

# VALUTAZIONE PRELIMINARE DI UN PROTOCOLLO DI VACCINAZIONE PRECOCE CON VACCINO STABULOGENO CONTRO STREPTOCOCCUS SUIS

## PRELIMINARY DATA ON PRECOCIUOS VACCINATION PROTOCOL AGAINST STREPTOCOCCUS SUIS WITH AUTOLOGOUS VACCINE

USTULIN M.<sup>1</sup>, GIORGIUTTI M.<sup>2</sup>, GAGLIAZZO L.<sup>1</sup>, PANICCIA' M.<sup>3</sup>, CUCCO L.<sup>3</sup>, SEVERI G.<sup>3</sup>, TAGLIENTE D.<sup>1</sup>, GHIRITI A.<sup>1</sup>, VIO D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie*

<sup>2</sup> *Libero professionista*

<sup>3</sup> *Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche*

**Parole chiave:** *Streptococcus suis*, vaccino stabulogeno

**Keywords:** *Streptococcus suis*, autologous vaccines

### RIASSUNTO

*Streptococcus suis* (*S. suis*) è uno dei più importanti patogeni del suino, in grado di causare setticemia, meningite, artrite in suinetti svezzati, è inoltre agente di zoonosi occupazionale. *S. suis* è una specie batterica che presenta un'elevata variabilità fenotipica e genotipica; più capsulotipi, indistinguibili fenotipicamente, possono circolare nello stesso allevamento. L'utilizzo, nelle scrofe e nei suinetti in svezzamento, di vaccini stabulogeni ha mostrato efficacia variabile nel contenimento delle forme cliniche. Il presente lavoro descrive l'applicazione di un protocollo di vaccinazione precoce per il controllo della mortalità e della sintomatologia da *S. suis*.

### ABSTRACT

*Streptococcus suis* (*S. suis*) is one of the most important swine pathogens and can be agent of septicemia, meningitis and arthritis in weaned piglets. Moreover, it is agent of zoonosis in professions connected to swine industry.

*S. suis* is a bacterial species with a high genetic and phenotypic variability, various capsulotypes can circulate in a single farm. Autologous vaccines, used on sows and weaned piglets, have not shown constant efficacy.

In the present work a precocious vaccination have shown to be able to prevent nervous signs and death in piglets.

### INTRODUZIONE

*Streptococcus suis* (*S. suis*) è uno dei più importanti patogeni del suino, in grado di causare setticemia, meningite, artrite in suinetti svezzati. *S. suis* è inoltre agente di zoonosi occupazionale per operatori di allevamenti, macelli e laboratori di sezionamento nei quali può determinare meningite, setticemia ed endocardite (Mancini *et al.*, 2016).

*S. suis* è una specie batterica che presenta un'elevata variabilità fenotipica e genotipica; sono infatti noti 33 sierotipi e circa 150 fattori di virulenza (Segura *et al.*, 2017; Haas *et al.*, 2018), sono descritti casi in cui capsulotipi diversi, patogeni ed apatogeni, non distinguibili fenotipicamente, possono circolare contemporaneamente nello stesso allevamento. Il controllo delle patologie da *S. suis* avviene prevalentemente tramite terapia antibiotica ed in

caso di incidenza elevata, sono necessarie terapie di gruppo *per os*. È inoltre disponibile un vaccino commerciale rivolto contro il capsulotipo 2.

Una delle opzioni disponibili per il controllo delle patologie causate da *S suis* prevede il ricorso all'utilizzo di vaccini stabulogeni, che però presenta efficacia variabile, presumibilmente correlata alla elevata variabilità fenotipica del patogeno e ai criteri di scelta dei ceppi da destinare alla produzione del vaccino (Rieckmann *et al.*, 2020; Segura *et al.*, 2015).

Il protocollo usualmente previsto per gli interventi con un vaccino stabulogeno prevede la vaccinazione delle scrofe alla quinta e alla seconda settimana prima del parto ed è inoltre possibile effettuare interventi vaccinali anche su animali in svezzamento in base alla situazione epidemiologica.

