

INDAGINE IN CAMPO SULLA DIFFUSIONE DELLA CISTITE DELLA SCROFA

FIELD SURVEY ON THE DISTRIBUTION OF SOWS CYSTITIS

GRATTAROLA C.¹, BELLINO C.², BOTTA E.³, DONDO A.¹, MAGGI E.², MASSA M.³,
MONDINO S.⁴, TURSI M.², VARNAVA' D.⁵, CAGNASSO A.²

¹ *I.Z.S. Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Sezione di Torino;*

² *Dipartimento di Patologia Animale della Facoltà di Medicina Veterinaria di Torino;*

³ *Medico Veterinario Libero Professionista, Torino, Scuola di Specializzazione in
Patologia Suina di Moretta (CN),*

Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Torino;

⁴ *Medico Veterinario dipendente ASL CNI;*

⁵ *Medico Veterinario Libero Professionista, Torino;*

PAROLE CHIAVE: Cistite, Scrofa, Macello, Esame Istologico

KEYWORDS: Cystitis, Sow, Slaughterhouse, Histological Exam

RIASSUNTO

Il seguente studio si propone di valutare l'incidenza della patologia in scrofe riformate provenienti da diversi allevamenti siti in provincia di Cuneo e di Torino. Le indagini sono state condotte su 72 scrofe a fine carriera regolarmente macellate alle quali in sede di macellazione sono stati prelevati vescica, uretra e reni. L'esame anatomico patologico ha permesso di evidenziare un'incidenza della cistite pari a circa il 46%.

ABSTRACT

The following study aims to assess the incidence of the disease in reformed sows from different farms sites in the province of Cuneo and Turin. The surveys were conducted on 72 sows in late career regular slaughtered and during the slaughter were collected bladder, urethra and kidneys. The anatomopathological examination has brought to light an incidence of cystitis equal to 46%.

INTRODUZIONE

La cistite è un processo infiammatorio della vescica che può originare da molteplici cause. Nell'apparato urinario sono normalmente in atto numerosi meccanismi di difesa che mirano a mantenere l'equilibrio tra l'animale ed i microrganismi che compongono la flora microbica locale come le caratteristiche della mucosa vescicale, l'unidirezionalità del flusso urinario, il pH urinario e la secrezione di anticorpi a livello mucosale (IgA). Nel suino, una causa predisponente allo sviluppo di cistiti può essere considerata la caratteristica basicità del pH urinario, che limita il controllo dello sviluppo microbico, e che comporta, a scopo correttivo, la somministrazione di acidificanti (Xaver T. P. Glock *et al.*, 2005).

Il susseguirsi di situazioni che comportano stress cronico, con conseguente aumento dei tassi di cortisolo e induzione di immunodepressione, o la gravidanza, con particolare riferimento al periodo del parto, in cui si ha una riduzione della risposta cellulomediata, favoriscono la colonizzazione delle vie urinarie da parte dei microrganismi; discontinuità dell'epitelio mucosale dovute, ad esempio, alla presenza di calcoli vescicali limitano ulteriormente la resistenza alla colonizzazione batterica.

Le modalità attraverso cui i suini possono acquisire infezioni all'apparato urinario sono due: ascendente e discendente. Con la prima, la più frequente, i batteri raggiungono la vescica partendo dall'ambiente esterno o dall'apparato riproduttore, la seconda, invece, più rara, si verifica quando l'animale è in stato di batteriemia.

Ogni alterazione dell'equilibrio dell'apparato urinario è dunque un fattore di rischio per la salute del suino e può condurre allo sviluppo di batteri patogeni, ma anche di batteri opportunisti e commensali, i quali, sfruttando il calo delle difese locali, riescono ad invadere i tessuti e a causare flogosi.

Le scrofe dal quarto parto in poi sono quelle in cui più frequentemente si osserva la patologia, spesso a decorso asintomatico, svelata solitamente come reperto occasionale al macello o nel corso di necroscopie.

