

S*treptococcus suis* sierotipo 2 nel suino

Moshè David
Bruno Sona
ASL 17 Piemontese

Carla Grattarola
Alessandro Dondo
Daniela M. Bianchi
Silvia Gallina
Lucia Decastelli

I.Z.S. Piemonte,
Liguria e
Valle d'Aosta



Eziologia

Streptococcus suis è un batterio Gram positivo responsabile di molte forme patologiche del suino riscontrabili in tutti i Paesi ove tale animale è allevato.

Causa forme di meningite, encefalite, polmonite, endocardite, artrite, ascessi, oltre a determinare setticemia e morte nelle forme acute ed iperacute.

Sebbene questa infezione non sia altamente diffusiva nel territorio, rimanendo generalmente delimitata all'allevamento colpito, desta particolare interesse come zoonosi: nell'uomo, infatti, la streptococcosi si manifesta come una grave sindrome caratterizzata da setticemia, endocardite e meningite. Tale sindrome, descritta per la prima volta in Danimarca nel 1968, e causata da *Streptococcus pyogenes* del gruppo A (GAS- group A streptococci), prende il nome di "Streptococcal toxic shock syndrome" (STSS).

Recentemente, però, è stato evidenziato il coinvolgimento di altri Streptococchi, ed in

particolare di *Streptococcus suis*: in Cina, infatti, sono state descritte STSS nell'uomo causate da streptococchi non GAS e precisamente da un sierotipo di *Streptococcus suis*.

L'ambiente naturale di *Streptococcus suis* è rappresentato dal tratto respiratorio superiore, in particolare tonsille e cavità nasali, e dall'apparato genitale e gastroenterico dei suini. L'infezione interessa animali di tutte le età ma principalmente sono colpiti soggetti fra le 6 e le 10 settimane di vita.

A tutt'oggi sono stati identificati 35 sierotipi distinti tra loro per mezzo dell'antigene capsulare.

Il sierotipo isolato con maggiore frequenza su scala mondiale è lo *Streptococcus suis* tipo 2 (o SS2) che comprende ceppi a bassa o alta patogenicità, oltre a ceppi non patogeni. Vari autori suggeriscono che la virulenza dipenda dalla presenza o meno di fattori da identificare in determinate proteine extra-cellulari, associate alla membrana del microorganismo; inizialmente, ad esem-

pio, una proteina rilasciata dalla neuraminidasi della parete cellulare ed un fattore proteico extracellulare sono stati correlati col sierotipo virulento del ceppo 2.

I mutanti isogenici privi di queste due proteine sembrano essere tuttavia virulenti come il ceppo selvaggio. Va sottolineato come il preciso ruolo di queste proteine non sia stato ancora determinato, così come non è ancora del tutto chiara la modalità con cui *Streptococcus suis* oltrepassi la mucosa epiteliale del tratto respiratorio superiore per raggiungere il torrente circolatorio e come riesca successivamente ad invadere lo spazio subaracnoideo.

Un ruolo importante è sicuramente giocato da una emolisina, denominata sullisina, prodotta dal batterio ed in grado di distruggere le cellule endoteliali.

Infine *Streptococcus suis* induce, dopo l'interazione monociti-macrofagi, il rilascio di citochine proinfiammatorie e di chemochine la cui sovrapproduzione è fondamentale per la patogenesi della meningite.

Patogenesi

Normalmente, in seguito al contatto con proteine prodotte da agenti patogeni, il sistema immunitario attiva i linfociti T helper o coadiuvanti in misura inferiore a 1/10.000.

Quest'ultimi coordinano una serie di eventi che portano alla distruzione delle proteine estranee senza recare danno ai tessuti sani. In alcuni casi, invece, alcune proteine, introdotte o prodotte da agenti patogeni e denominate superantigeni, provocano una iperstimolazione del sistema immunitario tale da causare negative per l'organismo.

Questa risposta abnorme da parte del sistema immunitario era già stata segnalata all'inizio degli anni settanta da H.M Johnson e collaboratori: i loro studi avevano evidenziato un'infiltrazione abnorme di linfociti T nei tessuti intestinali a seguito della produzione di enterotossine da parte di *Staphylococcus aureus*.

In ricerche successive, si notava come que-

ste tossine (A, B, C, D ed E) portassero ad una produzione in grande quantità di citochine; tra queste l'interferone e l'interleuchina 2 ("tempesta di citochine") che hanno ruolo importante nell'attivazione dei linfociti T killer o citotossici, deputati alla distruzione delle cellule infette, e dei linfociti B che liberano anticorpi contro gli antigeni. Queste ricerche indicavano che i linfociti helper sono fra i bersagli delle enterotossine stafilococciche.

