28	D	308	10%	[65]
Germany	nd	EM	1-21	D	102	2.0%	[66]
Italy	2004-2006	RT-PCR	28-84	D	102	71.5	[67]
Ireland	2005-2007	RT-PCR	28-63	ND	292	6.5%	[68]
Slovenia	2004-2005	RT-PCR	1-21	D	6	50%	[69]
				ND	121	11.6%	
			22-70	D	14	35.7%	
				ND	133	25.6%	
			>70	D	13	46.2%	
Japan	2000-2002	PAGE	suckling	D	36	18 outbreaks	[70]
			weaning				
South Korea	2006-2007	nested RT-PCR	3-70	D	475	38.3%	[71]
Thailand	2000-2001	antigen EIA	7-49	D	175	22.3%	[72]
Vietnam	2012	RT-qPCR	all ages	D	76	19.7%	[73]
				ND	654	24.9%	

Legend: D diarrheic; ND non-diarrheic; EIA enzyme immunoassay; EM electron microscopy; PAGE polyacrylamide gel electrophoresis; \* mixed samples from multiple animals



## Prevalence of enteric pathogens in diarrheic and non-diarrheic samples from pig farms with neonatal diarrhea in the North East of Spain

Anna Vidal<sup>a,\*</sup>, Gerard E. Martín-Valls<sup>a</sup>, Montse Tello<sup>a</sup>, Enric Mateu<sup>a,b</sup>, Marga Martín<sup>a,b,1</sup>, Laila Darwich<sup>a,b,1</sup>





RESEARCH

Open Access



# Diarrhoea in neonatal piglets: a case control study on microbiological findings

Hanne Kongsted<sup>1,2\*</sup> , Karl Pedersen<sup>3</sup>, Charlotte Kristiane Hjulsgaard<sup>3</sup>, Lars Erik Larsen<sup>3</sup>, Ken Steen Pedersen<sup>2</sup>, Sven Erik Jorsal<sup>3</sup> and Poul Bækbo<sup>2</sup>

In totale, 268 suini arruolati nello studio provenienti da 60 allevamenti Danesi:

- 171 diarroici (diagnosi anatomopatologica di enterite)
- 97 non diarroici (assenti lesioni intestinali)

	Case piglets (n = 171)	Control piglets (n = 97)	P-value*
<i>C. difficile</i>	111 (65%)	55 (57%)	0.2
CpA cpb2	157 (96%)	90 (97%)	1
<i>E. hirae</i> present	76 (44%)	42 (43%)	0.9
Massive growth of <i>E. hirae</i>	28 (16%)	9 (9%)	0.1
Rotavirus A	42 (25%)	6 (6%)	< 0.001

\*Two-sided Fisher's exact test



# PRINCIPALI MALATTIE ENTERICHE DEL SUINO



Età

Sottoscrofa

Svezzamento

Accr./ingrasso

Adulti

*E.coli*

*E.coli*

*E.coli*

*C.perfringens C*

*C.difficile*

*Enterococcus sp.*

*Cystoisospora suis*

Rotavirus

*C.perfringens A*

TGE

PED

*L. intracellularis*

*L. intracellularis*

*Salmonella spp.*

*Brachyspira spp.*







# ESCHERICHIA COLI PATOGENI: CLASSIFICAZIONE

Rhouma et al. *Acta Vet Scand* (2017) 59:31  
DOI 10.1186/s13028-017-0299-7

Acta Veterinaria Scandinavica

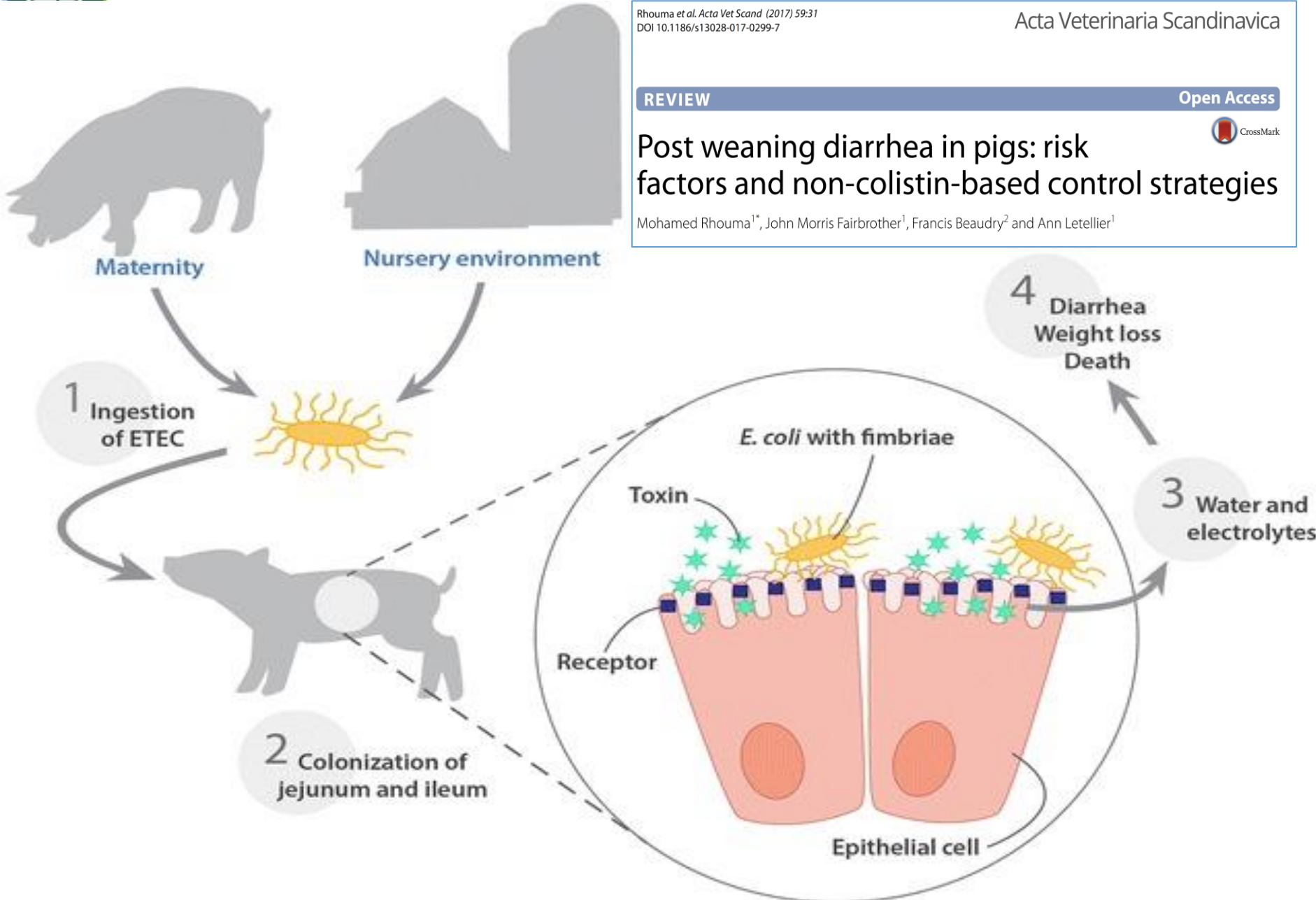
REVIEW

Open Access



## Post weaning diarrhea in pigs: risk factors and non-colistin-based control strategies

Mohamed Rhouma<sup>1\*</sup>, John Morris Fairbrother<sup>1</sup>, Francis Beaudry<sup>2</sup> and Ann Letellier<sup>1</sup>





Segni clinici compatibili con diarrea dovuta a colibacillosi da ETEC (suinetti di 0-4 gg di vita)

Necropsia e valutazione delle lesioni anatomopatologiche in 3-5 suinetti



**Campionamento:** intestini, feci, tamponi rettali



**Gold standard** per la diagnosi

**Analisi complementare** (su tessuti fissati in formalina)

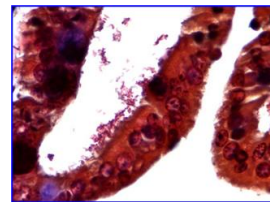
Batteriologia semi-quantitativa

Istopatologia  
Colorazione di Gram

Sono rispettati criteri quantitativi (*E.coli* coltivati in coltura pura)?