Nel presente caso, in un allevamento con insorgenza precoce di sintomatologia clinica da *S. suis* si è valutato un protocollo di vaccinazione precoce nei suinetti sull'incidenza di mortalità e sintomatologia clinica.

## **MATERIALI E METODI**

Il presente studio ha coinvolto un allevamento da riproduzione a ciclo aperto, con circa 1200 scrofe in produzione, con una storia clinica riferibile a casi di streptococcosi precoce, verificata con indagini di laboratorio

L'azienda ha iniziato a vaccinare le scrofe nel 2017 con un vaccino stabulogeno prodotto con ceppi aziendali appartenenti al sierotipo capsulare 2.

Nel corso del 2021, un aumento della casistica di mortalità improvvisa e di soggetti con sintomatologia nervosa in svezzamento ha spinto l'azienda a procedere con approfondimenti diagnostici.

A seguito di indagini anatomopatologiche e batteriologiche, il sospetto di streptococcosi è stato confermato tramite l'isolamento del ceppo batterico dal cervello di 5 soggetti svezzati di circa 30-35 giorni di età, pervenuti presso la Sezione di Pordenone dell'IZSVe in tre diversi conferimenti nel mese di agosto. I ceppi isolati dal recente focolaio, unitamente ad altri tre ceppi isolati precedentemente da soggetti con forma clinica nel 2020 e nel 2021 sono stati sottoposti a caratterizzazione molecolare presso la sezione di Fermo dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche (IZSUM). I ceppi sono stati sottoposti alla determinazione tramite PCR sierotipo capsulare (Okura *et al.*, 2014) di appartenenza e alla ricerca dei principali geni di virulenza, ovvero *mrp*, *sly*, *ef* (Silva L. *et al.*, 2006, King *et al.*, 2001 e Wisselink *et al.*, 1999). Tali ceppi si sono confermati tutti appartenere al capsulotipo 9 e positivi per i fattori di virulenza *sly* e *mrp*.

È stato quindi allestito dall'Officina Farmaceutica dell'IZSUM un vaccino stabulogeno bivalente che includesse, oltre al ceppo di capsulotipo 2 già utilizzato per i precedenti allestimenti, anche un ceppo isolato e caratterizzato nel recente periodo appartenente al capsulotipo 9. Come adiuvante è stato utilizzato un adiuvante a nanoparticelle, il Montanide IMS 1313 nel rapporto 20% v/v.

Tenuto conto della precocità delle manifestazioni cliniche, il veterinario aziendale, di concerto con la proprietà, hanno deciso di non somministrare il vaccino alle scrofe durante la gravidanza e procedere alla somministrazione del vaccino stabulogeno in età precoce con una prima vaccinazione a tre giorni di vita con richiamo a 24 giorni.

Tale protocollo di vaccinazione sperimentale è stato eseguito in due repliche, su una banda di svezzamento a dicembre 2021 e una a gennaio 2022; per ogni banda metà dei soggetti sono stati vaccinati e tenuti separati dalla restante parte di suinetti non vaccinati (studio caso controllo), in questo modo è stato possibile verificare la presenza di differenze significative nei due gruppi in termini di mortalità, soggetti con sintomatologia nervosa e trattamenti antibiotici di gruppo. Ogni gruppo ha incluso 240 soggetti vaccinati e 240 soggetti non vaccinati.

La significatività dei dati è stata valutata tramite il test esatto di Fisher (IC 95%). Sono stati inoltre raccolti dati anamnestici riguardanti concomitanti patologie nel periodo interessato.

## RISULTATI

	Prova Nati Dicembre				Prova Nati Gennaio			
	Vaccinati		Non Vaccinati		Vaccinati		Non Vaccinati	
Numero soggetti	240		240		240		240	
Morti	3		10		7		8	
% Mortalità	1.25%		4.17%		2.92%		3.33%	
95% IC per Mortalità	0.26%	3.61%	2.02%	7.53%	1.18%	5.92%	1.45%	6.46%
Sintomatologia	2		13		12		14	
% Sintomatologia	0.83%		5.42%		5.00%		5.83%	
95% IC per Sintomatolog	0.10%	2.98%	2.92%	9.08%	2.61%	8.57%	3.23%	9.59%

Tab 1: Risultati/Results

L'elaborazione statistica tramite il test esatto di Fisher dei risultati delle prove a carico della banda svezzata nel mese di dicembre ha confermato che la differenza sia per quanto riguarda la mortalità (p-value ad una coda = 0,044) che per il riscontro di soggetti con sintomatologia (p-value ad una coda = 0,003) risulta statisticamente significativa.

