



Convegno nazionale  
L'antibioticoresistenza in  
Regione Emilia-Romagna

Giovedì 11 Ottobre 2018  
ore 8.30-17.30

Hotel Classic  
Via L. Pasteur 121/C, Reggio Emilia



UNIVERSITÀ DI PARMA

# Valutazione della diffusione di ceppi antibiotico-resistenti nella filiera suina

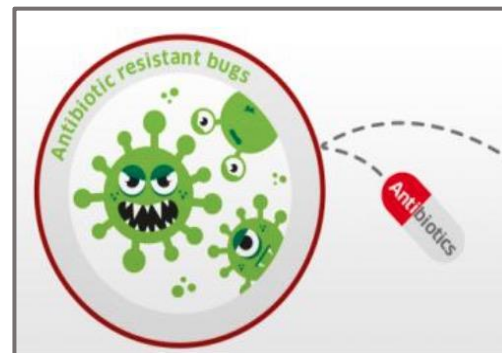
Prof.ssa Cristina Bacci, Alice Vismarra, PhD

# RESISTENZA AGLI ANTIBIOTICI

**Antibiotico resistenza** (AMR, antimicrobial resistance): capacità di un microrganismo di resistere all'azione di un antibiotico, verso il quale originariamente era sensibile, determinando l'inefficacia del trattamento terapeutico e la diffusione dell'infezione (WHO, 2014).

## Multi-drug resistant (**MDR**)

Resistenza a  $\geq 3$  antibiotici appartenenti a **diverse categorie** (Magiorakos, 2012)



L'utilizzo continuo di antibiotici fa sì che **aumenti la pressione selettiva** favorendo l'emergere, la moltiplicazione e la diffusione di ceppi **RESISTENTI**

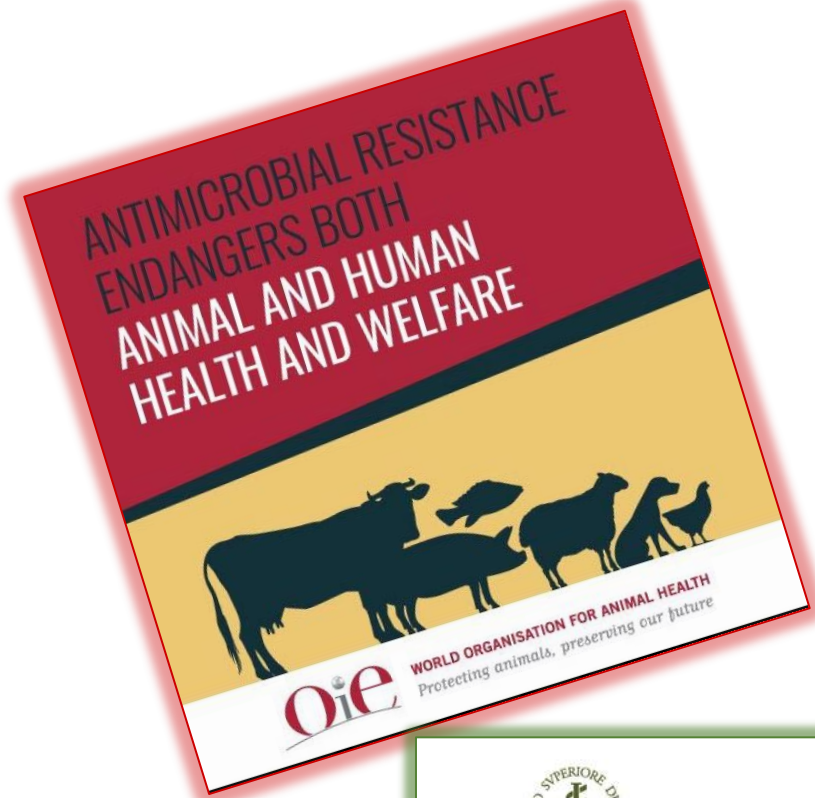
**Causa 25.000 decessi/anno in UE**

**Stima 700.000 casi anno/EU (EFSA, 2017)**

Si prevede che nel **2050** la resistenza agli antibiotici sarà la **principale causa di decesso**

# RESISTENZA AGLI ANTIBIOTICI

**problema  
attuale...**



**Sistema EARS-Net** (European Antimicrobial Resistance Surveillance System) (ECDC-2008): «mappare la situazione dell'AMR mediante diverse reti di controllo nazionali »

Sorveglianza su **otto batteri** tra cui:

- ***Escherichia coli commensali***: resistenza verso le **cefalosporine di terza generazione** e verso i **fluorochinoloni**;

**Piano Nazionale di Contrasto  
dell'Antimicrobico-Resistenza (PNCAR)**

**2017-2020**

2013-2020

### **SCOPI PRINCIPALI:**

Riduzione frequenza di infezione da parte di microrganismi resistenti e riduzione ospedalizzazioni conseguenti a tali infezioni

**Monitoraggio mediante indicatori specifici:**

consumo antibiotici

Infezioni

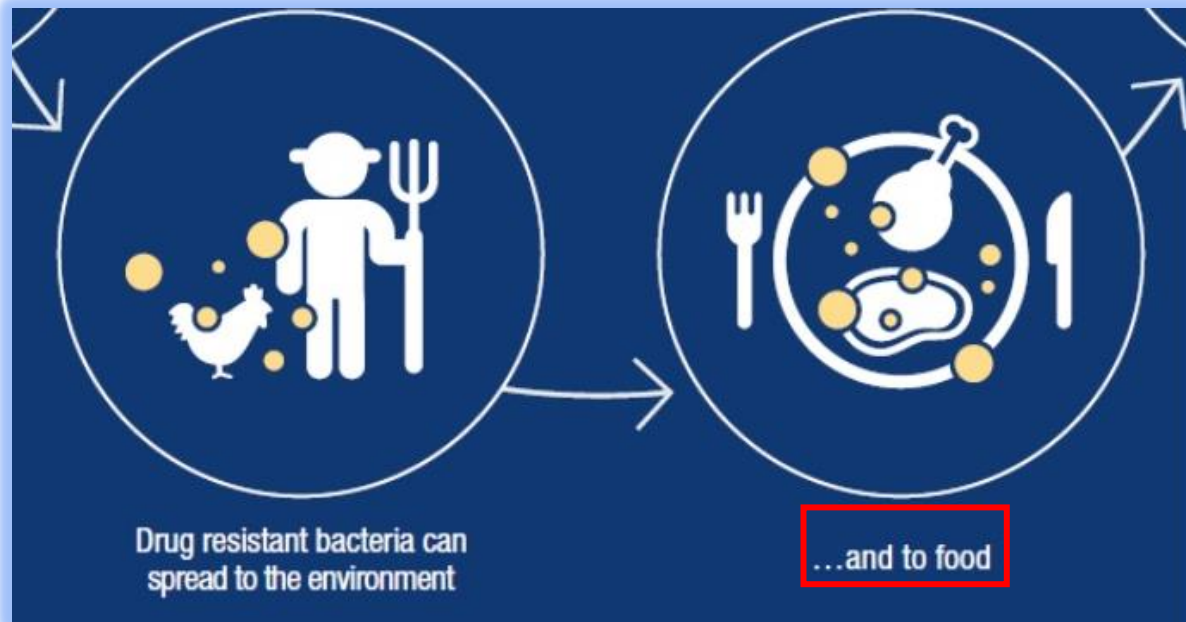
% microrganismi resistenti

**Prevede:**

Nel settore veterinario



- -30% consumo antibiotici orali
- - 10% consumo di CIA (critically important antimicrobials)