si

Tipizzazione



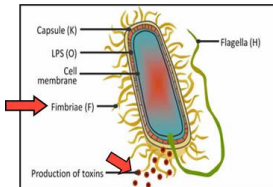
no



PCR geni fimbrie e tossine

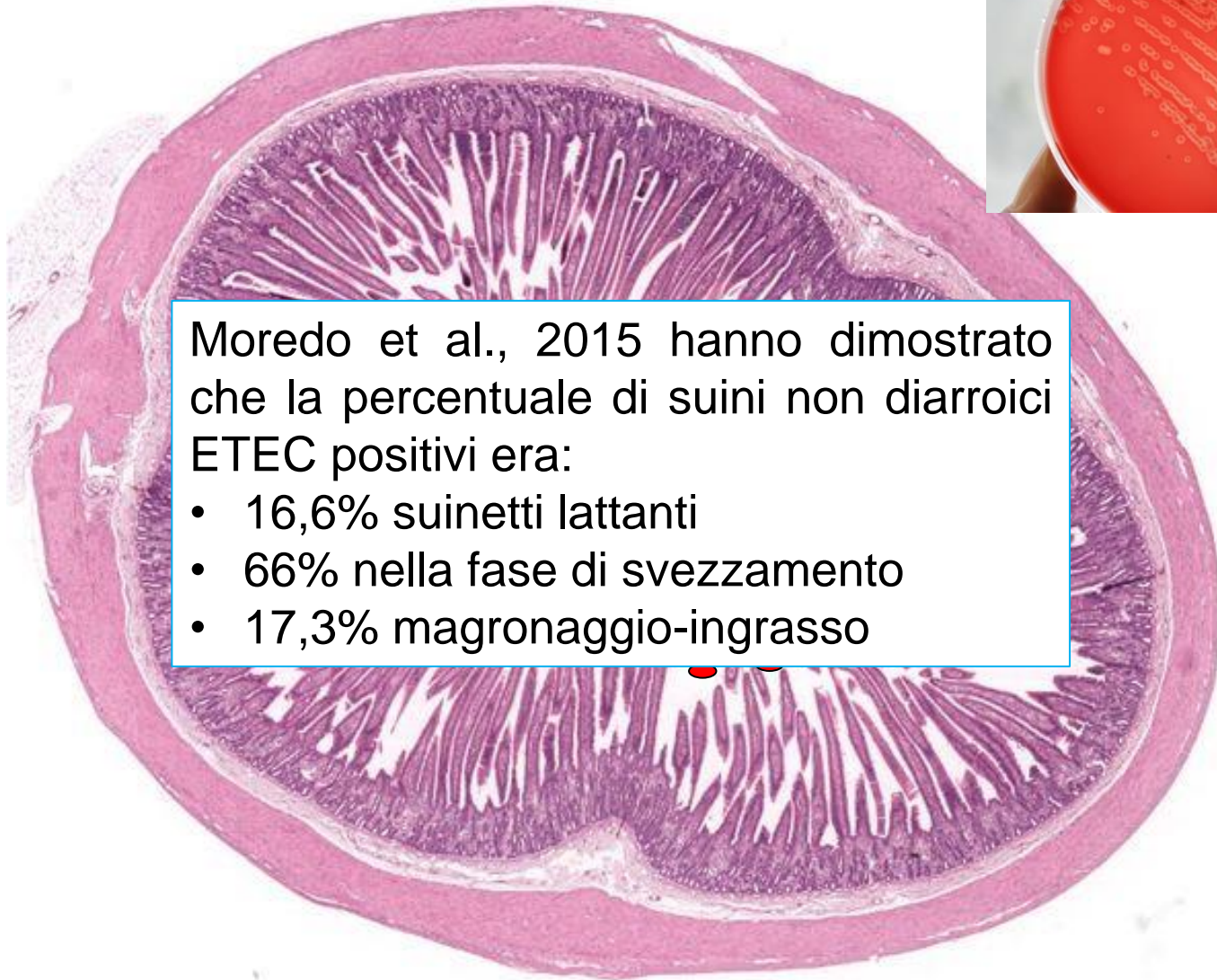
Presenza: colibacillosi dovuta ad ETEC confermata

Criteria diagnostici per la diagnosi di colibacillosi non rispettati





# PERCHÉ È IMPORTANTE LA “QUANTIFICAZIONE” DI *E. COLI* PATOGENO ISOLATO



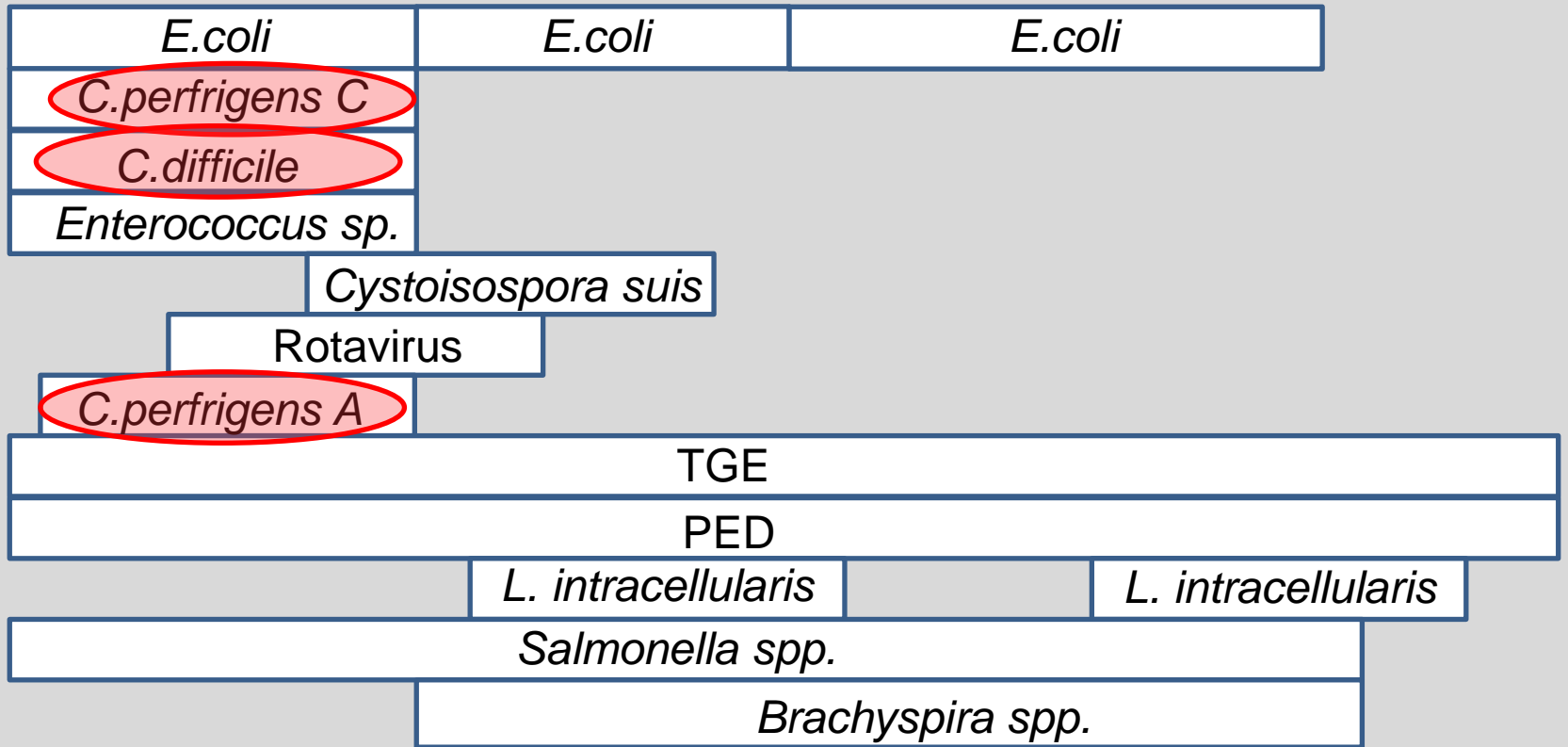
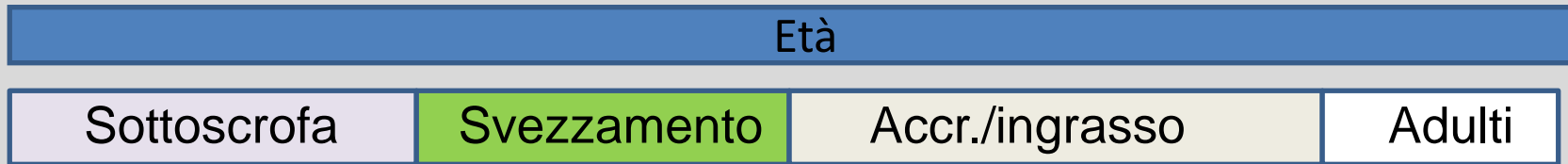
Moredo et al., 2015 hanno dimostrato che la percentuale di suini non diarroici ETEC positivi era:

- 16,6% suinetti lattanti
- 66% nella fase di svezzamento
- 17,3% magronaggio-ingrasso