Le scrofe più vecchie presentano spesso problematiche legate all'apparato locomotore, indotte dalle caratteristiche del pavimento grigliato su cui risiedono, dalla limitazione di movimenti nelle gabbie parto, dall'aumento eccessivo di peso in gravidanza, tutti fattori che nell'insieme comportano un'esposizione costante a microtraumi, fino all'insorgere di zoppie; di conseguenza, gli animali si alzano meno frequentemente per urinare, alterando il regolare meccanismo del flushing, e tendono, in alcuni casi, a urinare in decubito, facilitando il ristagno di urina in vagina, favorendo così ulteriormente le proliferazioni batteriche (Madeleine Chagnon, *et al.*, 1991; Sylvie D'Allaire *et al.*, 1991).

Alcuni autori identificano nel periodo del parto il periodo più critico per questa patologia, perché oltre allo stress dell'evento e all'inizio della lattazione, si aggiunge anche un cambiamento qualitativo della flora microbica vaginale (Y. Sasaki *et al.*, 2008; C. O. Duran, 2001). Altri autori identificano invece come periodo più problematico quello della lattazione perché le fattrici utilizzano la maggior parte dei liquidi introdotti per la produzione latte, pertanto la quantità di urina che questi animali producono è inferiore al normale, urinano con meno frequenza e da qui si innescano nuovamente i meccanismi per l'instaurarsi della patologia (Glen Almond, 2005; G. W. Almond *et al.*, 2006).

Fondamentale, per il controllo delle cistiti, è la gestione dell'allevamento: è essenziale che gli animali abbiano la possibilità di abbeverarsi ogni qualvolta sia necessario, per non concentrare eccessivamente le urine, e l'igiene e la pulizia delle gabbie parto non deve essere carente, perché le feci rappresentano una delle maggiori fonti di contaminazione dell'apparato uro-genitale (N. Abiven *et al.*, 1998; G. W. Almond *et al.*, 2006).

MATERIALI E METODI

Lo studio è stato realizzato con la collaborazione dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta e del Dipartimento di Patologia Animale della Facoltà di Medicina Veterinaria di Torino, con l'obiettivo di determinare la prevalenza delle affezioni urinarie della scrofa, di studiare la flora batterica responsabile delle infezioni del tratto urinario e di valutare l'efficacia delle indagini collaterali (microbiologiche e biochimiche) per diagnosticare la patologia in vita.

Le indagini sono state condotte su 72 scrofe a fine carriera regolarmente macellate in uno stabilimento piemontese e provenienti da allevamenti della provincia di Cuneo e di Torino.

Da ogni animale macellato sono stati prelevati, al momento dell'eviscerazione, i seguenti organi: vescica, uretra, reni; per evitare contaminazioni esterne dell'urina, le vesciche venivano prontamente chiuse mediante legatura del collo. Gli organi raccolti venivano portati alla Sezione di Anatomia Patologica della Facoltà di Medicina Veterinaria di Torino. Da ogni vescica è stata prelevata asepticamente l'urina mediante cistocentesi, l'urina veniva poi suddivisa in 2 aliquote destinate al laboratorio, una per l'esame batteriologico ed una per l'esame biochimico. In seguito, le vesciche venivano aperte e sottoposte all'esame anatomo-patologico macroscopico. Da ogni vescica è stata prelevata una sezione della parete a pieno spessore che è stata fissata in formalina al 10% per il successivo esame istologico. Analogamente, per ogni animale, sono stati fissati in formalina al 10% sezioni di uretra e di rene.

A causa dell'assenza di urina in alcune vesciche, le indagini fisico-chimiche e batteriologiche sono state eseguite rispettivamente solo su 66 e 67 campioni.

Esame istologico:

i campioni sono stati fissati in formalina al 10% e sottoposti alle procedure standard di inclusione in paraffina. Si è poi proceduto al taglio microtomico con sezioni seriali di 3 μm , sottoposte a colorazione con Ematossilina-Eosina. I preparati istologici sono stati esaminati attentamente nell'intera sezione ad ingrandimento 40X.

Esame fisico-chimico:

l'urina di ogni capo è stata posta in provette con un volume pari a 9ml; sono stati valutati i caratteri macroscopici (colore e aspetto) e successivamente, con l'ausilio di cartine multistix, è stata rilevata la presenza di glucosio, bilirubina, corpi chetonici, sangue, proteine, leucociti, RBCs, WBCs, urobilinogeno, nitriti, e il pH; la densità è stata valutata con un rifrattometro.