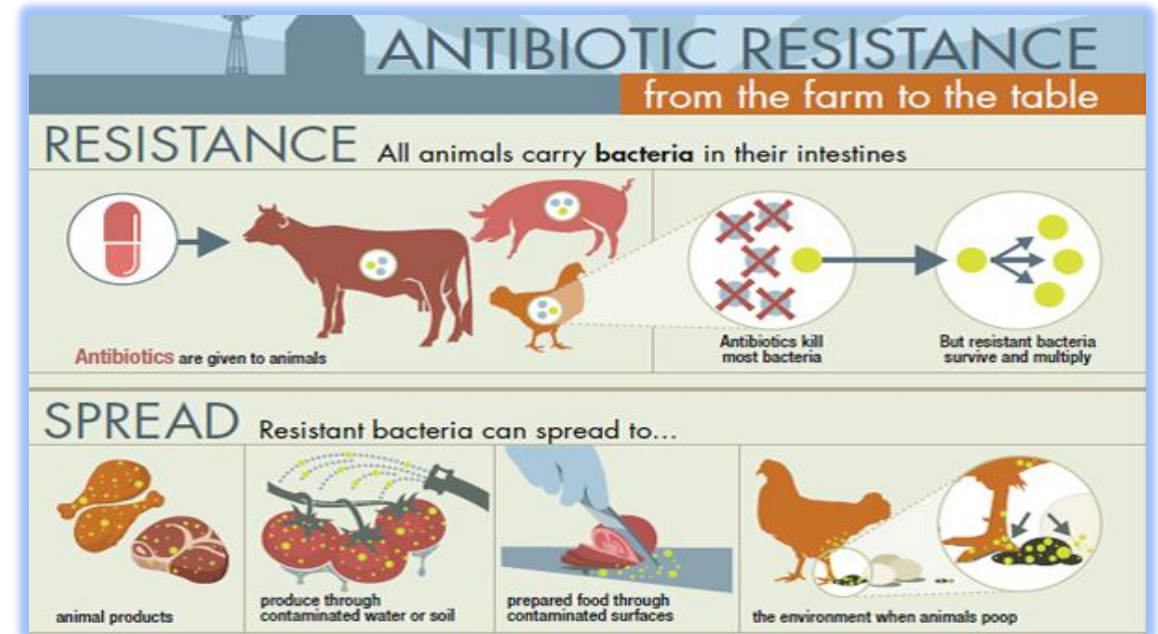
Rischio per il consumatore: **diffusione di batteri**

**MDR** attraverso animali, ambiente e **alimenti**

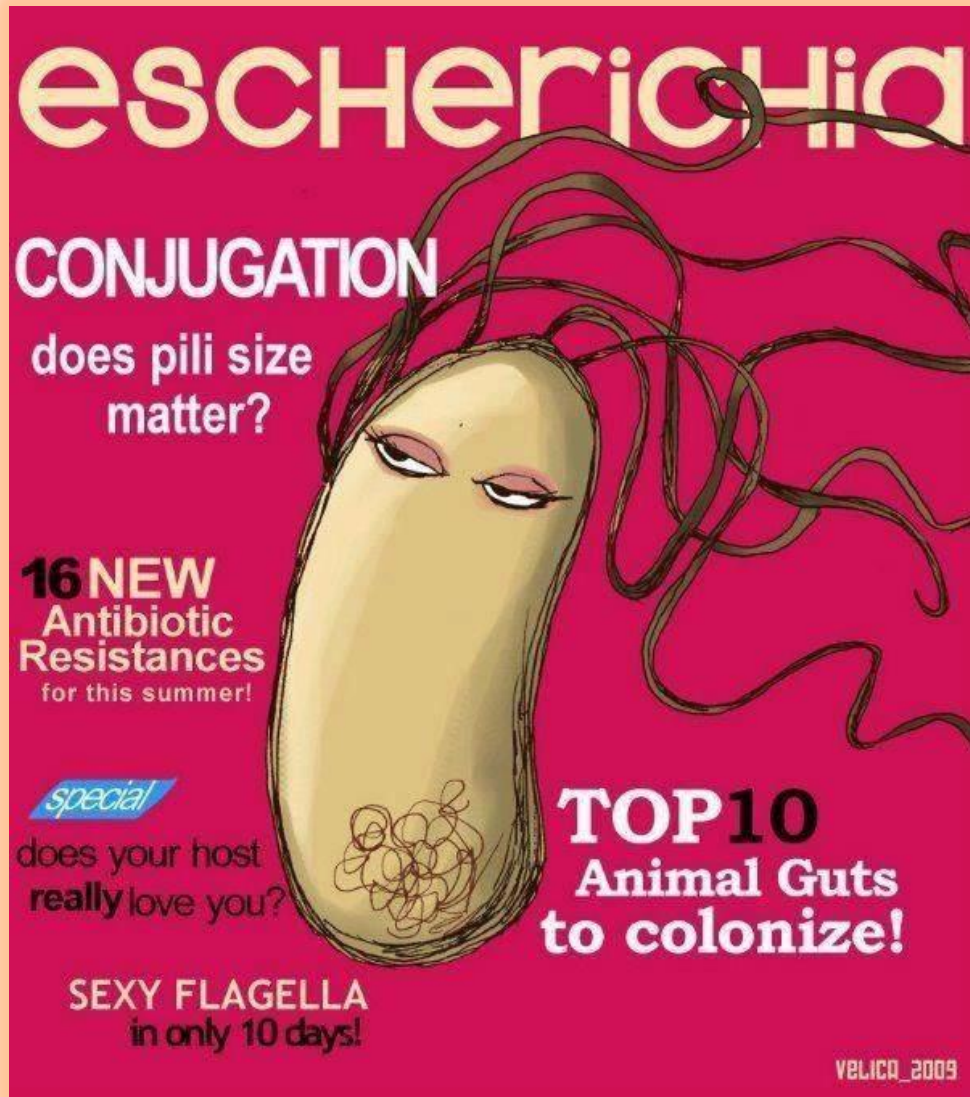
EFSA ha identificato *E. coli* MDR, isolati nella filiera suina, come **un grave rischio per la salute pubblica**

**Foodborne and Waterborne Diseases and Zoonoses Network (FWD-Net):** raccoglie informazioni sulla diffusione di AMR **in batteri isolati dalla filiera alimentare.**

Il monitoraggio delle resistenze in *Salmonella*, *Campylobacter jejuni* e in *E. coli* commensali, isolati dai principali animali produttori di alimenti, **è diventato obbligatorio** (ECDC/EFSA/EMA, 2017).