# PRINCIPALI MALATTIE ENTERICHE DEL SUINO



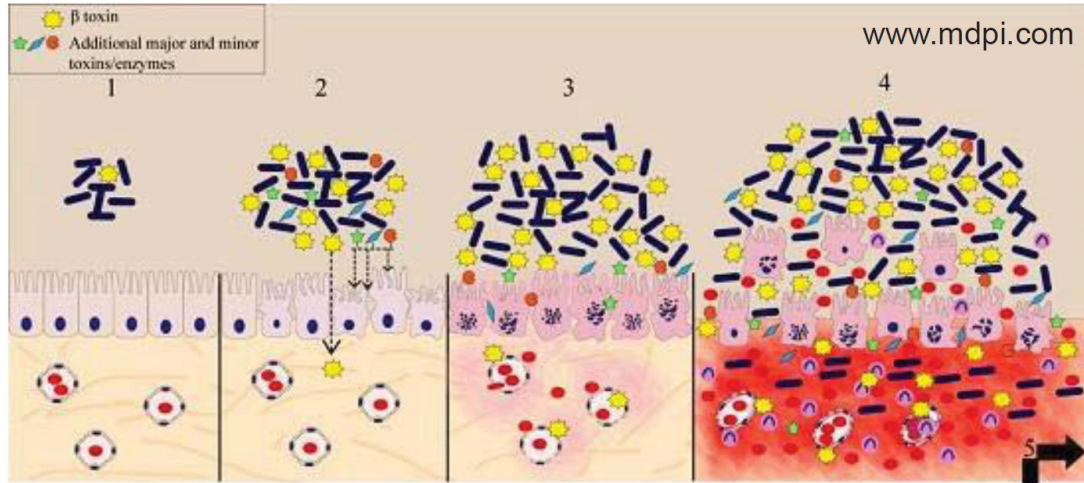




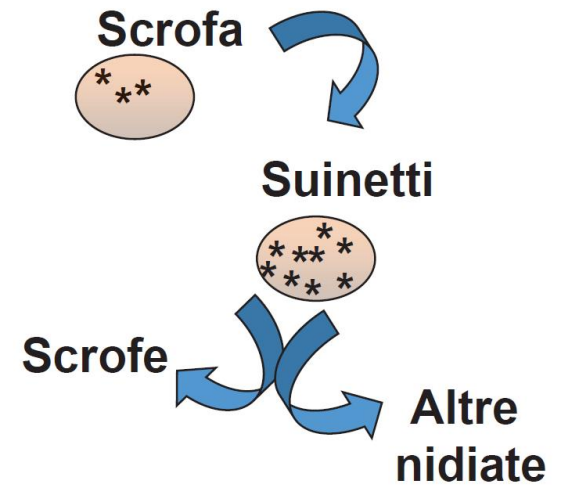
# CLOSTRIDIOSI



<http://textbookofbacteriology.net/>



$10^8-10^9$  UFC/gr. feci





# CLOSTRIDIOSI: aspetti diagnostici



Patogeno	Età comparsa	Tipo di diarrea	Tratto di intestino coinvolto	Mortalità	Esami di laboratorio
<b><i>C.perfringens</i> tipo C</b>	<b>PA: 1 gg A: 3 gg SA: 7 gg C: 10-14 gg</b>	<b>PA: acquosa con sangue A: bruna con sangue SA: acquosa grigio-gialla C: grigio-gialla</b>	<b>Digiuno ed ileo Enterite emorragica Ascite</b>	<b>100% nella forma PA e A</b>	<b>Esame colturale Genotipizzazione (Istopatologia)</b>

**Enterite necrotico emorragica segmentale o diffusa**



**Tossine: Alfa-beta-beta2**





# CLOSTRIDIOSI: aspetti diagnostici

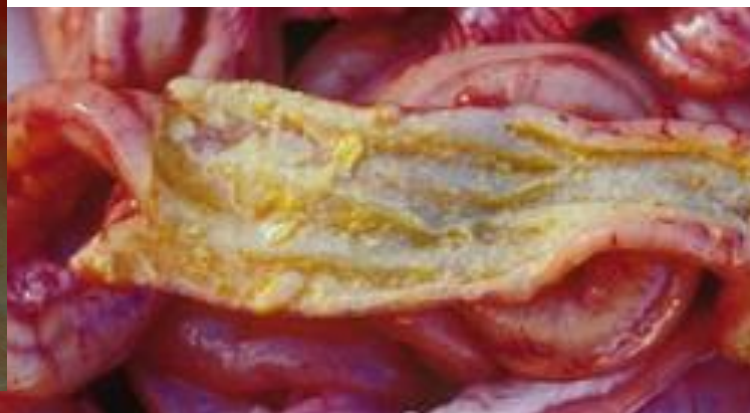


Patogeno	Età comparsa	Tipo di diarrea	Tratto di intestino coinvolto	Mortalità	Esami di laboratorio
<b><i>C.perfringens</i> tipo A</b>	<b>PA: 1 gg A: 3 gg SA: 7 gg C: 10-14 gg</b>	<b>Mucoide, rosa senza sangue</b>	<b>Digiuno ed ileo Presenza di membrane necrotiche</b>	<b>Bassa se non complicata</b>	<b>Esame colturale Genotipizzazione (Istopatologia)</b>

**Enterite necrotizzante**



**Tossine: Alfa-beta2**





# CONFERMA DI LABORATORIO



## Campionamento:

- piccolo intestino
- contenuto intestinale/feci

(*Clostridium perfringens*)

## • Isolamento e conta

$10^6 - 10^7$  UFC/gr



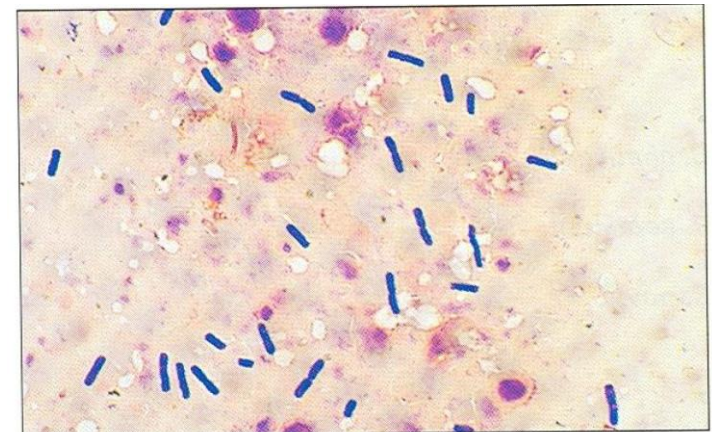
(Rosignoli, 2013)