Non è stata invece riscontrata una differenza significativa nei gruppi di svezziati del mese di gennaio né in termini di mortalità né in termini di sintomatologia nervosa.

I dati anamnestici raccolti relativi alla banda svezzata a gennaio hanno evidenziato una elevata casistica di soggetti affetti da epidermite essudativa; inoltre, la verifica retrospettiva dei risultati di esami anatomopatologici, istologici e virologici eseguiti su alcuni soggetti svezziati conferiti nel periodo considerato, ha permesso di confermare tramite istologia il dato clinico di epidermite essudativa, fattore che può aver influenzato la mortalità e la risposta immunitaria alla vaccinazione.

## DISCUSSIONE

L'esperienza descritta nel presente lavoro, oltre a presentare i dati preliminari sulla possibilità di effettuare una vaccinazione precoce contro *S. suis*, mette in evidenza alcuni dei fattori da considerare nel controllo della streptococcosi.

Si sottolinea innanzitutto l'importanza di continuare a monitorare i soggetti con sintomatologia riferibile a streptococcosi sottoponendoli ad indagini anatomo-patologiche e batteriologiche, inclusa la caratterizzazione dei ceppi circolanti (Hatronjit *et al.*, 2020). Infatti, un aumento della casistica potrebbe non essere conseguenza di un vero e proprio fallimento vaccinale, quanto dell'entrata in azienda o della selezione di capsulotipi non coperti dal vaccino in uso. Un corretto e costante monitoraggio permette di identificare precocemente questi ceppi e aggiornare adeguatamente il vaccino stabulogeno.

Inoltre, i dati ottenuti nel primo gruppo di studio suggeriscono che l'approccio con vaccino stabulogeno, anche precoce, può rivelarsi efficace nel contenimento della sintomatologia e mortalità data da *S. suis*.

Per quanto concerne la seconda banda coinvolta, è possibile presupporre che la concomitante presenza di ulteriori patologie abbia influenzato negativamente l'efficacia della vaccinazione, in particolare che a causa dell'epidermite si sia verificato un aumento di mortalità indipendente da *S. suis*.

Si ritiene però necessario, per una valutazione completa dell'efficacia della vaccinazione,

includere in ulteriori studi analisi sierologiche sia dei soggetti vaccinati che non vaccinati, ai fini della verifica della sieroconversione indotta dal vaccino stesso.

L'importanza di avere a disposizione vaccini stabulogeni efficaci e protocolli adatti alla specifica situazione epidemiologica dell'allevamento è inoltre legato ad una riduzione dell'utilizzo di presidi antimicrobici. In caso di incidenza elevata in un gruppo, le problematiche determinate da *S. suis* vengono tenute sotto controllo tramite terapie antibiotiche di gruppo *per os*, ma la disponibilità di un presidio preventivo efficace permetterebbe di ridurre questi interventi. Inoltre, per quanto sia generalmente riconosciuta in tutto il mondo ed un'elevata suscettibilità nei confronti dei beta-lattamici (Haenni *et al.*, 2016), stanno diventando piuttosto frequenti ceppi resistenti alla penicillina, soprattutto tra quelli appartenenti al capsulotipo 9 (Cucco *et al.*, 2022).

## CONCLUSIONI

I risultati del presente lavoro indicano che l'applicazione di un protocollo vaccinale precoce con vaccino stabulogeno per *S. suis*, può influenzare favorevolmente l'incidenza di casi di mortalità e sintomatologia nervosa riferibili a streptococcosi, pur necessitando di ulteriori indagini da estendere ad altre realtà che presentano la stessa problematica.

Si ravvede inoltre la necessità di approfondire la valutazione dell'efficacia della vaccinazione includendo indagini sierologiche necessarie a valutare la sieroconversione.