In seguito, le provette sono state centrifugate per 5 minuti a 1500 giri per permettere l'analisi microscopica del sedimento; il riscontro di anomalie, in alcuni casi, ha reso opportuna l'esecuzione del citocentrifugato, con apposizione di 100 μl di urina su di un vetrino, centrifugazione per 5 minuti a 1500 giri e osservazione del vetrino al microscopio, previa colorazione.

Esame batteriologico:

l'esame colturale è stato allestito eseguendo contemporaneamente due tipi di indagine, quantitativa (calcolo della carica batterica aerobica totale) e qualitativa.

Per la determinazione della carica batterica aerobica totale per ml (CBT/ml) si è provveduto a diluire ogni campione di urina in proporzione 1:100 (prelevando 0,1 ml di urina, preventivamente vortexata, e trasferendola in 9,9 ml di soluzione fisiologica sterile); 0,1 ml di tale diluizione è stato distribuito uniformemente su una piastra di Columbia Blood agar con l'ausilio di una spatola sterile, e la piastra è stata incubata a 37°C per 24 h. È stato quindi eseguito il conteggio delle colonie sviluppatesi e, tenendo conto del fattore di diluizione 1:100 e della quantità seminata (0,1 ml), moltiplicando il numero di colonie per 1000 è stata calcolata la carica batterica/ml (ufc/ml); la carica batterica è stata considerata significativa in presenza di valori $>10^5$ ufc/ml, di dubbia interpretazione con valori compresi tra 10^5 e 10^4 ufc/ml, mentre valori inferiori a 10^4 ufc/ml non sono stati considerati significativi.

La semina di ogni campione, per l'esame qualitativo, è stata eseguita per dispersione su 3 piastre di Columbia Blood agar e una piastra di Mac Conkey agar, immergendo un tampone sterile nel campione di urina, precedentemente vortexato, e seminando il primo quadrante della piastra, utilizzando un secondo tampone sterile per la semina dei restanti quadranti. Una piastra di Columbia Blood agar e la piastra di Mac Conkey agar sono state incubate aerobicamente a 37°C per 24 h. Le restanti piastre di Columbia Blood

agar sono state incubate, rispettivamente, in atmosfera arricchita (5% CO₂), a 37°C, per 24-48h, e in anaerobiosi, in giara, a 37°C, per 48-120 h.

Si è provveduto all'identificazione delle specie batteriche cresciute in aerobiosi in coltura pura o in numero di colonie >20 per piastra, laddove la CBT/ml risultava >10⁵ ufc/ml o compresa tra 10⁴ e 10⁵ ufc/ml; si è proceduto ad identificazione anche in caso di analoga crescita associata a CBT <10⁴ ufc/ml, trattandosi di esami condotti su urina prelevata in asepsi (cistocentesi); per la crescita in microaerofilia (CO₂ al 5%) e in anaerobiosi si è proceduto all'identificazione delle colonie macroscopicamente non assimilabili a quelle sviluppatasi in condizioni di aerobiosi.

L'identificazione dei ceppi batterici è stata condotta con l'ausilio di gallerie API miniaturizzate o con sequenziamento della sequenza del gene 16SrRNA con Microseq500^â, in casi di difficile interpretazione e in caso di sospetta presenza di *Actinobaculum suis* (riscontro, in anaerobiosi, di colonie di 0,5-3 mm di diametro dopo 48h, circolari, con margini interamente o parzialmente irregolari, granulose, non emolitiche).

Per la valutazione della positività all'esame batteriologico sono stati considerati in parallelo il valore della carica batterica aerobica totale, le tipologie di microrganismi isolati e le relative condizioni di crescita (es. isolamento esclusivo in microaerofilia o anaerobiosi). I campioni che presentavano crescita batterica non significativa (CBT < 10⁴, con crescita di flora mista o in numero di colonie < 20 per piastra) o sterili sono stati considerati negativi.

RISULTATI

Qui di seguito sono riportati gli esiti degli esami eseguiti sull'urina delle scrofe a fine carriera e sui preparati istologici di origine vescicale ed uretrale provenienti dai medesimi animali.

I campioni istologici relativi a vescica e ad uretra sono stati suddivisi in 6 gruppi a seconda della gravità e della diffusione del processo flogistico rilevato, ovvero diffusa-grave cistite linfo-plasma cellulare, diffusa-moderata cistite linfo-plasma cellulare, diffusa-minima cistite linfo-plasma cellulare, multifocale-moderata cistite linfo-plasma cellulare, multifocale-minima cistite linfo-plasma cellulare e assenza di lesioni.