# *Escherichia coli?*



UBIQUITARIO

INDICATORE FECALE

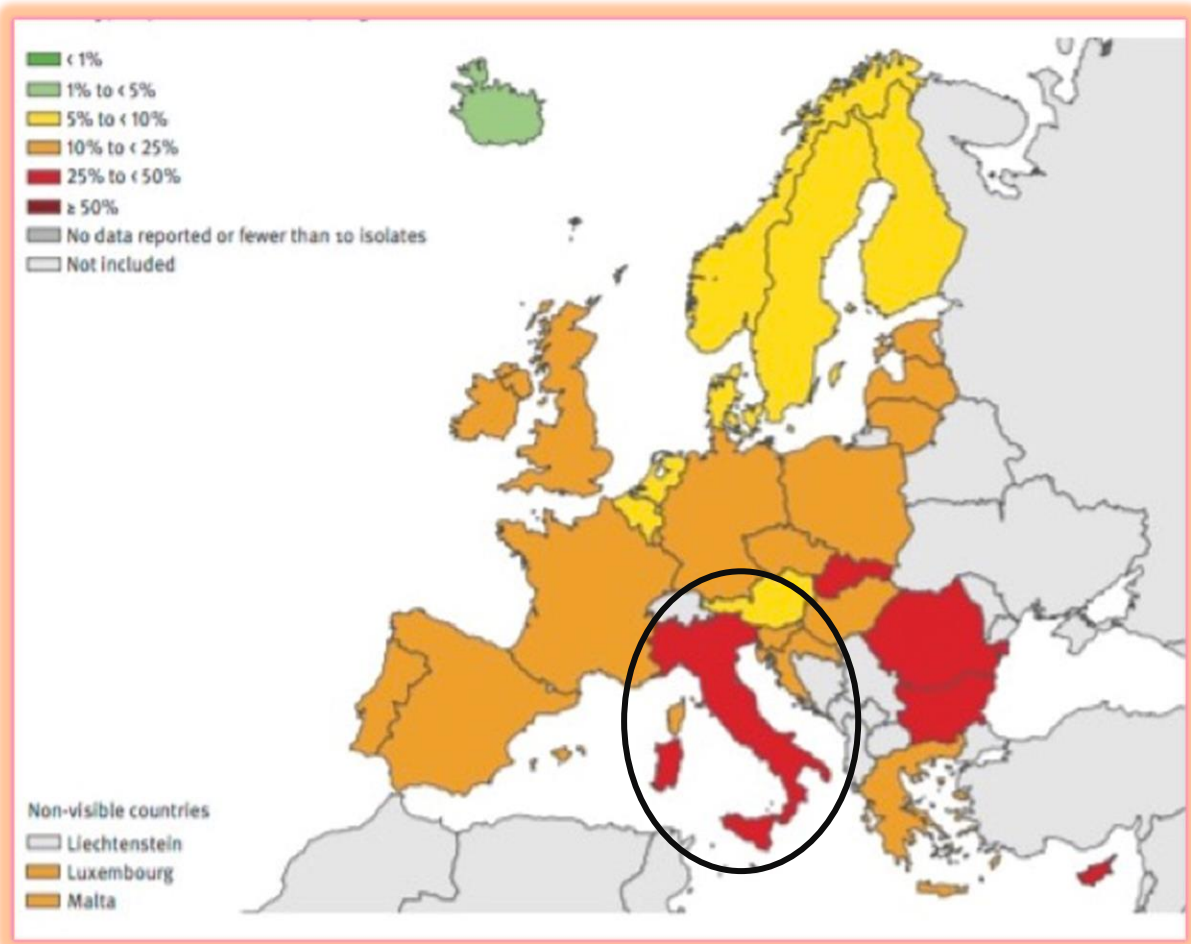
NON SPECIE-SPECIFICO

RESISTENZA A DIVERSE  
MOLECOLE ANTIBIOTICHE  
(MULTIRESISTENZA)

PERSISTENZA AMBIENTE  
FORMAZIONE DI BIOFILM

ELEVATA  
CAPACITÀ DI  
TRASMETTERE  
GENI DI  
RESISTENZA  
AD ALTRI  
PATOGENI

# RESISTENZA ALLE CEFALOSPORINE DI III GENERAZIONE



Percentuali di *E. coli* con resistenza alle cefalosporine di III generazione nel 2015 (ECDC/EFSA/EMA, 2017).

Antimicrobico	DIAGNOSI	Trattamento INDIVIDUALE	Trattamento MASSA Metafilattico	Profilattico
I° SCELTA	Clinica: sintomatologica	da preferire	possibile	evitato e/o limitato a casi eccezionali
II° SCELTA	Diagnosi eziologica + test di sensibilità; resistenza e/o inefficacia antimicrobici I° Sclta	da preferire	possibile	evitato e/o limitato a casi eccezionali
III° SCELTA	Diagnosi eziologica + test di sensibilità; resistenza e/o inefficacia antimicrobici I° e II° Sclta	da preferire	solo in casi eccezionali	Non accettabile

Categorizzazione delle molecole antibiotiche secondo le linee guida sull'uso degli antibiotici nell'allevamento suino (Diegoli *et al*, 2017).