- **Genotipizzazione:** geni codificanti le principali tossine



Tipo C	<b>Alfa + Beta +Beta2</b>
Tipo A	<b>Alfa + Beta2</b>

- **Istopatologia**







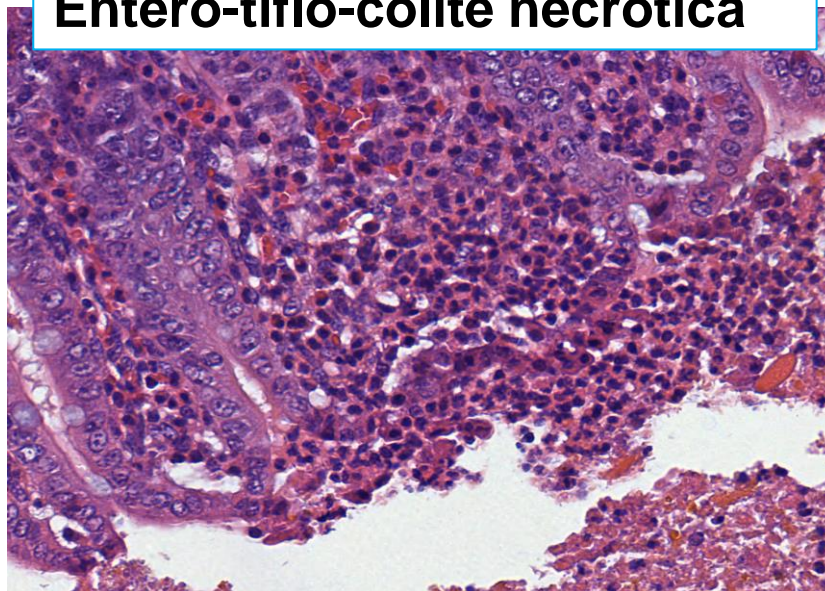
# CLOSTRIDIOSI: aspetti diagnostici



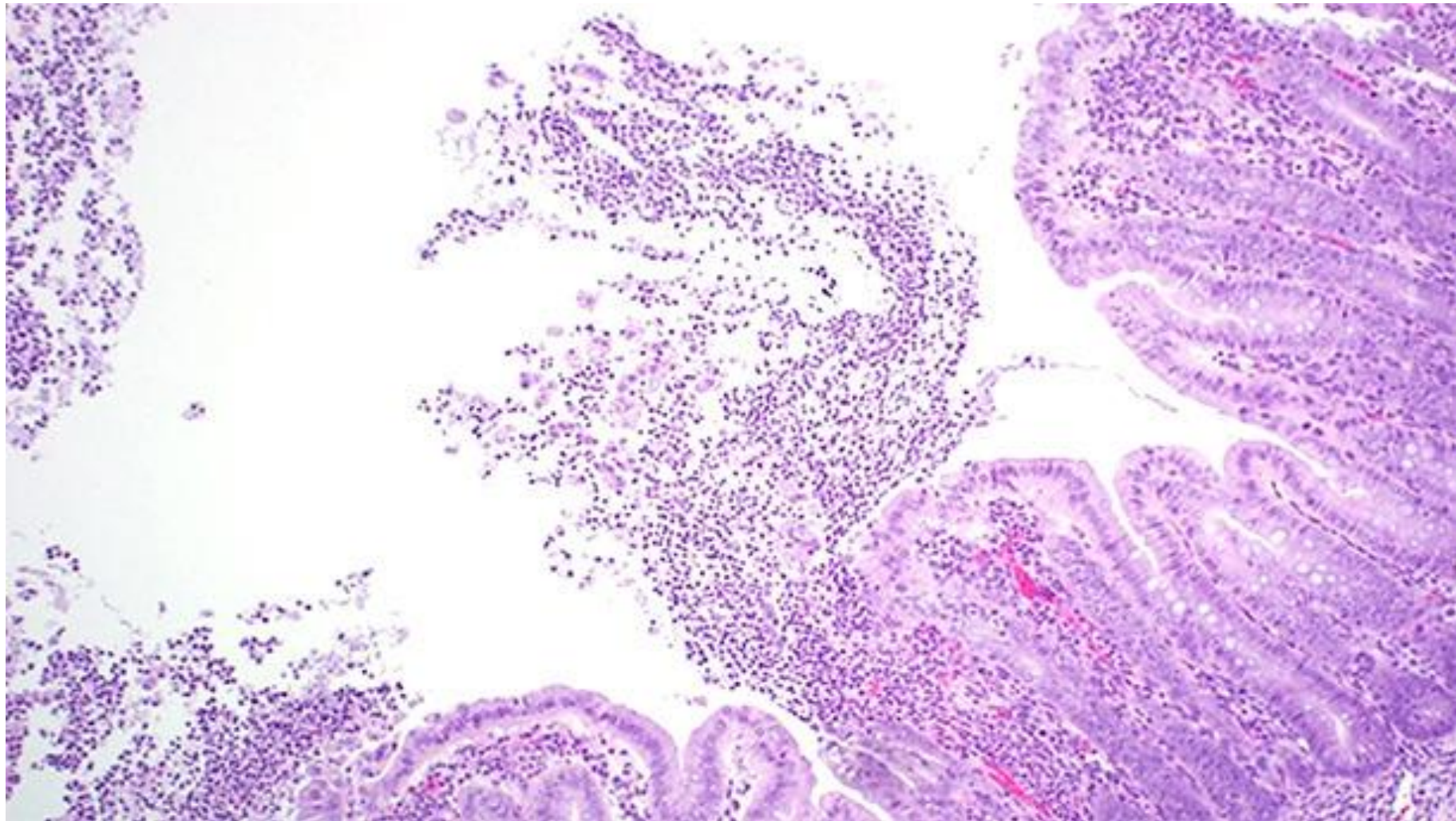
Patogeno	Età comparsa	Tipo di diarrea	Tratto di intestino coinvolto	Mortalità	Esami di laboratorio
<i>Clostridium difficile</i>	Nella prima settimana di vita	Cremosa e gialla	Edema del mesocolon Tiflocolite con erosioni focali	Variabile. Fino al 50%	Esame colturale Identificazione della tossina  Istopatologia



**Entero-tiflo-colite necrotica**







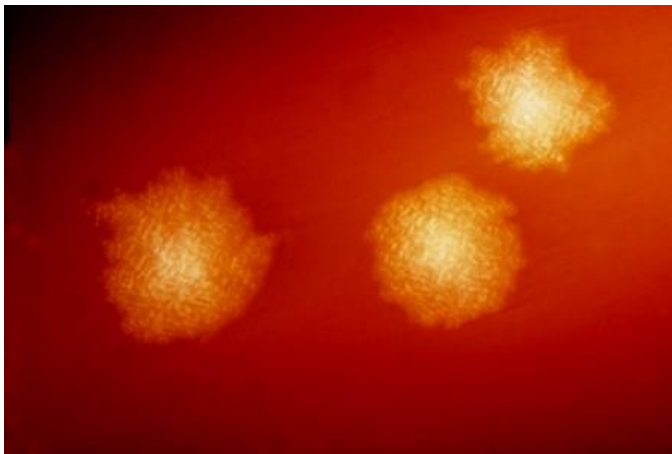


# CONFERMA DI LABORATORIO



**Campionamento:** Colon

**Approccio diagnostico:** batteriologia, ricerca geni per le tossine TcdA, TcdB e CDT; istopatologia (campione refrigerato)



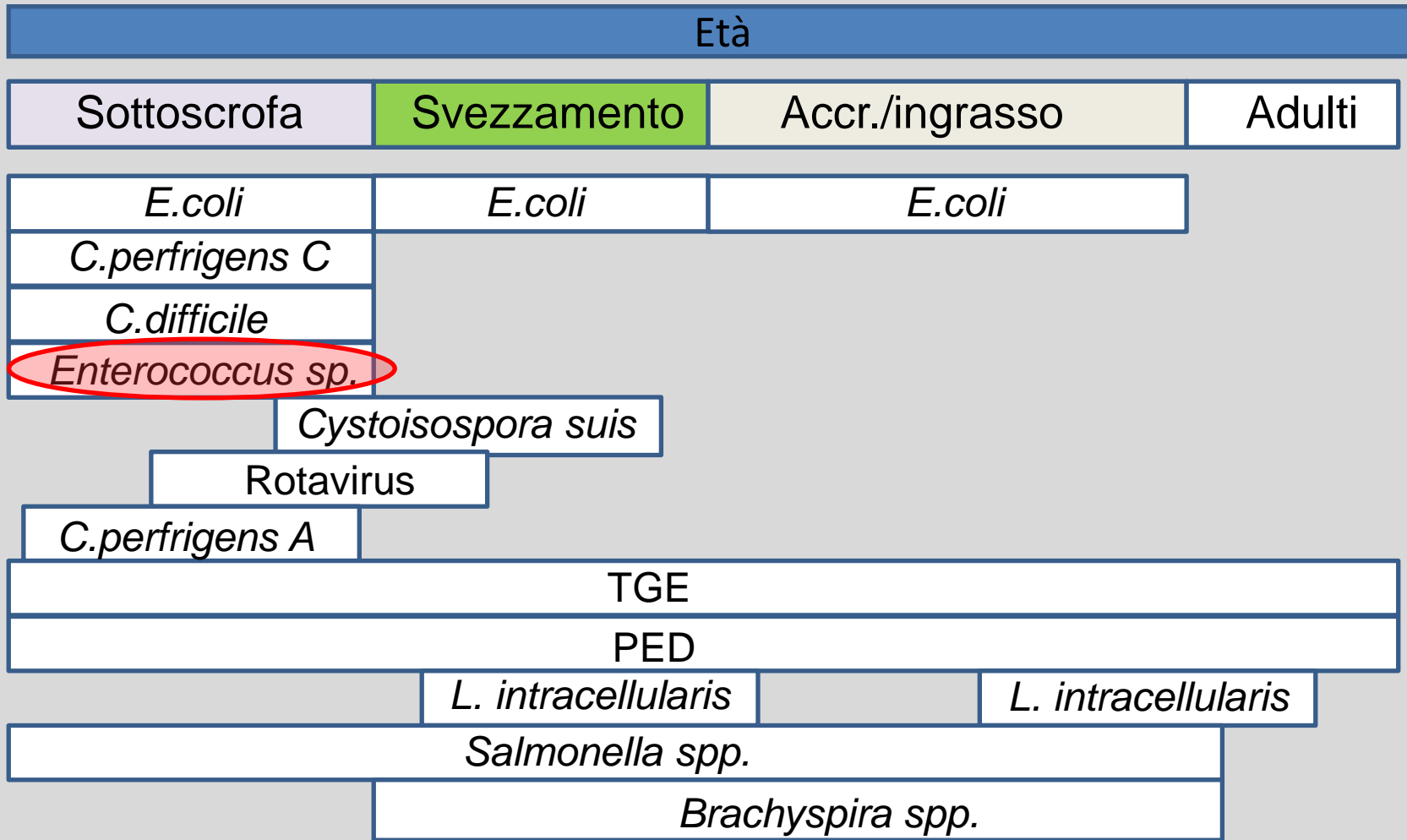
Dimostrazione delle tossine TcdA  
e/o TcdB  
(Tossine termolabili – campione  
congelato)

Primavilla et al., 2018

Importante associare i risultati di laboratorio con i rilievi clinici ed anatomopatologici data la frequente presenza di *C.difficile* in feci di animali clinicamente sani.