Dei parametri ottenuti a seguito dell'analisi fisico-chimica e del sedimento sono stati presi in considerazione la proteinuria, il pH (media ± dev.stand), la presenza di leucociti, di cellule epiteliali e di eritrociti.

Per quanto concerne l'esame batteriologico, oltre all'indicazione relativa alla positività o meno del campione, è riportata la specie batterica rilevata.

VESCICA	N° campioni	BATT. POSITIVO	MICROGAMMOCOCCHI ISOLATO	BATT. NEGATIVO	PROTEINURIA batt +	PROTEINURIA batt -	pH (media) batt +	pH (media) batt -	LEUCOCITI presenti al batt. +	LEUCOCITI presenti al batt. -	cellule epiteliali presenti al batt. +	cellule epiteliali presenti al batt. -	RBC presenti al batt. +	RBC presenti al batt. -
Diffusa, grave cistite linfo-plasma cellulare	8 (2)	3	E. coli 2; Helococcus Kunzii 1	5	3		8± 1,3	6,7±0,8	3	1	3	3	3	2
Diffusa, moderata cistite linfo-plasma cellulare	10	5	E. coli 2; Staphylococcus hyicus 1; Staphylococcus saprophyticus 1; Staphylococcus aureus 1	5	1		6,8± 0,3	6,6±0,4	4	3	5	5	1	3
Diffusa, minima cistite linfo-plasma cellulare	11 (2)	3	E. coli 1; Enterococcus faecalis, Proteus, E. coli 1; Streptococcus alactoliticus, Campylobacter coli 1	6	1		6,5± 0,0	6,8±0,7	3	3	2	6	2	4
Multifocale, moderata cistite linfo-plasma cellulare	4	2	E. coli 2	2	1		6,5± 0,7	7±0,6	2	2	2	2	1	2
Multifocale, minima cistite linfo-plasma cellulare	6	2	E. coli 1; Streptococcus spp. 1	4	1		7±0,7	6,5± 0,07	2	2	2	2	1	1
Assenza di lesioni	33 (1)	7	E. coli 2; Staphylococcus aureus 1; Enterococcus Faecalis 3; Aeromonas Hydrophyla 1	25	4	2	6,6± 0,5	6,8±0,5	6	8	5	21	6	8

() = n° di campioni con esami incompleti.

() = No. of samples with incomplete examinations.

Tab. 1: Tabella riepilogativa degli esami eseguiti.

Tab. 1: Summary table of the tests.

La percentuale di vesciche risultate affette da cistite in base all'esame istologico è risultata pari al 45,8% contro il 54,2% di vesciche risultate sane.

Tab. 2: Uretra: esame istologico.

Tab.2: Urethra: histological examination.

URETRA	N° campioni	
Diffusa, moderata uretrite linfo-plasma cellulare	17	
Diffusa, minima uretrite linfo-plasma cellulare	10	
Multifocale, moderata uretrite linfo.plasma cellulare	1	
Multifocale, minima uretrite linfo-plasma cellulare	7	
Focale, grave uretrite linfo.plasma cellulare	1	
Assenza di lesioni	23	
	59	Di 13 campioni manca il referto istologico relativo all'uretra.

La percentuale di uretre risultate affette da uretrite in base all'esame istologico è risultata pari al 61% contro il 39% di uretre risultate sane.

Campioni positivi	N° (%)	microrganismo	N° isolati per genere		
Per 1 specie batterica	20 (90%)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia</i> spp: 10		
		<i>Escherichia coli</i>			
		<i>Escherichia coli</i>			
		<i>Escherichia coli</i>			
		<i>Escherichia coli</i>			
		<i>Escherichia coli</i>			
		<i>Escherichia coli</i>			
		<i>Escherichia coli</i>			
		<i>Escherichia coli</i>			
		<i>Escherichia coli</i>			
		<i>Staphylococcus hycus</i>	<i>Staphylococcus</i> spp: 4		
		<i>Staphylococcus saprophyticus</i>			
		<i>Staphylococcus aureus</i>			
		<i>Staphylococcus aureus</i>			
		Per 2 specie batteriche	1(5%)	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus</i> spp: 3
				<i>Enterococcus faecalis</i>	
<i>Enterococcus faecalis</i>					
Per più di due specie batteriche	1(5%)	<i>Streptococcus bovis II</i>	<i>Streptococcus</i> spp: 1		
		<i>Helcococcus kunzii</i>	<i>Helcococcus</i> spp: 1		
Totale	22	<i>Aeromonas hidrophyla</i>	<i>Aerococcus</i> spp:1		
		<i>Streptococcus spp,</i> <i>Campylobacter coli</i>			
		<i>Escherichia coli, Enterococcus faecalis, Proteus spp</i>			