Altre ricerche hanno dimostrato che l'enterotossina A determina la produzione di elevate quantità di interleuchina 2 da parte dei linfociti T; l'uso di questa proteina in terapia sperimentale contro il cancro, infat-



ti, ha provocato malessere, febbre, vomito, diarrea, shock, ovvero sintomi simili ad una intossicazione alimentare.

Si può quindi presupporre che l'eccesso di questa citochina causi, in alcuni pazienti, la sindrome da shock tossico.

L'attivazione di un elevato numero di linfociti T può portare a fenomeni di autoimmunità in cui parte dei linfociti citotossici o soppressori distrugge i tessuti sani.

Vi è inoltre una manifestazione di immunodepressione causata dalla morte dei linfociti T in seguito alla iperstimolazione da parte degli superantigeni.

È verosimile che le esotossine di *Streptococcus suis* 2 si comportino da superanti-

geni con un meccanismo analogo a quello delle enterotossine di *Staphylococcus aureus*.

Recenti episodi umani STSS causata da *Streptococcus suis* sierotipo 2 in Cina

Nel giugno 2005 è stata segnalata nella contea di Ziyang, presso la regione di Sichuan nel sud-ovest della Cina, una misteriosa epidemia mortale umana contemporanea ad una mortalità straordinaria negli allevamenti di suini (647 capi).

Indagini anamnestiche hanno rivelato una similitudine ad eventi descritti nella medesima zona nell'estate del 1998 quando era stata registrata la morte di 14 persone (su 25 casi segnalati) e di 80.000 suini.

Nel 2005 questa epidemia ha interessato 204 pazienti (198 allevatori di suini, 5 macellai ed 1 veterinario) causando 38 decessi. La sintomatologia comprendeva STSS (febbre emorragica, vomito e sindrome renale), meningiti e setticemia; tutti i pazienti, inoltre, presentavano soluzioni di continuità a mani e piedi.

Una seconda ondata è stata poi registrata nel mese di agosto 2005 nella medesima zona, con tempo caldo, umido e piovoso.

La diffusione della patologia verso altre zone della Cina è stata associata alla vendita di carne suina infetta proveniente dalla provincia di Sichuan; a tal proposito va segnalato che una ulteriore ondata epidemica è stata nella regione del Guangdong nel mese di agosto 2005, oltre a nove casi segnalati a Hong Kong nel corso dell'anno. Tuttavia, non è chiaro se questi casi siano in qualche modo in relazione con l'epidemia nel sud della Cina.

La sintomatologia nell'uomo comprende inizialmente malessere generalizzato, febbre e diarrea; il successivo sviluppo è caratterizzato da iperpiressia, ipotensione, eritemi alle estremità con ulcere e petecchie

emorragiche. In fase avanzata si segnala una progressiva disfunzione di molti apparati vitali, arrivando a manifestazioni quali la sindrome da insufficienza respiratoria (ARDS), epatica, renale e cardiaca, oltre a coagulazione intravascolare disseminata (DIC) e coma. Questi sintomi sono compatibili con i parametri clinici della sindrome da shock tossico riconducibile a GAS.

Tra le possibili diagnosi differenziali, il primo sospetto diagnostico formulato è stato di Crimean Congo Hemorrhagic Fever (CCHF), malattia endemica nel bestiame di quella zona della Cina. Tale malattia riconosce come agente eziologico un virus RNA, appartenente alla famiglia *Bunyaviridae*, trasmesso dal morso di zecche che fungono da vettore. Una seconda ipotesi delle autorità sanitarie metteva in relazione l'epidemia del 2005 con l'influenza aviaria.

All'interno del focolaio è stato isolato *Streptococcus suis* 2 sia da prelievi di materiale patologico che da biopsie, effettuati su persone e su suini; il microrganismo Gram positivo isolato su Agar Sangue con emazie di montone, cresce sottoforma di colonie viscoso semitrasparenti ed umide circondate da aloni emolitici.

Altri esami (PCR) hanno identificato 5 geni (*gdh*, *mrp*, *epf*, *suilysin*, e *cps-2J*) codificanti per fattori di virulenza.

In totale, nell'ambito di questa ricerca, sono stati individuati 37 ceppi diversi provenienti da campioni umani e 8 provenienti da campioni prelevati da suini. Ricerche analoghe eseguite in passato (1998) su campioni umani ed animali, avevano dato i medesimi risultati.

L'indagine epidemiologica ha decretato l'origine zoonotica dell'epidemia, accertando contatti fra le persone colpite e suini malati o carcasse di suini macellati prima dello sviluppo di sintomatologia apparente. L'80% dei casi riguardava uomini ed il 40% delle persone colpite apparteneva alla fascia di età tra 50 e 60 anni. Nessun caso si è verificato in bambini e non è stata segnalata trasmissione interumana.

