

ENTEROPATIA AD EZIOLOGIA MULTIFATTORIALE NELLO SVEZZAMENTO IN UN ALLEVAMENTO A CICLO CHIUSO

DI BLASIO A.¹, MARCHIS D.¹, DESIATO R.¹, MILLONE A.², CEPPA L.¹,
BARBERO R.¹, RU G.¹, MASOERO L.¹, CARUSO C.², MESSINA M.¹,
DONDO A.¹, ZOPPI S.¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Via Bologna
148, Torino, Italia, ²Azienda Sanitaria Locale CNI, Cuneo, Italia

INTRODUZIONE

Nelle prime fasi di vita dei suinetti la diarrea è un sintomo molto comune, e spesso è causa di un innalzamento dei tassi di mortalità e conseguenti gravi perdite economiche nell'immediato (perdita di animali, uso di presidi farmacologici aggiuntivi) e a lungo termine (calo ponderale, allungamento dei tempi di accrescimento). Una diagnosi precoce e tempestiva è molto importante per prevenire e controllare le malattie suine, e si fonda sulla valutazione di età dei soggetti, sede e natura delle lesioni e dovrebbe prevedere sempre una conferma microbiologica, virologica o parassitaria di laboratorio. Tra le cause infettive, nel protocollo di diagnosi differenziale devono essere considerati i principali agenti coinvolti nelle patologie enteriche che si manifestano nelle prime settimane di vita del suinetto: *Escherichia coli* enterotossigeni (ETEC), *Clostridium perfringens*, *Salmonella* sp., Coccidi (*Isospora suis*), Rotavirus e Coronavirus. Nell'ambito delle diarree da Coronavirus, si conoscono due virus differenti, il virus della Gastroenterite Trasmissibile (TGE) e della Diarrea Epidemica Suina (PED). In Italia, la PED è presente dagli anni '90 ed ha avuto un aumento con il contemporaneo declino della TGE, con un andamento ciclico. L'ultima grave epidemia risale al periodo compreso tra il 2014 e il 2017, coinvolgendo 438 aziende del Nord Italia [1]. I suinetti spesso manifestano anche forme subcliniche causate dalla colonizzazione di *Clostridium difficile* probabilmente dovuta ad un'apparente predisposizione fisiologica del loro apparato gastro-enterico [4], sebbene vengano segnalati anche casi clinici più gravi in soggetti neonati [2,4]. Lo scopo del presente lavoro è quello di descrivere l'approccio diagnostico applicato per la gestione di un episodio di enteropatia ad eziologia mista nel sottoscrofa e nello svezzamento in un allevamento piemontese.

DESCRIZIONE DEL CASO

Il caso clinico che intendiamo descrivere si è verificato in un'azienda a ciclo chiuso a rimonta esclusivamente interna, che conta circa 2000 capi (230 scrofe, di cui 150 in gestazione; 500 suinetti sottoscrofa). La durata del ciclo di produzione è di 10 mesi, con una media di 10 suinetti per parto/scrofa. Tra i dati sanitari rilevanti, si segnala un tasso di mortalità sottoscrofa e in svezzamento entrambi dell'8%. Il piano vaccinale prevede: SHV1, PRRSV, *Mycoplasma hyopneumoniae*, PCV 2 e *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Nel corso del mese di Aprile 2018, si riferivano in azienda un aumento di casi di diarrea a partire dal secondo-terzo giorno di vita, registrando tassi elevati di morbilità e bassa mortalità per la natura autolimitante della sintomatologia che portava comunque ad una riduzione del tasso di conversione e un ridotto incremento ponderale negli svezzati. La scelta aziendale per arginare il problema è stata quella di trattare tutte le nidiate colpite con enrofloxacin per il sospetto avanzato di colibacillosi, senza un evidente miglioramento delle condizioni nelle fasi di svezzamento. Nello specifico, ai suinetti è stata somministrata in un'unica dose, 10mg/Kg p.v. di enrofloxacin. Le frequenze di trattamento nel biennio 2017-2018 su scrofaia e svezzamento sono riportate in tabella 1.

A seguito del fallimento terapeutico, è stato richiesto presso il nostro istituto l'applicazione di un protocollo di diagnostica differenziale per la definizione della causa della sindrome gastroenterica. Si campionavano pool di feci provenienti da 6 gruppi di suinetti sottoscrofa (15-21 gg di età) con sintomatologia clinica di vario grado. I metodi utilizzati per identificare gli agenti patogeni e i risultati di tali analisi sono riportati rispettivamente nelle tabelle 2 e 3.