# ES $\beta$ L (Extended Spectrum $\beta$ -Lactamases)

$\beta$ -lattamasi: enzimi in grado di idrolizzare le molecole della classe oxiamino- $\beta$ -lattamici

ES $\beta$ L (*Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Klebsiella pneumoniae*) resistenza verso ampio range di antibiotici  $\beta$ -lattamici, incluse le penicilline, le cefalosporine II, III e IV generazione e i monobattamici

Classe antibiotica	Antibiotici	Attività ES $\beta$ L
Penicilline	Penicillina G, Amoxicillina, Ampicillina, Piperacillina	+++
Penicilline/inibitore $\beta$ -lattamasi	Amoxicillina/ac. clavulanico, ampicillina/sulbactam	Attività inibita
Cefalosporine di I gen.	Cefazolina, Cefalexina, Cefalotina	+++
Cefalosporine di II gen.	Ceftiur, Cefuroxime	++
Cefalosporine di III gen.	Cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone	++
Cefalosporine di IV gen.	Cefepime	++
Monobattamici	Aztreonam	++

Prevalentemente codificati da geni plasmidici

Tre geni coinvolti:

- ***bla*CTX-M** (++++)
- ***bla*SHV** (+)
- ***bla*TEM** (+)
- Altri (PER, VEB, BES, GES, TLA, SFO e IBC)



# PROGETTO 2016-2017

International Journal of Food Microbiology 289 (2019) 162–167



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Food Microbiology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro](http://www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro)



ES $\beta$ L *E. coli* isolated in pig's chain: Genetic analysis associated to the phenotype and biofilm synthesis evaluation

E. Barilli<sup>a</sup>, A. Vismarra<sup>a,\*</sup>, Z. Villa<sup>a</sup>, P. Bonilauri<sup>b</sup>, C. Bacci<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Veterinary Sciences, Food Safety Unit, University of Parma, Italy

<sup>b</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna – IZSLER - Sezione di Reggio Emilia, Italy

- **Lombardia ed Emilia Romagna**
- Suini allevati in modo intensivo
- Campioni di feci (tampone), carcase (spugne) (stesso gruppo allevato ma non corrispondenza animale-carcassa)
- Macelli a grande capacità (> 3000 suini/giorno)
- Alimenti a base di carne suina (nessuna corrispondenza ↑)
- Collaborazione con IZSLER - Sezione Reggio Emilia

Ricerca di *Escherichia coli* ES $\beta$ L (CDT) + geni resistenza + antibiotico resistenza (MIC)

# Risultati

## *E. coli* ESβL

- Feci: **44/200** (22%)
- Carcasse: **20/200** (10%)
- Alimenti: **9/98** (*E. coli* isolati da 446 campioni di carne presso IZSLER Reggio Emilia) (9,2%)

## Geni ESβL

	<i>bla</i> CTX-M	<i>bla</i> SHV	<i>bla</i> TEM	<i>bla</i> CTX-M + <i>bla</i> TEM	<i>bla</i> CTX-M + <i>bla</i> SHV	<i>bla</i> TEM + <i>bla</i> SHV
FECI	<b>28</b>	3	19	5	1	1
CARCASSE	<b>18</b>	-	7	4	1	
ALIMENTI	<b>6</b>	1	4	2		

## MIC

**Table 1**

ESβL *E. coli* tested in MIC. Percentage of resistance (R, resistance; S, susceptibility) strains are reported for each antibiotic agents tested. The antibiotics used were: meropenem (MERO), amikacin (AMI), gentamicin (GEN), azithromycin (AZT), ciprofloxacin (CIP), piperacillin/tazobactam (P/T4), amoxicillin/clavulanic acid (AUGC); ceftolozane/tazobactam (C/T4); colistin (COL); tigecycline (TGC); sulphamethoxazole/trimethoprim (SXT); tobramycin (TOB); ceftazidime/tazobactam (CZA); imipenem (IMI); ertapenem (ETP).

Antibiotic agents (MIC breakpoint mg/L)	Faecal strains (tot. 44)	Carcasses strains (tot. 20)	Food strains (tot. 9)
MERO S ≤ 0.2-R > 8	2.3%	10%	22.2%
AMI S ≤ 8-R > 16	45.5%	60%	44.4%
GEN S ≤ 2-R > 4	56.8%	75%	66.6%
AZT S ≤ 1-R > 4	90.9%	90%	77.7%
CIP S ≤ 0.5-R > 1	77.2%	85%	77.7%
P/T4 S ≤ 8-R > 16	25%	20%	22.2%
AUGC S ≤ 8-R > 8	34%	30%	11.1%
C/T4 S ≤ 1-R > 1	43.1%	75%	33.3%
COL S ≤ 2-R > 2	36.3%	65%	44.4%
TGC S ≤ 1-R > 2	47.7%	60%	55.5%
STX S ≤ 2-R > 4	90.9%	80%	77.7%
TOB S ≤ 2-R > 4	31.8%	40%	33.3%
CZA S ≤ 8-R > 8	31.8%	20%	22.2%
IMI S ≤ 2-R > 8	2.3%	5%	0%
ETP S ≤ 0.5-R > 1	9%	5%	11.1%

# Risultati REGGIO EMILIA

## *E. coli* **ES $\beta$ L**

- Feci: **5/35** (14,2%)
- Carcasse: **2/35** (5,7%)

## MIC

## Geni **ES $\beta$ L**

	<i>bla</i> CTX-M	<i>bla</i> SHV	<i>bla</i> TEM	<i>bla</i> CTX-M + <i>bla</i> TEM	<i>bla</i> CTX-M + <i>bla</i> SHV	<i>bla</i> TEM + <i>bla</i> SHV
FECI	4	-	2	1	-	-
CARCASSE	2	-	0	-	-	-

	% TOTALE	% FECI	% CARCASSE
MERO S $\leq$ 0.2-R > 8	0,0	0	0
AMI S $\leq$ 8-R > 16	71,4	60	100
GEN S $\leq$ 2-R > 4	71,4	60	100
AZT S $\leq$ 1-R > 4	100,0	100	100
CIP S $\leq$ 0.5-R > 1	57,1	40	100
P/T4 S $\leq$ 8-R > 16	42,9	40	50
AUGC S $\leq$ 8-R > 8	28,6	40	0
C/T4 S $\leq$ 1-R > 1	57,1	60	50
COL S $\leq$ 2-R > 2	28,6	0	100
TGC S $\leq$ 1-R > 2	28,6	20	50
STX S $\leq$ 2-R > 4	100,0	100	100
TOB S $\leq$ 2-R > 4	71,4	60	100
CZA S $\leq$ 8-R > 8	14,3	20	0
IMI S $\leq$ 2-R > 8	0,0	0	0
ETP S $\leq$ 0.5-R > 1	0,0	0	0