Le attività descritte sono state svolte nell'ambito della Ricerca Corrente IZSVE 10/20 "Utilizzo della caratterizzazione genomica di *Streptococcus suis* per ottimizzare l'efficacia dei vaccini stabulogeni negli allevamenti suinicoli intensivi" finanziata dal Ministero della Salute.

## BIBLIOGRAFIA

1. Cucco L., Panicià M., Massacci F. R., Morelli A., Ancora M., Mangone I., Di Pasquale A., Luppi A., Vio D., Cammà C., Magistrali C. F. New Sequence Types and Antimicrobial Drug-Resistant Strains of *Streptococcus suis* in Diseased Pigs, Italy, 2017-2019. *Emerg Infect Dis.* 2022 Jan;28(1):139-147. doi: 10.3201/eid2801.210816.
2. Haas B, Grenier D. Understanding the Virulence of *Streptococcus suis*: A Veterinary, Medical, and Economic Challenge. *Med Mal Infect* 2018 May;48 (3):159-166. doi: 10.1016/j.medmal.2017.10.001.
3. Haenni M., Lupo A., Madec J-Y. (2018) Antimicrobial resistance in *Streptococcus* spp. *Microbiology spectrum* 6 (2). doi:10.1128/microbiolspec.ARBA-0008-2017.
4. Hatrongjit R, Fittipaldi N, Gottschalk M, Kerdsin A. Tools for Molecular Epidemiology of *Streptococcus suis*. *Pathogens.* 2020 Jan 27;9(2). pii: E81. doi: 10.3390/pathogens9020081.
5. King, S. J. Heath, P. J. Luque, I. Tarradas, C. Dowson, C. G. Whatmore, A. M. (2001) Distribution and genetic diversity of suilysin in *Streptococcus suis* isolated from different diseases of pigs and characterization of the genetic basis of suilysin absence. *Infection and Immunity*, 69 (12) 7572-7582 Mancini F., Adamo F., Creti R., Monaco M., Alfarone G., Pantosti A., Ciervo A. A fatal case of streptococcal toxic shock syndrome caused by *Streptococcus suis* carrying tet (40) and tet (O/W/32/O), Italy. *J Infect Chemother* 22 (2016) 774e776 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiac.2016.05.011>
6. Okura, M., Lachance, C., Osaki, M., Sekizaki, T., Maruyama, F., Nozawa, T., Nakagawa, I., Hamada, S., Rossignol, C., Gottschalk, M., & Takamatsu, D. (2014). Development of a two-step multiplex PCR assay for typing of capsular polysaccharide synthesis gene clusters of *Streptococcus suis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(5), 1714–1719. <https://doi.org/10.1128/JCM.03411-13>.

7. Rieckmann K., Pendzialek S. M., Vahlenkamp T., Baums C.G. A critical review speculating on the protective efficacies of autogenous *Streptococcus suis* bacterins as used in Europe. *Porcine Health Manag.* 2020; 6: 12. doi: 10.1186/s40813-020-00150-6
8. Segura M. *Streptococcus suis* vaccines: candidate antigens and progress. *Expert Rev Vaccines.* 2015;14(12):1587-608. doi: 10.1586/14760584.2015.1101349. Epub 2015 Oct 15.
9. Segura M., Fittipaldi N., Calzas C., Gottschalk M. Critical *Streptococcus suis* Virulence Factors: Are They All Really Critical? *Trends in Microbiology*, July 2017, Vol. 25, No. 7 <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2017.02.005>
10. Silva L.M.G., Baums C.G., Rehm T., Wisselink H.J., Goethe R., Valentin-Weigand P. Virulence-associated gene profiling of *Streptococcus suis* isolated by PCR (2006). *Veterinary Microbiology* (115) 117-127.
11. Wisselink H., Smith H.E., Stockhfe-Zurwieden N., Peperkamp K., Vecht U. Distribution of capsular types and production of muramidase-related protein (MRP) and extracellular factor (EF) of *Streptococcus suis* strains isolated from seven European countries (2000). *Veterinary Microbiology* 74, 237-248.