MOLECOLA	SCROFE	SUINETTI	SVEZZATI	MAGRONI
Amminosidina	12			
Amoxicillina	17	1		
Enrofloxacina			9	
Florfenicolo				30
Apramicina		3		
Tetraciclina				3
Tiamfenicolo				12
Doxiciclina		13		

Tabella 1: numero di trattamenti eseguiti nel biennio 2017-2018 suddivisi per categoria produttiva e principio attivo.

Agente	Tecnica analitica
<i>E. coli</i> enterotossigeni (ETEC)	Esame colturale e PCR per la conferma della presenza di tossine/fimbrie (sta, stb e k88)
<i>Clostridium difficile</i>	Shock alcoolico in rapporto 1:1 delle feci. Esame colturale su Schaedler e <i>Clostridium difficile</i> agar (Becton Dickinson); conferma con triplex PCR end-point (geni gluD e tcdA e tcdB)
Coronavirus	RT-PCR Pan-coronavirus reverse transcription PCR (RT-PCR) [3] e sequenziamento.
<i>Isospora suis</i>	Esame microscopico (arricchimento)
<i>Salmonella</i> sp.	Esame colturale (ISO 6579)
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Immunoenzimatico
Rotavirus	Immunoenzimatico

Tabella 2: protocollo diagnostico differenziale contemplato e indicazione delle metodiche diagnostiche applicate

BOX	ETEC	<i>Clostridium difficile</i>	Coronavirus	Rotavirus
1	N	P (gluD e tcdA e tcdB)	P	P
2	N	N	P	N
3	N	N	N	N
4	P (sta, stb)	N	N	N
5	N	N	P	N
6	N	N	P	N

Tabella 3: esiti degli esami di laboratorio eseguiti con positività e relativa distribuzione su gruppi di animali sintomatici

Si formulava quindi diagnosi di enteropatia ad eziologia multifattoriale. Dal protocollo diagnostico utilizzato è emersa la circolazione del virus della PED nella maggior parte dei box campionati, virus per il quale, gli autori, ipotizzano un ruolo predisponente l'infezione e la replicazione di *Clostridium difficile*. Nella pratica, infatti, spesso la patologia enterica infettiva è conseguente ad infezioni polimicrobiche e virali simultanee o più di frequente sequenziali. Essendo le gastroenteriti virali causate da virus che distruggono le cellule di assorbimento dei villi intestinali le uniche terapie consigliate risiedono in somministrazione orale o intraperitoneale di elettroliti, associando una terapia antibiotica solo in caso di conferma di infezioni batteriche secondarie. Il riscontro di *E. coli* enterotossigeni (ETEC) in un unico box, fa supporre la risoluzione della diarrea da *E. coli* primariamente sospettata e che il trattamento antibiotico precedentemente applicato sia risultato poco o per nulla efficace a causa della persistente circolazione nel gruppo del virus della PED.

Per tali motivi non si suggeriva nessuna terapia specifica, ma si consigliava un miglioramento della biosicurezza e in particolare il mantenimento di una buona igiene e una gestione, per quanto possibile, di *all-in/all-out*. Si consigliava l'aumento dello standard igienico utilizzando sistemi di pulizia, detersione e disinfezione con prodotti alcalini per la rimozione di biofilm, il mantenimento dei suinetti in un luogo caldo, asciutto e privo di correnti d'aria, i cambi di abbigliamento e calzature degli operatori e il controllo di accesso a personale esterno e automezzi. Infine, si rendeva necessario rivedere i protocolli terapeutici in modo tale da evitare usi prolungati o insufficienti o posologie non corrette degli antibiotici e, soprattutto, si richiamava l'importanza del rispetto delle indicazioni riportate nel foglietto illustrativo. Relativamente alla PED, essendo l'immunità dei suinetti dipendente da quella delle scrofe, laddove l'immunità di quest'ultime sia bassa e i livelli sanitari inferiori al normale è possibile l'instaurarsi di forme croniche che possono coinvolgere i suini di tutte le età; per tali considerazioni si informava l'azienda riguardo la possibilità di eseguire approfondimenti sierologici con lo scopo di descrivere lo *shedding pattern* del virus della PED in allevamento e lo stato immunitario delle scrofe.