## Discussione

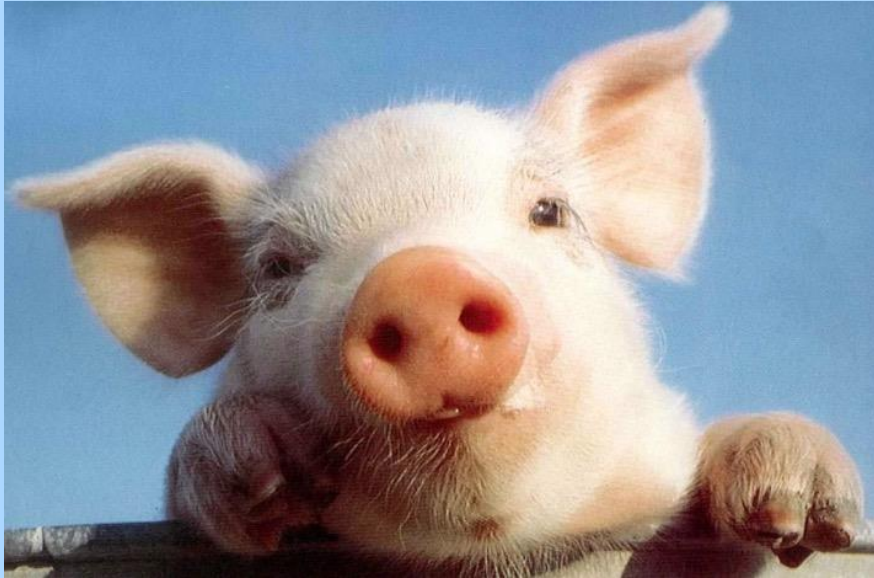
- Dati in linea con EFSA (14,6% degli isolati sono **ES $\beta$ L**)
- Prevalenza gene *bla*CTX-M
- MIC: elevate percentuali di resistenza per sulfametazolo/trimetoprim (77,7–90%), gentamicina (56,8–75%), ciprofloxacina (77,2%-85%)
- Resistenza alla colistina **significativa** (36,3-65%)



## SCOPO DEL LAVORO

- Valutare la presenza di **antibiotico resistenza** (pattern AR + MDR + MIC-EUCAST) in ceppi di *E. coli* isolati dalla **filiera suina (FECCI-CARCASSE)** della provincia di Reggio Emilia
- Valutare la presenza di **antibiotico resistenza** (pattern AR + MDR + MIC-colistina) in ceppi di *E. coli* isolati da **ALIMENTI** (IZSLER - Reggio Emilia)
- Valutare la presenza di *E. coli* ES $\beta$ L e il profilo genetico
- Valutare l'appartenenza ad uno specifico gruppo filogenetico

## Scelta dei campioni



- ❖ Provincia di **Reggio Emilia**
- ❖ Suini da ingrasso
- ❖ Allevamenti di suini a carattere intensivo (Tot. 5)
- ❖ Gruppi di allevamento dai 130 ai 2500 animali
- ❖ Feci (tampone prelevato in allevamento) e carcasse
- ❖ **Corrispondenza parziale** tra i campioni di feci e di carcasse
- ❖ Prelievo in macelli con capacità dai 2 ai 55 suini/h

## Scelta dei campioni



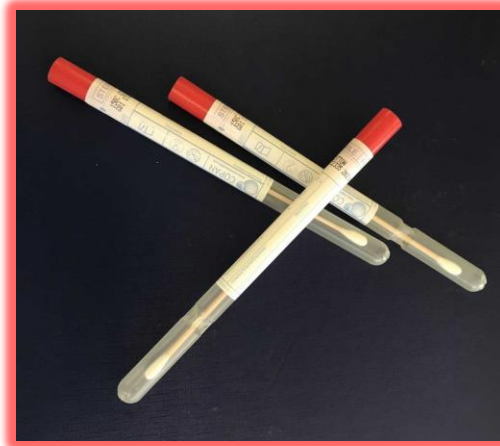
Istituto Zooprofilattico Sperimentale della  
Lombardia e dell'Emilia-Romagna  
"B. Ubertini"



- ❖ Alimenti a base di carne suina (salsicce, lonza e tagli di carne vari)
- ❖ Provenienti dalla provincia di Reggio Emilia
- ❖ **100 *E. coli* isolati da 450 alimenti** da IZSLER Reggio Emilia
- ❖ **Nessuna corrispondenza** con i campioni (feci e carcasse) precedentemente considerati

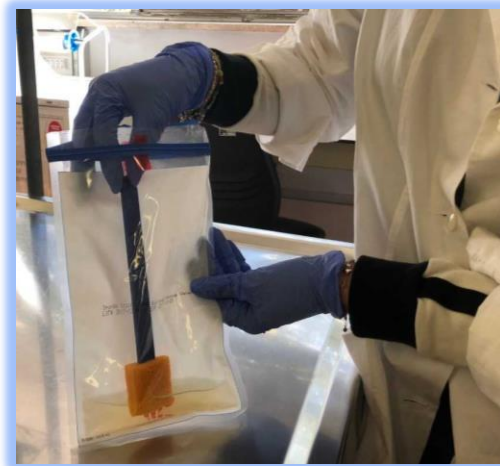
## Campionamento

**Feci** → Tampone fecale -Tot. 65



BPW 9ml

**Carcasse** → Spugna abrasiva al termine della macellazione - Tot. 65



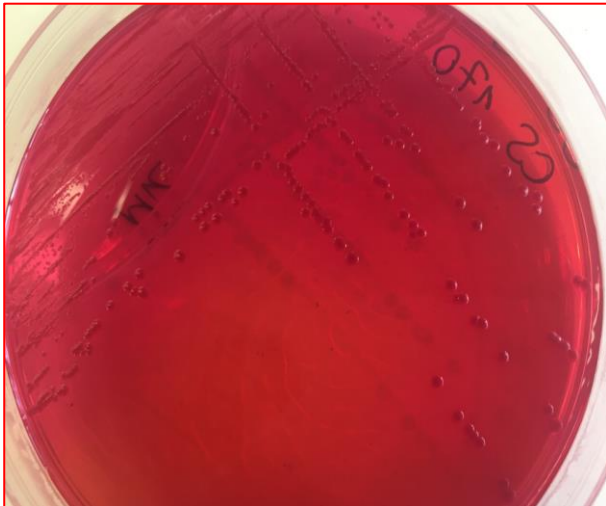
**Invio al laboratorio  
per isolamento ed  
identificazione**

BPW 225 ml

# Isolamento e Identificazione

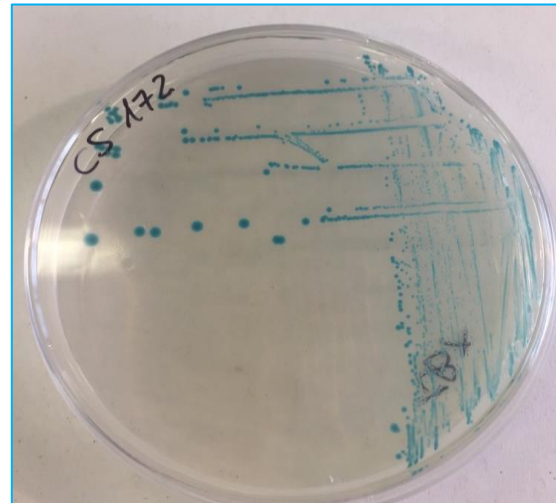
1. Semina dei campioni su terreni selettivi

McConkey Agar



+

TBX Agar



2. **Selezione** colonie «tipiche»

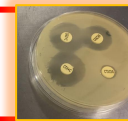
3. Test **Indolo**

4. **Identificazione** mediante galleria biochimica  
(API 20E)