# PRINCIPALI MALATTIE ENTERICHE DEL SUINO







## INFECTIOUS DISEASE

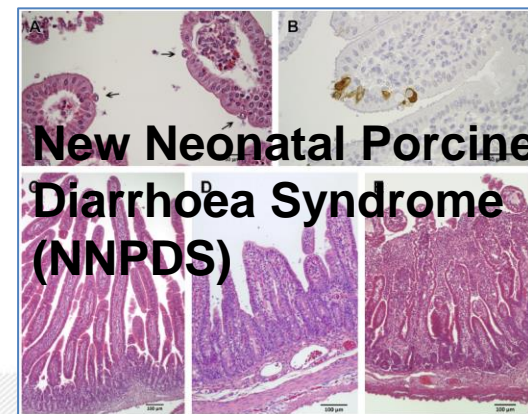
# Neonatal Piglet Diarrhoea Associated with Enteroadherent *Enterococcus hirae*

J. Larsson<sup>\*</sup>, R. Lindberg<sup>†</sup>, A. Aspán<sup>‡</sup>, R. Grandon<sup>†</sup>, E. Westergren<sup>‡</sup>  
and M. Jacobson<sup>\*</sup>

**Table 2**  
**Histopathological findings in the small intestine of diarrhoeic and healthy neonatal piglets from six herds (n = 29)**

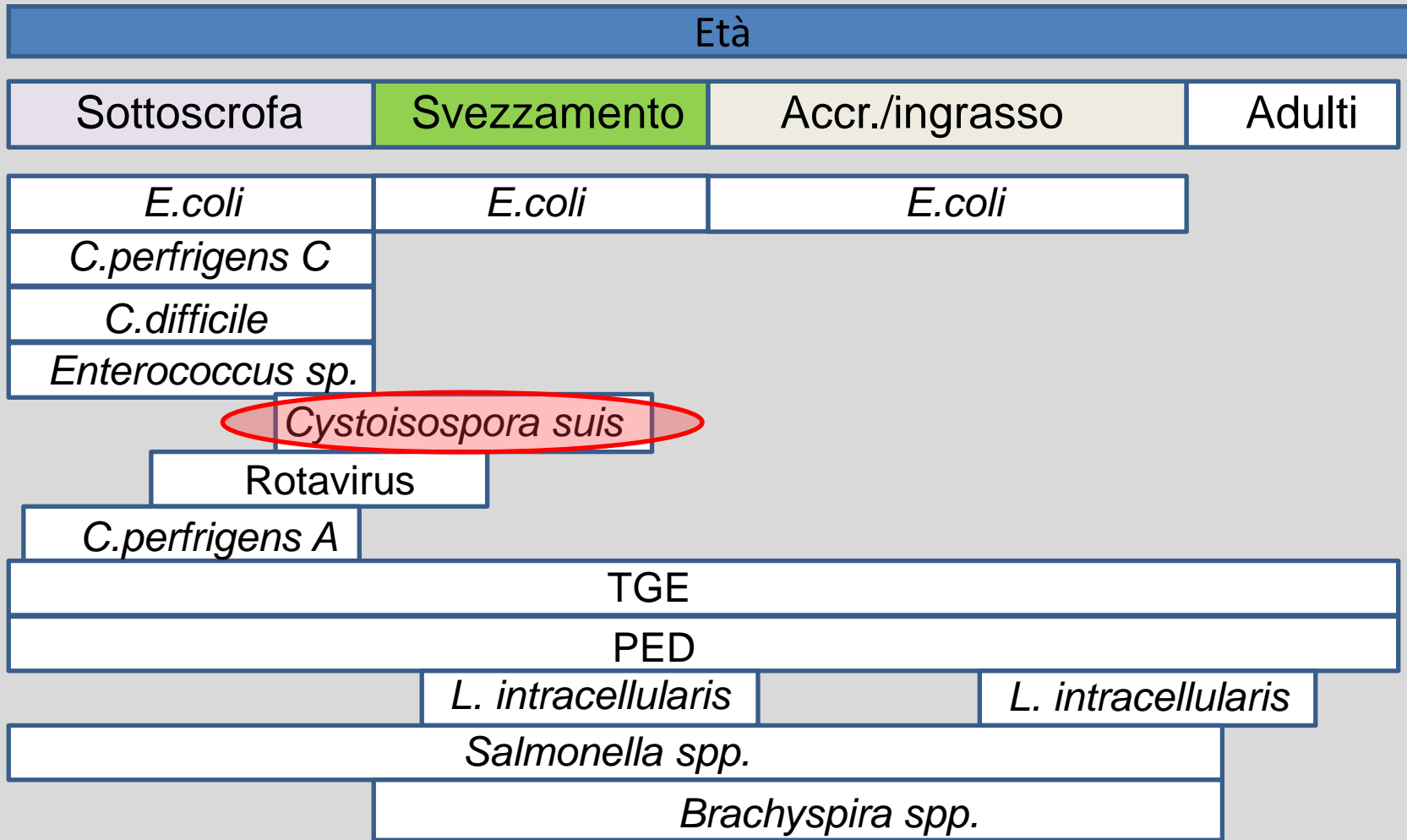
Lesion <sup>*</sup>	Diarrhoeic animals	Control animals
	n = (%)	n = (%)
Enteroadherent cocci	18 (100)	0 (0)
Epithelial lesions	10 (56)	0 (0)
Microthrombi in villus tips <sup>†</sup>	3 (17)	0 (0)
Villus:crypt ratio $\leq 3:1$ <sup>‡</sup>	4 (22)	0 (0)

6 allevamenti  
18 suinetti diarroici  
11 suinetti controllo





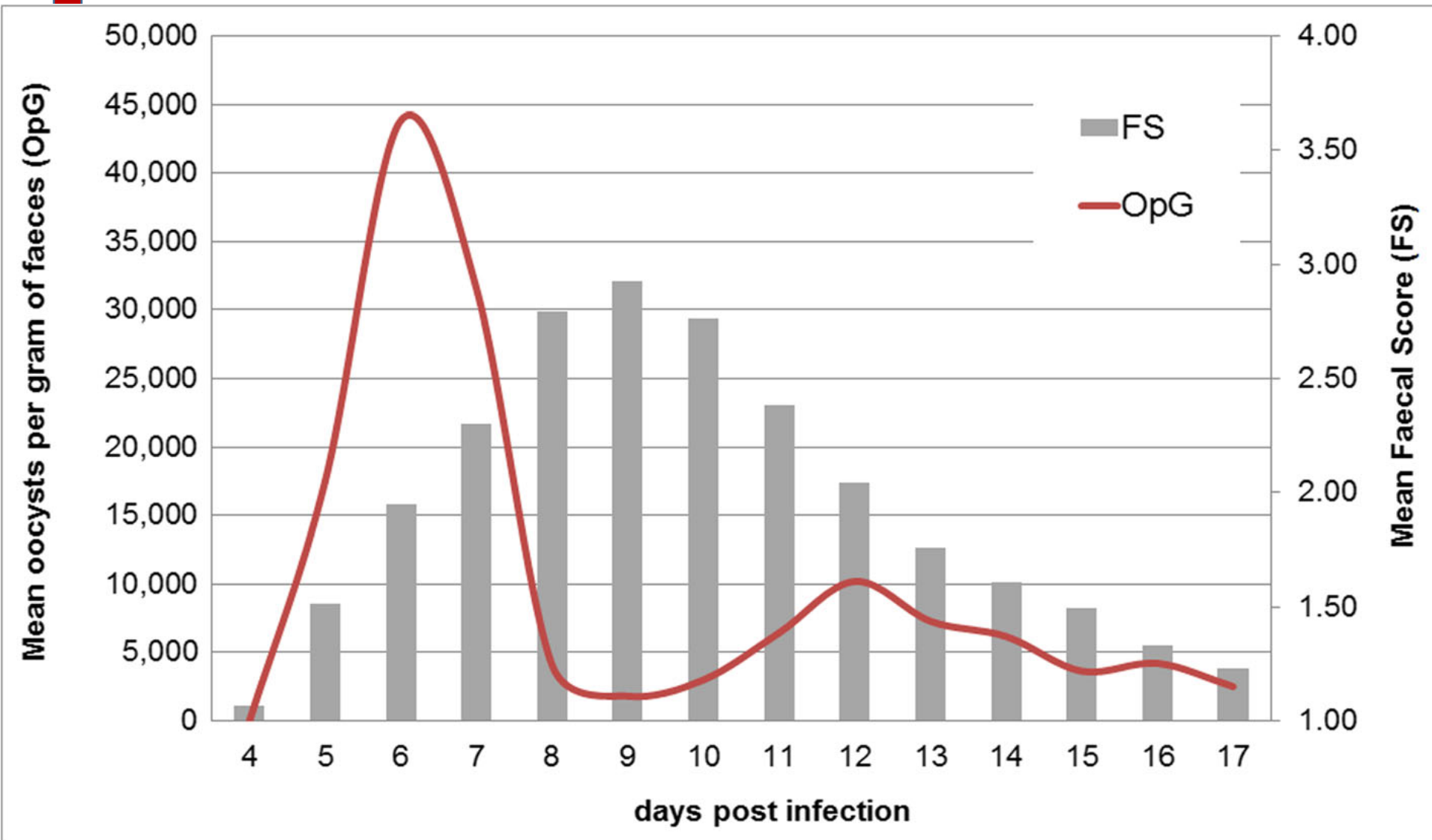
# PRINCIPALI MALATTIE ENTERICHE DEL SUINO





