

Enterotossine stafilococciche in ceppi di *Staphylococcus aureus* isolati in corso di mastite nella coniglia

Cocchi M., Passera A., Deotto S., Clapiz L., Genero N., Bregoli M., Di Giusto T.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Sezione territoriale di Udine, Italy

Corresponding Author: Monia Cocchi, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Via della Roggia, 100, 33030 Basaldella di Campoformido (UD), Italy - Tel. +39 0432 561529 - Fax: +39 0432 562676 - Email: mcocchi@izsvenezie.it

ABSTRACT: Detection of staphylococcal enterotoxins in *Staphylococcus aureus* strains isolated from rabbits mastitis. *Staphylococcus aureus* is a common cause of infections both in humans and in animals. It can cause various diseases, producing toxins and other extracellular factors. Staphylococcal enterotoxins are the leading cause of gastroenteritis in humans and moreover they are powerful superantigens able to stimulate non-specific T-cell proliferation. This can give several allergic and autoimmune diseases. The aim of this study was to evaluate the presence of Staphylococcal enterotoxins in 98 rabbit mastitis samples. *Staphylococcus aureus* tested strains did not harbour enterotoxins.

Key words: *Staphylococcus aureus*, Enterotoxins, Rabbit.

INTRODUZIONE – *Staphylococcus aureus* è un batterio Gram positivo, normalmente presente sulla cute e sulle mucose dell'uomo e degli animali. In presenza di fattori predisponenti può causare infezioni di diversa gravità a carico di vari organi. La patogenicità di *Staphylococcus aureus* è dovuta alla capacità di produrre una vasta gamma di fattori extracellulari e di tossine. Tra di esse si annoverano le enterotossine stafilococciche (SE), nove proteine basiche (da SEA a SEE e da SEG a SEJ), stabili al calore, resistenti alle proteasi come la pepsina e la tripsina. Negli episodi tossinfettivi esse sono responsabili delle manifestazioni cliniche caratterizzate da nausea, vomito, e grave risentimento organico generale. Diversi studi hanno evidenziato come esse abbiano nell'organismo un differente comportamento; la SEB ad esempio passa più rapidamente della SEA nel circolo ematico, mentre la SEC è la più ospite-specifica e dotata di maggiore cross-reattività (Bergdoll *et al.*, 1967; Casman *et al.*, 1967). Le tossine SEA e SED sono quelle maggiormente coinvolte e danno sintomatologia a dosaggi estremamente bassi (per la tossina SEA, ad esempio, detto valore è pari a 100 nanogrammi) (Balaban *et al.*, 2000). Le enterotossine stafilococciche possono inoltre fungere da super-antigeni, grazie alla loro capacità di legare direttamente il complesso maggiore d'istocompatibilità di classe II (MHC II) delle cellule presentanti l'antigene alla porzione variabile del recettore dei linfociti T. Questo processo causa una proliferazione policlonale ed aspecifica delle cellule T, con conseguente rilascio di interleuchine e l'instaurarsi di un processo infiammatorio a carico del tratto gastrointestinale, reso evidente dalle estese e gravi lesioni a carico dello stomaco e dell'intestino tenue (Balaban *et al.*, 2000; Wynn *et al.*, 2006). Scopo del presente lavoro è stato ricercare le enterotossine A, B, C, D in ceppi di *Staphylococcus aureus* isolati nel coniglio.

MATERIALI E METODI – Novantotto ceppi di *Staphylococcus aureus* isolati da mastite in conigli provenienti da dieci differenti allevamenti siti in Friuli Venezia Giulia sono stati sottoposti al protocollo di seguito descritto per la ricerca delle enterotossine stafilococciche A, B, C, D. I ceppi di *Staphylococcus aureus* sono stati isolati a partire da agar sangue (AS, fornito dal Centro Servizi alla Produzione, CSP-IZSVe, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie) incubato in aerobiosi per 24-48 ore a $37 \pm 2^\circ\text{C}$. I ceppi batterici con una morfologia riconducibile a *Staphylococcus spp.* sono stati testati sul terreno Mannitol Salt Agar (MSA, Lab M Limited) e sottoposti al test della coagulasi, effettuato con plasma di coniglio. La crescita in MSA e la reazione positiva alla coagulasi permetteva di identificare il ceppo come *Staphylococcus aureus*. Successivamente, i ceppi di *Staphylococcus aureus* sono stati seminati in Tryptone Soya Broth (TSB, CSP-IZSVe) ed incubati a $37^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ per 18-24 ore. La brodocoltura è stata centrifugata a 900 g (Sigma 3K10, 3000 rpm, Germany) a 4°C per 20 minuti. Il surnatante ottenuto è stato sottoposto al test di agglutinazione passiva inversa utilizzando il kit Toxin Detection (SET RPLA, OXOID) per la ricerca delle enterotossine stafilococciche A, B, C, D. I ceppi batterici sono stati testati in piastra microtitre utilizzando un test realizzato usando particelle di lattice sensibilizzate con antitossina, che sono in grado di agglutinare in presenza di tossine, fornendo risultati dopo 20-24 ore di incubazione a temperatura ambiente.

RISULTATI E CONCLUSIONI – Tutti i ceppi di *Staphylococcus aureus* sottoposti ad indagine sono risultati non essere produttori di enterotossine di tipo A, B, C e D.

La ricerca di ceppi enterotossigeni di *Staphylococcus aureus* nelle fattrici con mastite costituisce un elemento importante per la possibilità dell'entrata nel ciclo produttivo di tossine potenzialmente agenti di tossinfezione alimentare. La carne di coniglio è infatti considerata fonte proteica di prima scelta in due categorie di età particolarmente a rischio, ossia la prima infanzia e i soggetti anziani.

Monitorare la presenza di ceppi di *Staphylococcus aureus* enterotossigeni negli allevamenti equivale a ridurre la possibilità di una eventuale circolazione all'interno della catena alimentare dell'uomo.

Il metodo sierologico adottato ha permesso di ottenere risultati in tempi rapidi ed in modo accurato, risultando un valido ausilio nella identificazione delle differenti enterotossine nei ceppi di *Staphylococcus aureus*.

BIBLIOGRAFIA – **Balaban**, N., Rasooly, A., 2000. Staphylococcal enterotoxins. Int. J. Microbiol. 61:1-10. **Bergdoll**, M.S., 1967. The staphylococcal enterotoxins. In: R.I. Mateles, G.N. Wogan (eds) Biochemistry of some microbial toxins. MIT Press, Cambridge, pp. 1-25. **Casman**, E.P., Bennett, R.W., Dorsey, A.E., Issa, J.A., 1967. Identification of a fourth Staphylococcal Enterotoxin, Enterotoxin D. J. Bacteriol. 94:1875-1882. **Winn**, W.Jr., Allen, S., Janda, W., Koneman, E., Procop, G., Schreckenberger, P., Woods, G., 2006. Koneman's Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6th Edition, Lippincott Williams & Wilkins Baltimore, pp. 623-649.