# Antibiogramma



## ANTIBIOTICI TESTATI

- ❖ Su tutti i ceppi di *E. coli* isolati
- ❖ Brodocoltura del ceppo (0,5 McFarland)
- ❖ Semina mediante tampone su terreno (Mueller Hinton Agar)
- ❖ Applicazione dischetti con antibiotici
- ❖ Incubazione delle piastre a 37°C per 24h
- ❖ Lettura dei diametri
- ❖ Definizione S o R (**EUCAST o CLSI**)

- ❖ Ampicillina 10 µg (AMP)
- ❖ **Cefotaxime 5 µg (CTX)**
- ❖ **Ceftazidime 10 µg (CAZ)**
- ❖ Cloramfenicolo 30 µg (CLOR)
- ❖ Ciprofloxacina 5 µg (CIPRO)
- ❖ Gentamicina 10 µg (GENT)
- ❖ Ac. nalidixico 30 µg (AC.NAL)
- ❖ Tetraciclina 30 µg (TETRA)
- ❖ Trimethoprim/sulfamethoxazolo 25 µg (TRIM/SUL)
- ❖ Imipenem 10 µg (IMI)
- ❖ Meropenem 10 µg (MERO)
- ❖ Streptomicina 10 µg (S)

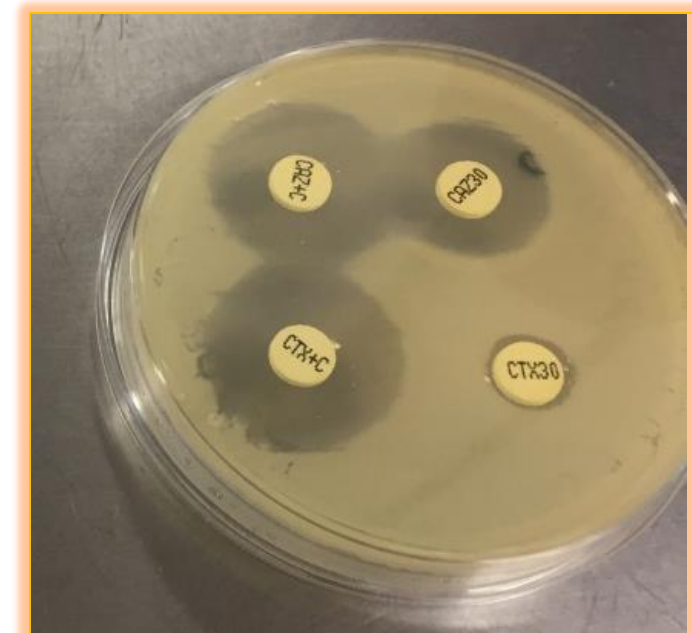
## Conferma ceppi ES $\beta$ L: Combination Disk Test (CDT)



- ❖ Ceppi resistenti alle cefalosporine (**CTX** e **CAZ**)
- ❖ Conferma ceppi ES $\beta$ L
- ❖ Allestimento antibiogramma con Antibiotico e Antibiotico + Inibitore
- ❖ Lettura con confronto tra dischetti ( $\geq 5$  mm)

### Antibiotici utilizzati per CDT

- ❖ Cefotaxime 30  $\mu$ g
- ❖ Cefotaxime 30  $\mu$ g + Ac. clavulanico 10  $\mu$ g
- ❖ Ceftazidime 30  $\mu$ g
- ❖ Ceftazidime 30  $\mu$ g + Ac. clavulanico 10  $\mu$ g





## Conferma ceppi ES $\beta$ L: PCR-Real Time

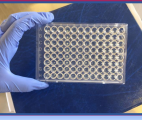
- ❖ Estrazione DNA (mediante kit di estrazione da brodocoltura overnight)
- ❖ **PCR-Real Time** con SyBr Green - Campioni ripetuti in triplicato



NTCT/ATCC	CONTROLLO	GENE
NCTC 13353 <i>Escherichia coli</i>	Positivo	<i>bla</i> CTX-M
NCTC 13351 <i>Escherichia coli</i>	Positivo	<i>bla</i> TEM
NCTC 13368 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Positivo	<i>bla</i> SHV
ATCC 25922 <i>Escherichia coli</i>	Negativo	-

Controlli utilizzati:  
 3 controlli positivi  
 1 controllo negativo  
 1 NTC (acqua)

## Minima Concentrazione Inibente (MIC)



- ❖ Sui ceppi confermati ES $\beta$ L di FECI e CARCASSE - ALIMENTI
- ❖ Preparazione dell'inoculo (MHB - 0,5 McFarland)
- ❖ Inoculo di 50 ml di sospensione batterica nei micro-pozzetti precaricati con le diluizioni di antibiotico
- ❖ Incubazione a 37°C per 24 h, lettura e interpretazione secondo EUCAST o CLSI

### ANTIBIOTICI TESTATI

meropenem  
amikacina  
gentamicina  
azitromicina  
ciprofloxacina  
piperacillina/tazobactam  
amoxicillina/ac. clavulanico

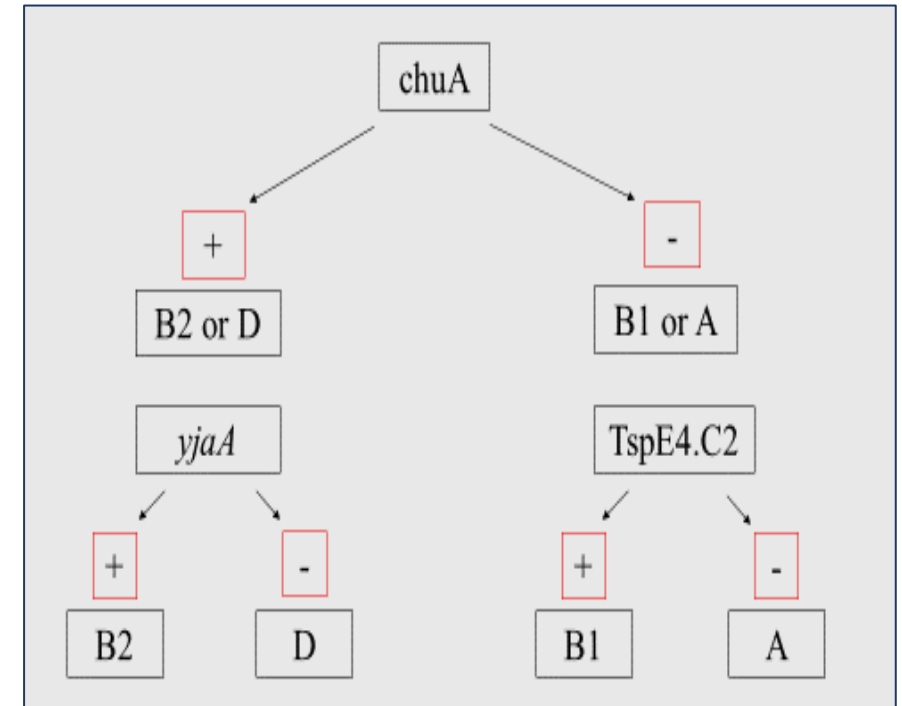
ceftolozane/tazobactam  
**colistina**  
tigeciclina  
sulfametazolo/trimethoprim  
tobramicina  
ceftazidime/tazobactam  
imipenem  
ertapenem