I provvedimenti intrapresi dalle autorità competenti hanno incluso il divieto di contatti con animali morenti (suini ed ovicapri) oltre ad un'accurata disinfezione delle carcasse di suini. Inoltre, le autorità sanitarie cinesi hanno elaborato un piano di

vaccinazione dei suini nelle zone interessate; i vaccini attualmente in uso sono preparati col ceppo virulento isolato in allevamento.

Va ricordato che la patogenesi di *Streptococcus suis* è complessa e la preparazione dei vaccini piuttosto empirica. Inoltre, all'interno della stessa popolazione di suini possono essere presenti contemporaneamente numerosi ceppi diversi che derivano da differenti sierotipi. Anche la vaccinazione delle scrofe, eseguita a 6 e 2 settimane prima del parto per indurre immunità materna nelle nidiate di suinetti, presenta ancora delle incertezze.

Non conoscendo la permanenza della immunità colostrale, inoltre, diventa difficile intervenire successivamente sulla prole per indurre immunità duratura. In sostanza l'applicazione di tali sistemi di vaccinazione riesce a ridurre il tasso di mortalità degli animali ma non la circolazione e la diffusione del microrganismo. Secondo il presidente dell'associazione degli allevatori di suini a Hong Kong alcuni allevatori immunizzano i suini sani tramite l'alimentazione con carcasse di animali infetti e sarebbero diffusi l'uso di vaccini non autorizzati e l'abuso di terapie con antibiotici.

Gottschalk critica queste pratiche come estremamente pericolose per il rischio di mutazione e diffusione del sierotipo SS2 oltre a creazione di ceppi antibioticoresistenti.

Diagnosi di Laboratorio

Con lo scopo di confermare il sospetto diagnostico i laboratori d'analisi eseguono la ricerca e l'isolamento di *Streptococcus spp.*: la ricerca prevede un primo isolamento su terreno di coltura non selettivo (Agar Sangue con globuli rossi di montone) e una successiva identificazione biochimica del ceppo isolato. Per l'allestimento delle analisi si parte da campioni prelevati sterilmente dalla carcassa giunta in laboratorio: gli organi maggiormente utilizzati per l'esecuzione delle prove sono il sistema nervoso centrale, la milza, il polmone, le ossa lunghe ed il fegato.

Le piastre seminate vengono quindi incubate ad una temperatura di 37°C per circa 24-48 ore. Le colonie che crescono in primo isolamento vengono trapiantate, se ne-

cessario, per ottenere colture in purezza; le colture pure, infatti, saranno utilizzate per essere sottoposte alle prove di conferma biochimica, eseguite con nell'utilizzo di un sistema miniaturizzato.

Una sospensione standard di coltura pura del sospetto *Streptococcus suis* 2 viene messa ad incubare, per 24 ore a 37°C, in 20 microprovette che contengono substrati disidratati per la rilevazione dell'attività enzimatica e della fermentazione degli zuccheri. Le reazioni prodotte durante il periodo d'incubazione, sono evidenziate dal viraggio dell'indicatore.

Tra le principali caratteristiche sierologiche-biochimiche vengono valutate le capacità di fermentare inulina, lattosio e trealosio (positiva per entrambi i sierotipi SS1 e SS2), di fermentare mannitolo e sorbitolo (negativa per entrambi i sierotipi SS1 e SS2); di idrolizzare esculina (positiva per SS2 e negativa per SS1) e di idrolizzare ippurato (negativa per entrambi i sierotipi SS1 e SS2), oltre ad altre reazioni di acidificazione.

Streptococcosi come problema emergente

La streptococcosi, segnalata a livello mondiale già a partire dal 1960, può essere considerata una malattia professionale.

Secondo alcuni autori *Streptococcus spp.* viene comunemente isolato da tonsille di suini in vari parti del mondo e la comparsa di una sintomatologia clinica, con manifestazione virulenta, è legata a condizioni di stress e debilitazione.

Gli allevamenti cinesi interessati da questa epidemia sono rurali e presentano notevoli carenze strutturali ed igienico sanitarie (carenza di ventilazione, di illuminazione, eccesso di umidità) con situazioni difficilmente paragonabili a quelle dei moderni allevamenti europei.

Tuttavia anche negli allevamenti intensivi occidentali la presenza di streptococcosi è correlata non solo ad eventi stressanti, ma anche a scarse condizioni igieniche o a pratiche di allevamento, quali il taglio della coda o la castrazione, condotte in modo non corretto o senza le necessarie precauzioni.