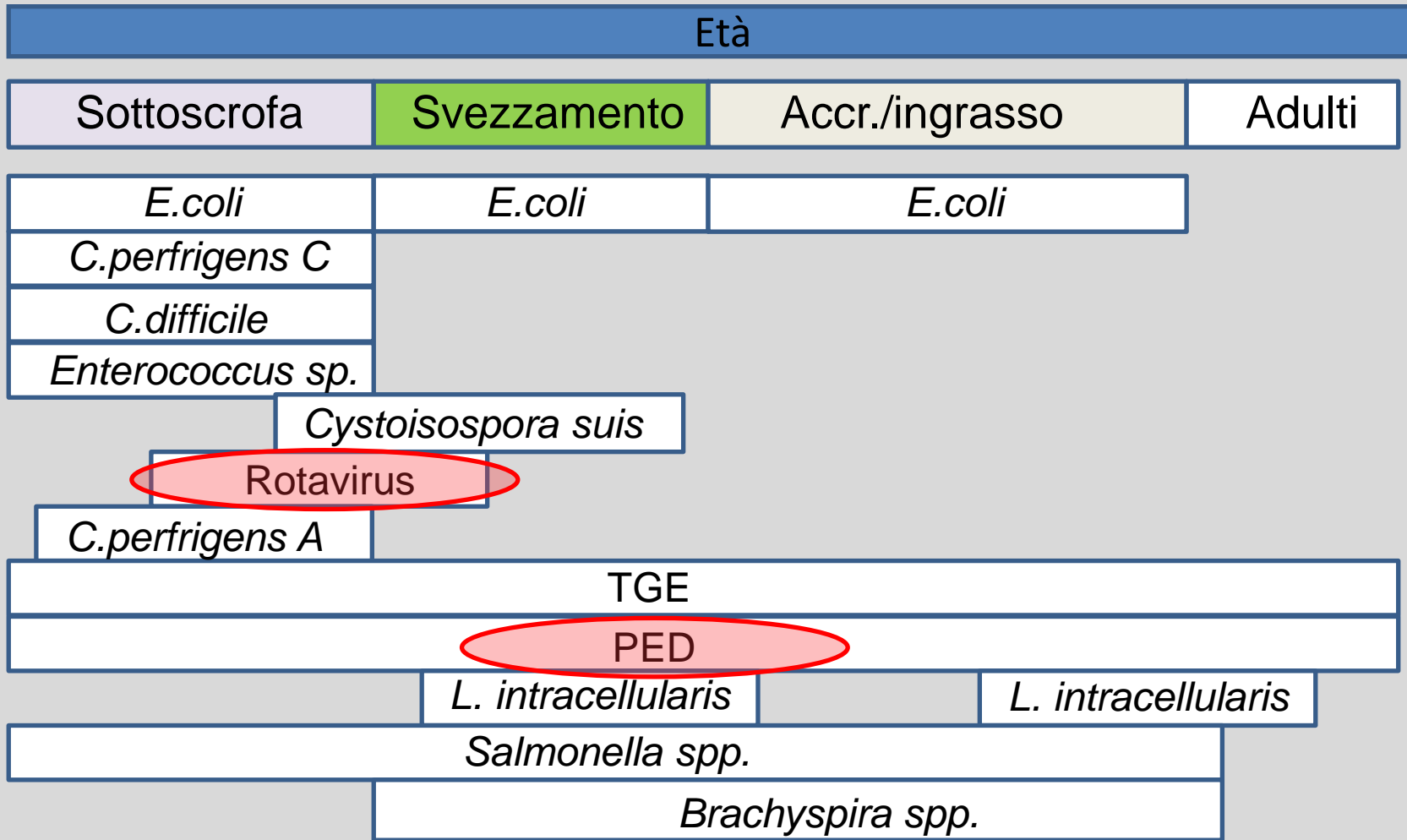
# Detection of *Cystoisospora suis* in faeces of suckling piglets – when and how? A comparison of methods

Anja Joachim<sup>1\*</sup>, Bärbel Ruttkowski<sup>1</sup> and Daniel Sperling<sup>2</sup>





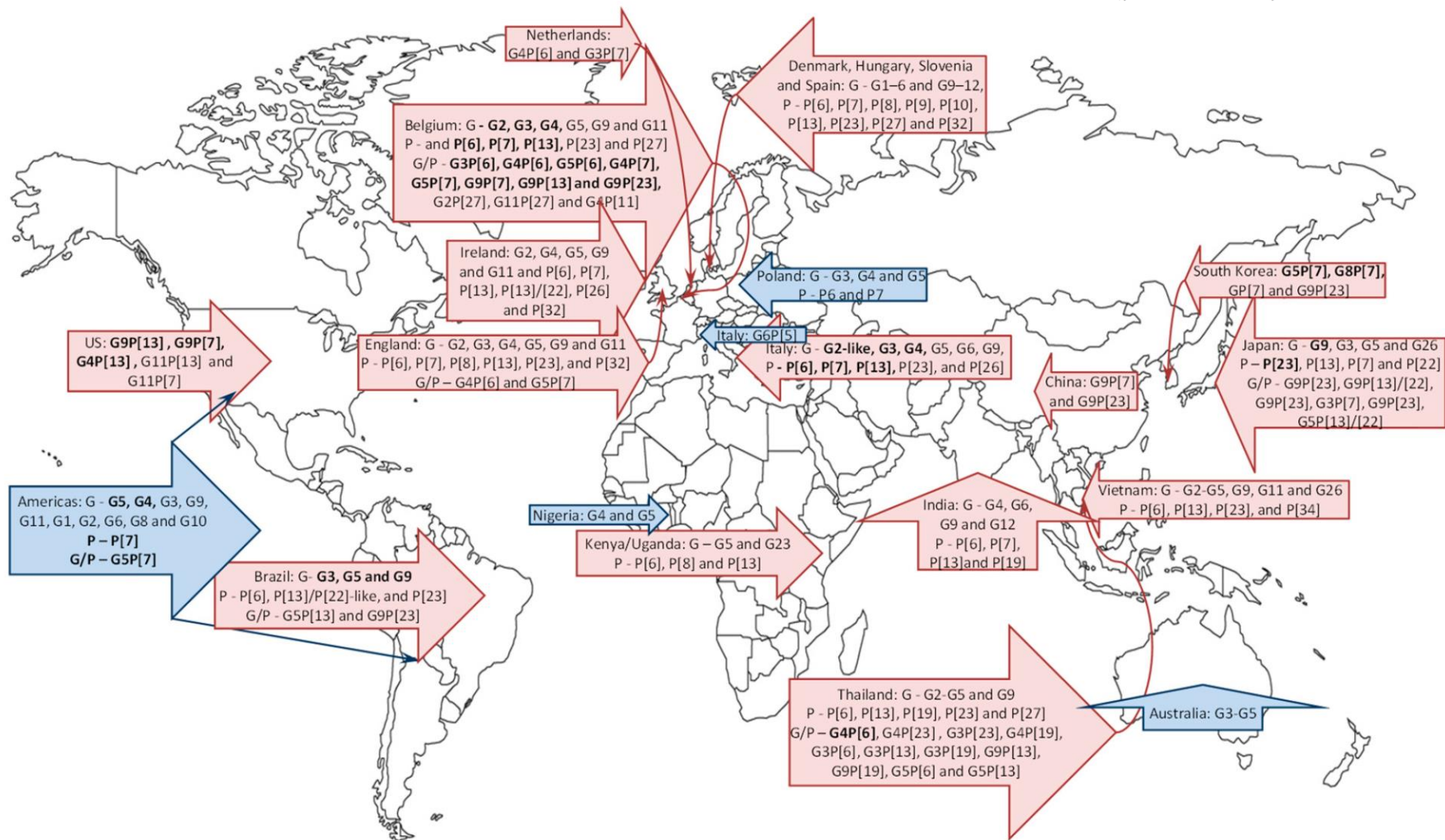
# PRINCIPALI MALATTIE ENTERICHE DEL SUINO







# ROTAVIRUS A





# ROTAVIRUS C



Review

Porcine Rotaviruses: Epidemiology, Immune Responses and Control Strategies

Anastasia N. Vlasova <sup>1,\*</sup>, Joshua O. Amimo <sup>2,3</sup> and Linda J. Saif <sup>1,\*</sup>



Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)