**ALIMENTI testata solo colistina**

## Identificazione del gruppo filogenetico

- ❖ **Multiplex PCR** (protocollo *Clermont* et al., 2000)
- ❖ Definizione del gruppo filogenetico in base alla combinazione dei geni *chuA*, *yjaA* e del frammento **TSPE4.C2** (279 bp, 211 bp, 152 bp)
- ❖ Differenziazione tra gruppi «patogeni» (B2 e D) e non «patogeni» (A e B1)



## Isolamento e Identificazione

Isolamento di *E. coli* dai campioni

**130 ceppi isolati**

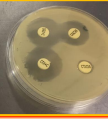


**Feci: 65** ceppi *E. coli* isolati da 65 tamponi



**Carcasse: 65** ceppi *E. coli* isolati da 65 spugne

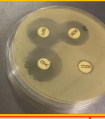
# Antibiogramma



	AMP 10 µg	CTX 5 µg	CAZ 10 µg	CLOR 30 µg	CIPRO 5 µg	GENT 10 µg	AC. NAL 30 µg	TETRA 30 µg	TRIM/SUL 25 µg	IMI 10 µg	MERO 10 µg	S 10 µg
<i>E. coli</i> resistenti (FECI)	47	4	13	25	20	10	21	55	33	1	0	56
<i>E. coli</i> resistenti (CARCASSE)	38	5	10	21	14	9	11	48	19	0	0	55



## MDR ( $\geq 3$ categorie antibiotiche)



### CATEGORIE ANTIBIOTICI

Aminoglicosidi (S/GENT)

$\beta$ -lattamici (AMP/CAZ/CTX/IMI/MERO)

Chinoloni (AC.NAL/CIPRO)

Diaminopirimidine (TRIM-SUL)

Fenicoli (CLOR)

Tetracicline (TETRA)

n. categorie	3	4	5	6	totale ceppi
<i>E. coli</i> da feci	19	13	18	5	<b>55</b>
<i>E. coli</i> da carcasse	17	14	9	3	<b>43</b>

### Pattern MDR principali

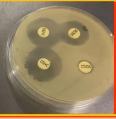
Aminoglicosidi/ $\beta$ -Lattamici/Tetracicline = **S-AMP-TETRA** (6 ceppi da feci e 4 ceppi da carcassa)

Aminoglicosidi/ $\beta$ -Lattamici/Diaminopirimidine/Tetracicline = **S-AMP-TRIM -TETRA** (3 ceppi da feci e 4 ceppi da carcassa)

Aminoglicosidi/ $\beta$ -Lattamici/Diaminopirimidine/Fenicolo/Tetracicline = **S-AMP-TRIM-CLOR-TETRA** (6 ceppi da feci e 5 ceppi da carcassa)

Aminoglicosidi/ $\beta$ -Lattamici/Chinoloni/Diaminopirimidine/Fenicolo/Tetracicline=**S-GEN-AMP-AC.NAL-CIPRO-TRIM-CLOR-TETRA** (2 ceppi da feci e 1 ceppo da carcassa)

## Pattern di resistenza $\geq 3$ antibiotici



n. antibiotici	3	4	5	6	7	8	totale ceppi
<i>E. coli</i> da feci	14	8	15	9	5	4	<b>55</b>
<i>E. coli</i> da carcasse	10	17	12	4	2	1	<b>46</b>

### Pattern principali

AMP/TETRA/S

AMP/TETRA/TRIM-SULF/S

AMP/CHLOR/TETRA/TRIM-SULF/S

AMP/CHLOR/GEN/TETRA/TRIM-SULF/S

AMP/CHLOR/CIPRO/GEN/AC.NAL/TETRA/TRIM-SULF/S

## Combination Disk Test (CDT)



*E. coli* da feci - 17 resistenti per CTX 5  $\mu$ g e CAZ 10  $\mu$ g

*E. coli* da carcasse - 15 resistenti per CTX 5  $\mu$ g e CAZ 10  $\mu$ g

**2 ESBL** *E. coli* confermati da feci

**4 ESBL** *E. coli* confermati da carcassa





# PCR-Real Time

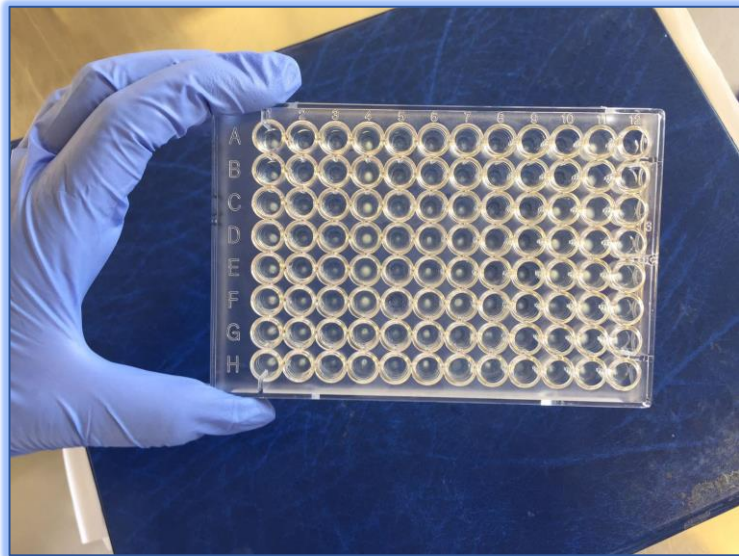
	<i>bla</i> CTX-M	<i>bla</i> SHV	<i>bla</i> TEM
<i>E. coli</i> da feci	+	+	+
	-	+	+
<i>E. coli</i> da carcasse	+	-	+
	+	-	-
	+	-	+
	-	+	+
	<b>4/6</b>	<b>3/6</b>	<b>5/6</b>



**corrispondenza feci/carcassa ma  
diverso profilo genetico**



# Minima Concentrazione Inibente (MIC) e gruppo filogenetico



## Resistenze rilevate in MIC

- ❖ Tutti i ceppi resistenti a Amoxicillina + Ac. clavulanico
- ❖ Nessuna resistenza alla colistina