Tab.3: Esami batteriologici positivi.

Tab.3: Bacteriological tests positive.

Per quanto concerne la localizzazione delle lesioni osservate mediante l'esame istologico, si sono prese in considerazione le alterazioni che hanno coinvolto il tratto inferiore dell'apparato urinario e quindi la vescica e l'uretra; si è così osservata una maggiore prevalenza di processi infiammatori che coinvolgono contemporaneamente i due organi rispetto a quelli che coinvolgono i due organi singolarmente e precisamente nel 5% dei casi si sono riscontrate lesioni alla vescica, nel 33% all'uretra e nel 62% le lesioni sono localizzate in entrambe.



Graf.1: Localizzazione delle lesioni istologiche osservate.

Graph. 1: Localization of histological lesions observed.

A titolo esemplificativo vengono di seguito riportate due fotografie relative rispettivamente ad una vescica con mucosa normale e ad una vescica con un grave processo flogistico in atto; la vescica della seconda fotografia presenta una grave cistite emorragica, l'esame del sedimento ha rivelato batteri, leucociti ed ematuria, proteine all'esame fisico-chimico ed E. coli all'esame batteriologico.

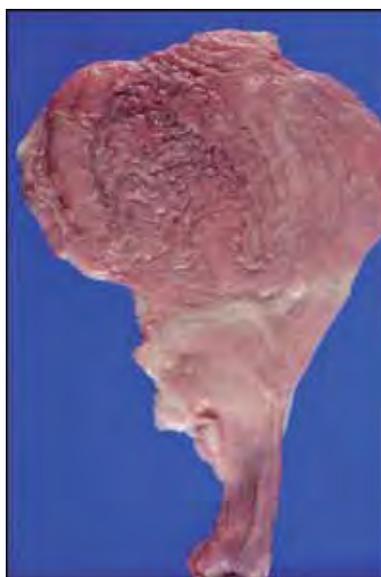


Foto 1: vescica normale
Pict 1: Normal bladder

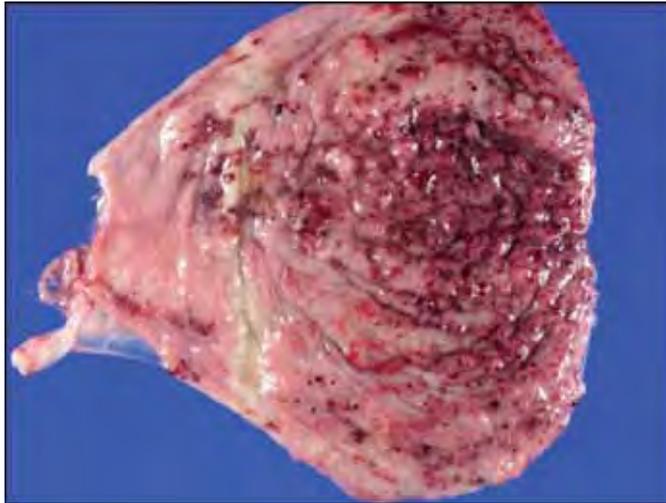


Foto 2: grave cistite emorragica: esame batteriologico delle urine positivo per E.Coli . L'esame del sedimento ha rivelato batteri, leucociti ed ematuria. Proteine all'esame fisico-chimico.

Pict 2: Severe hemorrhagic cystitis: presence of E.coli in bacteriology. Examination of the sediment revealed bacteria, leukocytes, and haematuria. Protein at the chemical physical examination.