Altra "porta d'ingresso" degli streptococchi nell'organismo animale è rappresentata

da soluzioni di continuo e ferite dovute a mutilazioni conseguenti a comportamenti stereotipati (morso della coda, delle orecchie e dei fianchi); anche la presenza di pavimentazioni non idonee può creare lesioni agli unghie e alla parte distale degli arti. L'inoculazione sperimentale dei ceppi isolati in suini ha prodotto una sintomatologia variegata: in alcuni casi è stata imponente, caratterizzata da tremori, sintomi nervosi (SNC) ed insufficienza respiratoria, in altri si è manifestata una sintomatologia blanda; è stato così possibile distinguere i ceppi con diverso grado di virulenza.

Il periodo di latenza nei casi umani più gravi si assesta intorno alle 10 ore; in un caso la morte è avvenuta soltanto 2 ore dopo l'inizio della manifestazione sintomatologica. La mortalità più elevata si è registrata nelle fasi iniziali dell'epidemia confondendo i sanitari con sintomi di tipo similinfluenzale e inducendo un ritardo nella somministrazione della terapia antibiotica.

Le analisi eseguite in corso di epidemie non hanno mai portato all'identificazione dei superantigeni responsabili della STSS, diversamente da quanto avviene nelle patologie provocate da streptococchi del gruppo A (GAS). Per questo motivo ad oggi non è stato identificato il meccanismo col quale *Streptococcus suis* 2 provoca la sindrome da shock tossico.

Un articolo di Kay R. e Cheng A.F. indica *Streptococcus suis* come la seconda causa più frequente di meningite piogena nell'uomo a Hong Kong, con 25 casi verificatisi dal 1983 sino al 1994.

Il dott. Steve Berger del Tel Aviv Medical Center (Israele) riporta una vasta bibliografia mondiale che tratta casi di meningite dovute a *Streptococcus suis*; sono, infatti, descritti episodi in Thailandia, Olanda (30 casi dal 1969 al 1984), Grecia, Taiwan, UK, Austria, Belgio, Nuova Zelanda ed Italia (1 caso). Sono inoltre segnalati casi d'infezione acquisita per contatto con cinghiali in Germania, Francia e Olanda; sieropositività occupazionale è stata inoltre documentata in Nuova Zelanda ed Olanda (allevatori e veterinari nel sud dell'Olanda).

Secondo Berger l'eccezionalità delle segnalazioni a livello mondiale di questa patologia nell'uomo suggerisce che l'epidemia in Cina sia causata da un nuovo ceppo.

Il Dott. Marcello Gottschalk esperto mondiale nelle ricerche su *Streptococcus suis* (Università di Montreal, Canada) sospetta che il sierotipo SS2 cinese abbia ottenuto materiale genetico da altri sierotipi ricombinandosi con batteri come *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pyogenes*.

Inoltre, il dott. Gottschalk sottolinea che la sintomatologia più frequente in Cina è la sindrome da shock tossico, con emorragie sottocutanee, breve tempo d'incubazione e tasso di mortalità del 20%; episodi riportati nel passato in aree differenti, invece, riportavano un quadro sintomatologico tipico di meningite e tassi di mortalità del 5%.

Conclusioni

Il D.Lvo 626/1994 considera espressamente il rischio di esposizione ad agenti biolo-

gici ed impone di fatto la valutazione del rischio biologico in tutte le attività per le quali vi è contatto con animali e prodotti di origine animale.

L'obbligo di effettuare una valutazione di rischio specifica per la patologia da *Streptococcus suis* si scontra con la difficoltà di reperire dati sulla reale incidenza del fenomeno negli allevamenti suini.

Dato il crescente interesse a livello internazionale che questo patogeno sta riportando, è indispensabile che i Servizi Veterinari Nazionali Italiani siano adeguatamente informati circa la possibilità che questo patogeno si presenti in allevamento; spesso, infatti, tale agente eziologico rischia di essere sottovalutato e sottostimato in corso di diagnosi differenziale.

A fronte poi, della potenzialità del carattere zoonosico della patologia, è auspicabile che sia gli operatori del settore suinicolo che i colleghi veterinari liberi professionisti e dipendenti del SSN approfondiscano le conoscenze di questo agente.

Punto cardine per la prevenzione dell'infezione risulta essere il controllo della sanità animale con la consapevolezza che gli animali possono essere fonte di contaminazione; per tale motivo il rispetto delle norme di biosicurezza negli allevamenti diventa un fattore di controllo non solo delle patologie animali ma anche di quelle degli operatori del settore suinicolo.

La bibliografia è disponibile sul sito
www.ilprogressoveterinario.it