DISCUSSIONE

L'applicazione di un protocollo diagnostico completo resta la base per una corretta diagnosi. In casi come quello descritto, vengono identificati differenti agenti eziologici e diventa cruciale un'attenta analisi delle informazioni diagnostiche e clinico-anamnestiche per la definizione dei ruoli dei diversi patogeni. Si ricorda che il ricorso a terapie antibiotiche in seguito al solo sospetto di malattia, senza una conferma diagnostica, rischia di essere non solo inutile ma anche antieconomico e controproducente. Nell'ambito delle attività di un progetto corrente sono stati raccolti dati riguardo l'uso del farmaco che hanno reso possibile ulteriori considerazioni. In particolare, la disamina dei registri di trattamento in azienda riferiti agli anni 2017 e 2018 ha rilevato un uso di specialità medicinali e di mangimi medicati nelle due categorie considerate (scrofe e suinetti) orientato soprattutto alla terapia di patologie enteriche e respiratorie e il trattamento citato con enrofloxacin non corrispondeva a quanto previsto dai protocolli terapeutici, che prevedono una somministrazione di 2,5mg/Kg p.v./die per 3-5 giorni consecutivi. È stato quindi rilevato un uso non corretto dell'antibiotico in presenza di una patologia virale e in assenza di una precisa diagnosi eziologica con una posologia empirica e non aderente alle indicazioni riportate sul foglietto illustrativo. Inoltre, le analisi eseguite in cromatografia liquida (HPLC) nelle feci dei suinetti trattati hanno evidenziato la presenza di valori compresi tra 0,5 e 5,2 mg/kg di enrofloxacin, la cui persistenza (e dei suoi metaboliti) a livello ambientale può essere causa, oltre che della dimostrata pressione selettiva sui microrganismi ambientali, anche di altri effetti negativi ancora poco noti sull'ecosistema [5]. A supporto di tali considerazioni, vi sono le indagini condotte su una selezione di allevamenti suini piemontesi nell'ambito del

progetto sopracitato, in cui è compresa anche l'azienda oggetto del caso clinico descritto, che indicano una discreta presenza di fenomeni di resistenza indotta dagli antimicrobici. In particolare, le resistenze fenotipiche identificate in specie batteriche commensali quali *E. coli* riguardano molte delle molecole utilizzate in suinicoltura per il trattamento delle patologie del sottoscrofa e dello svezzamento: tiamfenicolo, tetraciclina, sulfametossazolo-trimethoprim, tiamulina, gentamicina, ceftiofur ed enrofloxacin con frequenze spesso anche del 100%. Inoltre, si riferisce una frequenza di ceppi di *E. coli* ESBL isolati da feci di circa 12% nelle scrofe, 18% nei suinetti sottoscrofa, 11% svezzati, mentre per i ceppi AmpC positivi, le frequenze sono rispettivamente del 12%, 15% e 17%, a cui si aggiunge anche il settore ingrasso (10%). Si rende indispensabile, così come indicato nelle Linee guida sull'uso prudente degli antibiotici in medicina veterinaria, pubblicate dalla Commissione Europea, un utilizzo mirato degli antimicrobici nei soli casi di reale necessità e in presenza di animali clinicamente malati. La scelta della molecola deve essere indicata dai risultati di un antibiogramma e ristretta alle molecole non utilizzate in medicina umana.

[Studio finanziato nell'ambito del progetto di Ricerca Corrente del Ministero della Salute Anno 2015 – IZSPLV 13/15 RC]

BIBLIOGRAFIA

1. Boniotti M.B., Papetti A., Bertasio C., Giacomini E., Lazzaro M., Cerioli M., Faccini S., Bonilauri P., Vezzoli F., Lavazza A., Alborali G.L., (2018) "Porcine Epidemic Diarrhoea Virus in Italy: Disease spread and the role of transportation". *Transbound Emerg Dis*, 65(6):1935-1942.
2. De Lorenzi G., Pellacini M., Gherpelli Y., Gibelli L., Pangallo G., Bonilauri P., Dottori M., Luppi A., (2018) "Caso clinico: focolaio di clostridiosi da *Clostridium difficile* in suinetti neonati". *Atti XLIV Meeting Annuale SIPAS*, 15-16 Marzo 2018: 229-33.
3. Lelli D., Papetti A., Sabelli C., Rosti E., Moreno A., Boniotti M.B., (2013) "Detection of coronaviruses in bats of various species in Italy". *Viruses*. 5(11):2679-89.
4. Songer J., Uzal F., (2005) "Clostridial enteric infections in pigs". *J. Vet. Diagn. Invest.*, 17, 528-536.
5. Troughon T., Lefebvre S., (2016) "A Review of Enrofloxacin for Veterinary Use". *Open Journal of Veterinary Medicine*, 6, 40-58.