DISCUSSIONE - CONCLUSIONI

Dallo studio si evince che sono molte le scrofe a fine carriera con cistite: all'istologico, la percentuale di vesciche affette dalla patologia è risultata del 45,8%. Questi sono animali sottoposti a stress cronico, tra cui la gravidanza, evento che favorisce, insieme ad altri, la colonizzazione delle vie urinarie da parte dei batteri. In particolare, i 22 casi risultati positivi al batteriologico hanno visto come protagonisti della colonizzazione E.coli, Staphylococcus hyicus, Staphylococcus saprophyticus, Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis, Streptococcus bovis II, Helcococcus kunzii, Aeromonas hydrophyla, Streptococcus spp., Campylobacter coli, Proteus spp., che hanno portato o singolarmente, o in associazione, l'infezione. E' frequente il riscontro di uretrite all'esame istologico (61% dei casi): questo conferma il fatto che è molto più probabile un'infezione ascendente rispetto alla discendente causata da batteriemia. Una non corretta gestione e pulizia delle strutture, con conseguente accumulo di feci, può predisporre alla colonizzazione delle vie urinarie per via ascendente da parte di E.coli: in 10 casi risultati positivi su 22, gli esami hanno rilevato la presenza del batterio come unica specie causa di cistite. In vita non esiste un test diagnostico sicuro per rilevare la cistite, ed è per questo che è molto importante valutare più parametri, tra cui la proteinuria, le cellule epiteliali, i leucociti e i globuli rossi. Per quanto riguarda il pH, sebbene in letteratura si possa leggere che la basicità di questo può essere una causa predisponente della patologia, non sembra un parametro significativo per la diagnosi. Diventa importante correlare molti parametri tra loro, facendo riferimento soprattutto all'esame del sedimento per valutare wbc, rbc, cellule epiteliali, batteri intracellulari: in diversi casi ha svelato la presenza di questi parametri che non erano stati rilevati dal semplice esame delle urine con le cartine multistix.

BIBLIOGRAFIA

Madeleine Chagnon, Sylvie D'Allaire and Richard Drolet (1991) "A prospective study of sow mortality in breeding herds." *Can J Vet Res* 1991; 55, 180-184

Y. Sasaki and Y. Koketsu (2008) "Mortality, death interval, survivals and herd factors for death in gilts and sows in commercial breeding herds." *J. Anim. Sci.* 2008. 86, 3159-3165

Glen Almond (2005) "An assesement of urinary tract infection in sows."

N. Abiven, H. Seegers, F. Beaudeau, A. Laval and C. Fourichon (1998) "Risk factors for high sow mortality in French swine herds." *Preventive Veterinary Medicine* 33 (1998) 109-119

Xaver T. P. Glock, Gabor Bilkei (2005) "The effect of postparturient urogenital diseases on the lifetime reproductive performance of sows." *Can Vet J* 46, December 2005

G. W. Almond, L. G. Simpson, M. S. Nemecek, P. A. Routh (2006) "Urine abnormalities in lactating sows." *Proceedings of the 19th IPVS Congress, Copenhagen, Denmark, 2006 Vol. I*

Euzéby, J.P. : Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. *Actinobaculum, Actinobaculum suis*

<http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/aa/actinobaculum.html> Accessed november 26/2008

Porcine Cystitis-pyelonephritis Complex

<http://merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/130303.htm> Accessed november 21/2008

© 2008; Merck & Co., Inc. Whitehouse Station, NJ USA

LAWSON (P.A.), FALSEN (E.), ÅKERVALL (E.), VANDAMME (P.) et COLLINS (M.D.) (1997) Characterization of some *Actinomyces*-like isolates from human clinical specimens: reclassification of *Actinomyces suis* (Soltys and Spratling) as *Actinobaculum suis* comb. nov. and description of *Actinobaculum schaalii* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 47, 899-903.

LIEBHOLD (M.), WENDT (M.), KAUP (F.J.) et DROMMER (W.) (1995) Clinical, and light and electron microscopical findings in sows with cystitis. *Vet. Rec.*, 137, 141-144.

WALKER (R.L.) et MACLACHLAN (N.J.) (1989) Isolation of *Eubacterium suis* from sows with cystitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 195, 1104-1107.

Groehs Goldberg A.M.(2007) Manual de urinalise suina!da coleta a analise dos resultados- Universidade federal do rio grande do sul , Porto Alegre