VIROLOGY



ELSEVIER

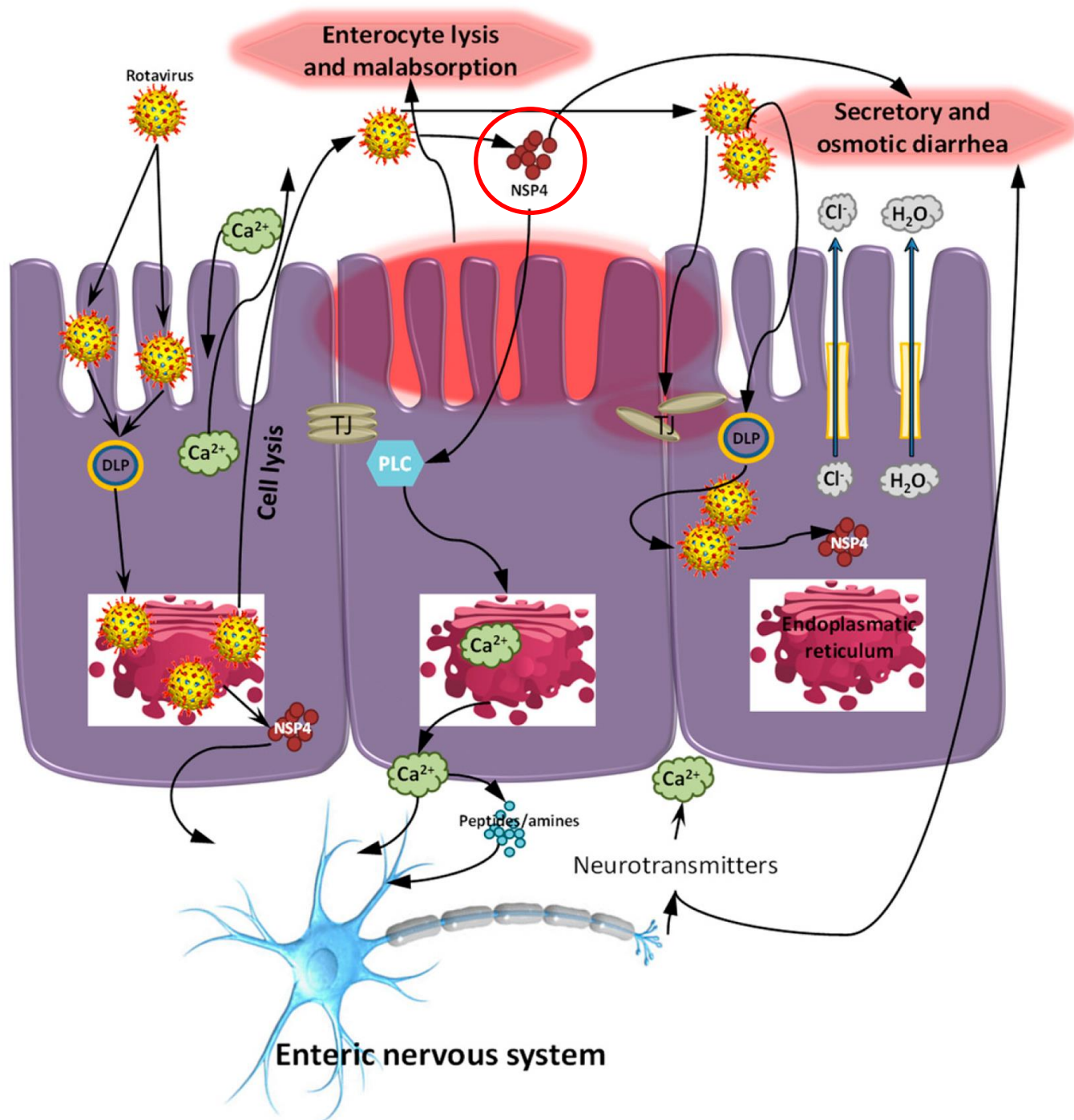
Virology 367 (2007) 358–366

[www.elsevier.com/locate/yviro](http://www.elsevier.com/locate/yviro)

## Genetic heterogeneity in the VP7 of group C rotaviruses

Vito Martella <sup>a,\*</sup>, Krisztián Bányai <sup>b</sup>, Eleonora Lorusso <sup>a</sup>, Nicola Decaro <sup>a</sup>, Anna Bellacicco <sup>a</sup>, Costantina Desario <sup>a</sup>, Marialaura Corrente <sup>a</sup>, Grazia Greco <sup>a</sup>, Paschalina Moschidou <sup>a</sup>, Maria Tempesta <sup>a</sup>, Serenella Arista <sup>c</sup>, Max Ciarlet <sup>d</sup>, Antonio Lavazza <sup>e</sup>, Canio Buonavoglia <sup>a</sup>









# CRITERI DIAGNOSTICI: Rotavirus



CLINICA

**Età:**

1-5 settimane

**Diarrea:**

Acquosa gialla-pH acido



NECROSCOPIA E  
CAMPIONAMENTO

**Organo target:** Piccolo intestino

Conservazione: +4°C (-20°C per PCR)

Fissazione in formalina: istopatologia e IHC

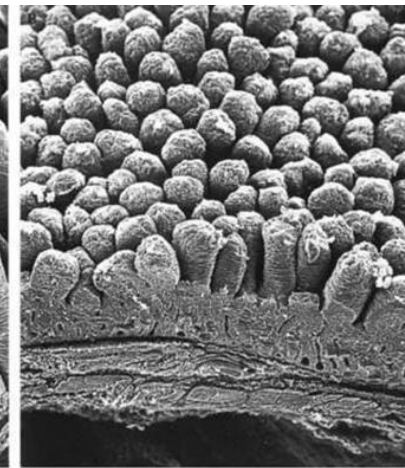
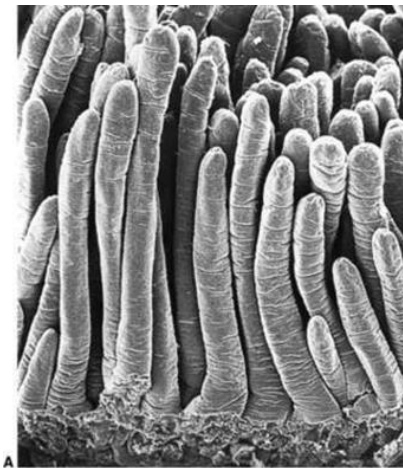
INDAGINI DI  
LABORATORIO

PCR

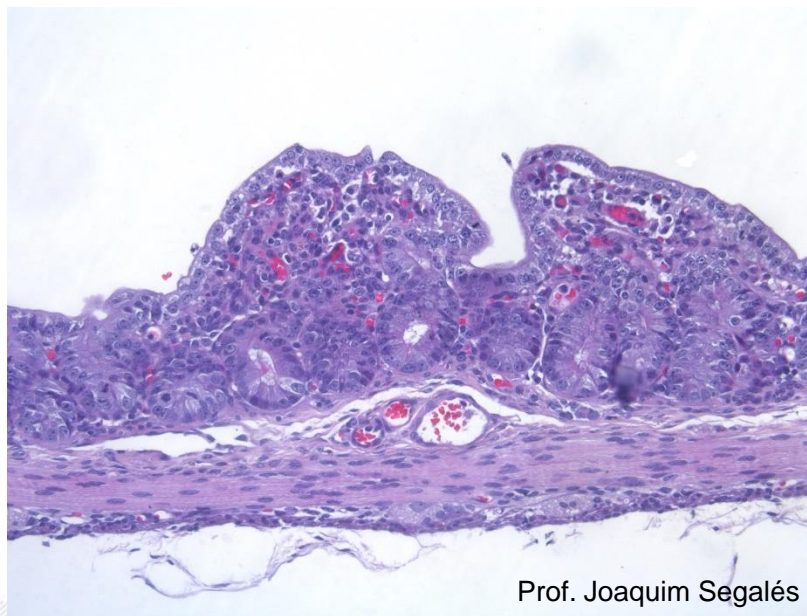
Istopatologia e IHC



# ATROFIA DEI VILLI



<https://obgynkey.com/infective-diarrhoea-and-inflammatory-bowel-disease/>



Prof. Joaquim Segalés





# CRITERI DIAGNOSTICI: PEDV



CLINICA

**Età:**  
tutte  
**Diarrea:**  
Acquosa gialla,  
biancastra, grigia.



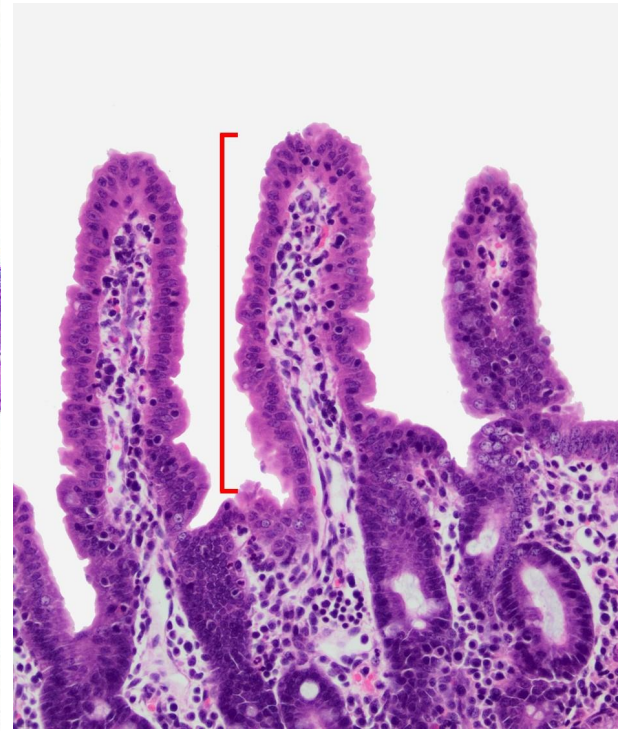
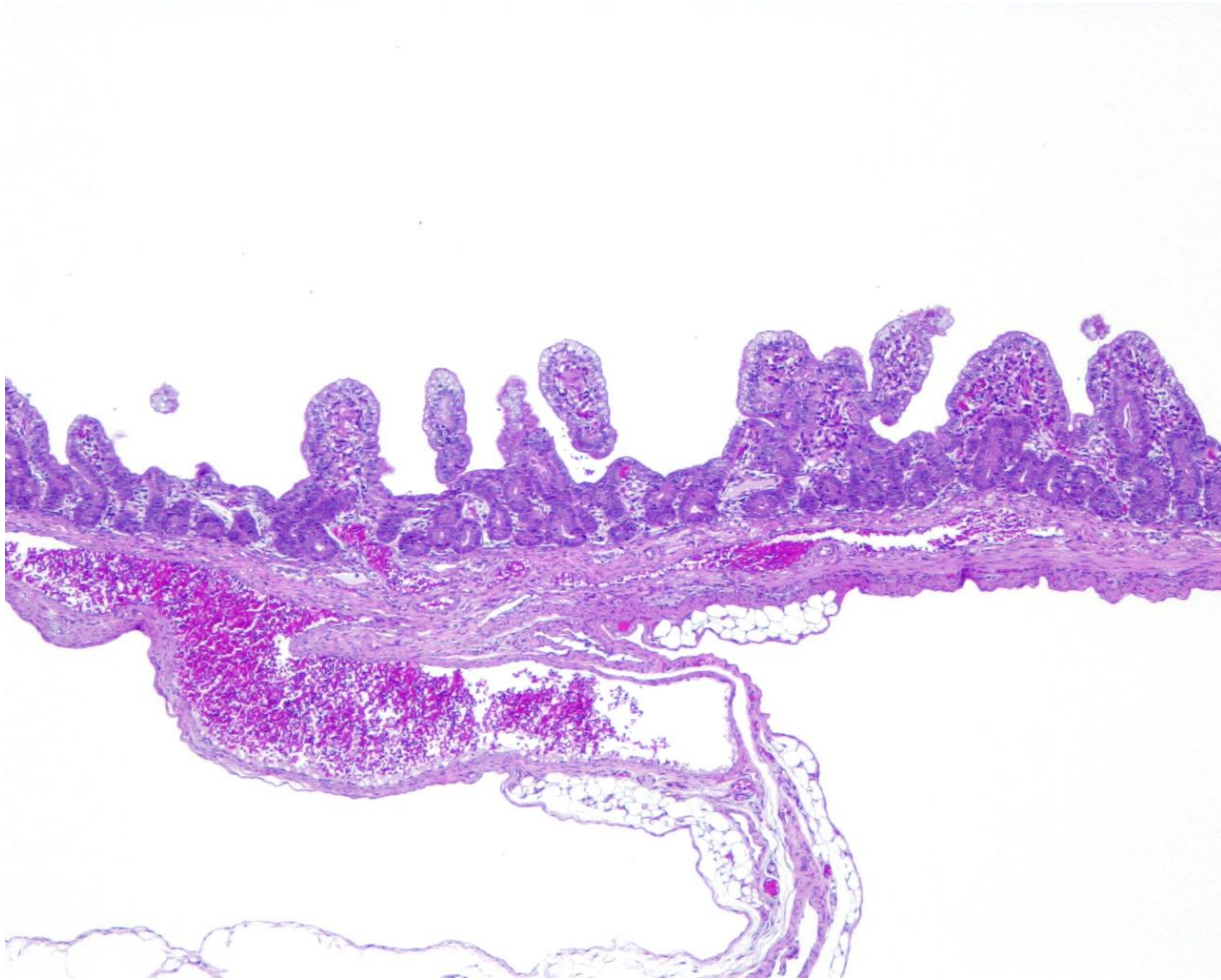
NECROSCOPIA E  
CAMPIONAMENTO

**Organo target:** Piccolo intestino  
Conservazione: +4°C (-20°C per PCR)  
Fissazione in formalina: istopatologia e IHC

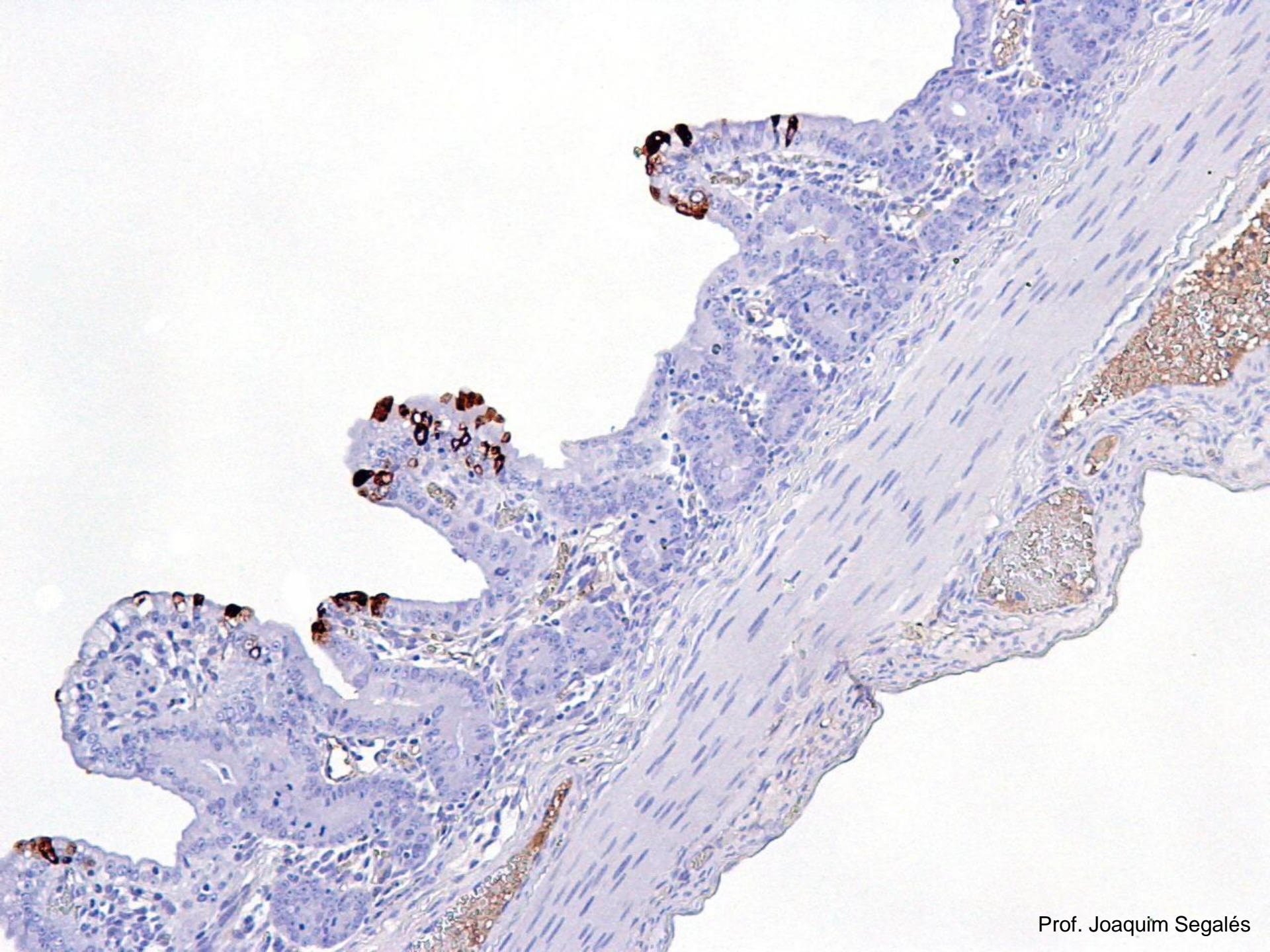
INDAGINI DI  
LABORATORIO

PCR  
Istopatologia  
IHC











# **TAKE HOME MESSAGE**





# **Grazie per l'attenzione**

[andrea.luppi@izsler.it](mailto:andrea.luppi@izsler.it)