- ❖ 45 ceppi «patogeni»
- ❖ Gruppo filogenetico B2 o D
- ❖ Associati a *E. coli* patogeni (extra-intestinali)
- ❖ 17 isolati da feci e 28 da carcasse



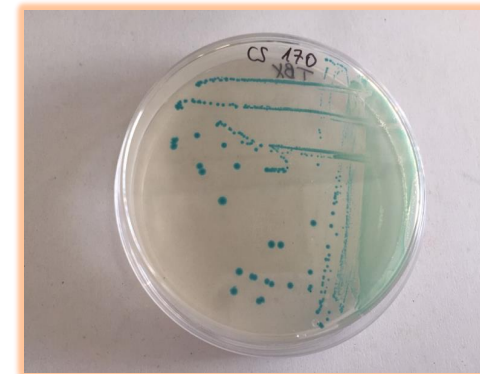
## Isolamento e Identificazione

Isolamento di *E. coli* dai campioni (salsiccia, tagli di carne vari)

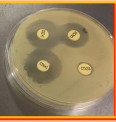
**100 *E. coli* da 450 campioni**



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della  
Lombardia e dell'Emilia-Romagna  
"B. Ubertini"

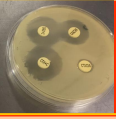


# Antibiogramma



AMP 10 µg	CTX 5 µg	CAZ 10 µg	CLOR 30 µg	CIPRO 5 µg	GENT 10 µg	AC. NAL 30 µg	TETRA 30 µg	TRIM/SUL 25 µg	IMI 10 µg	S 10 µg
54	6	20	38	32	29	35	71	28	2	89

## MDR ( $\geq 3$ categorie antibiotiche)



n. categorie	3	4	5	6	totale ceppi
<i>E. coli</i>	20	19	22	8	<b>69</b>

### CATEGORIE ANTIBIOTICI

Aminoglicosidi (S/GENT)

$\beta$ -lattamici (AMP/CAZ/CTX/IMI/MERO)

Chinoloni (AC.NAL/CIPRO)

Diaminopirimidine (TRIM-SULF)

Fenicoli (CLOR)

Tetracicline (TETRA)

### Pattern MDR principali

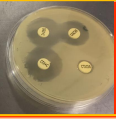
Aminoglicosidi/ $\beta$ -Lattamici/Tetracicline = **S-AMP-TETRA** (8 ceppi)

Aminoglicosidi/ $\beta$ -Lattamici/Diaminopirimidine/Fenicolo/Tetracicline = **S-AMP-TRIM-CLOR-TETRA** (7 ceppi)

Aminoglicosidi/ $\beta$ -Lattamici/Chinoloni/Diaminopirimidine/Fenicolo/Tetracicline=**AMP-CAZ-CLOR-CIPRO-AC.NAL-TETRA-TRIM-S** (3 ceppi)



## Pattern di resistenza $\geq 3$ antibiotici



n. antibiotici	3	4	5	6	7	8	9	10	totale ceppi
<i>E. coli</i>	17	17	16	3	10	7	1	2	72

### Pattern principali

AMP/TETRA/S

AMP/CLOR/TETRA/TRIM/S

❖ 1 ceppo *E. coli* è resistente a **9 antibiotici** =

AMP/**CTX/CAZ**/CIPRO/GENT/AC.NAL/TETRA/TRIM/S

❖ 2 ceppi *E. coli* sono resistenti a **10 antibiotici** =

AMP/**CTX/CAZ**/CLOR/CIPRO/GENT/AC.NAL/TETRA/TRIM/S



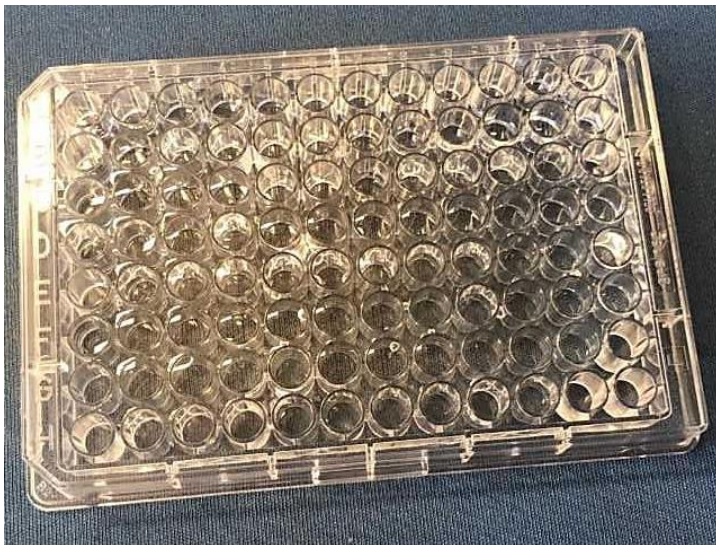
## ES $\beta$ L e PCR-Real Time

- ❖ 5/100 *E. coli* confermati ES $\beta$ L
- ❖ Geni maggiormente riscontrati:  
*blaCTXM* e *blaTEM*

<i>E. coli</i> ES $\beta$ L	<i>blaCTX-M</i>	<i>blaSHV</i>	<i>blaTEM</i>
<i>E. coli</i> 1	+	+	+
<i>E. coli</i> 2	-	+	+
<i>E. coli</i> 3	+	-	+
<i>E. coli</i> 4	+	-	-
<i>E. coli</i> 5	+	-	+
	<b>4/5</b>	<b>2/5</b>	<b>4/5</b>

# Minima Concentrazione Inibente (MIC) e gruppo filogenetico

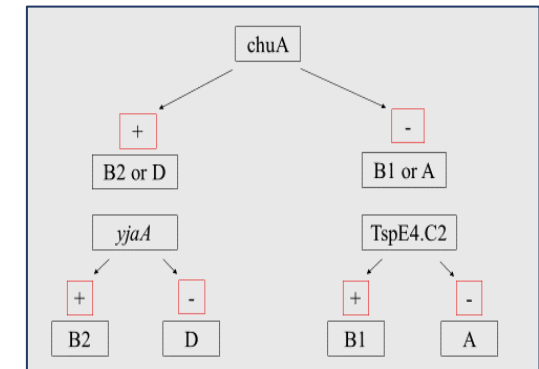
Nessun *E. coli* ES $\beta$ L è risultato  
resistente alla colistina



36/100 ceppi «patogeni»

Gruppo B2: 3/100

Gruppo D: 33/100





- Tamponi rettali provenienti da **allevamenti intensivi di suini dell'Emilia Romagna**: ESBL nel **36%** degli isolati (Stefani et al., 2014)
- ***E. coli* produttori di ESBL** da carne suina: **7%** Europa (EFSA, 2017).
- ***E. coli* produttori di ESBL** da carne suina: **7,9%** Italia (ECDC/EFSA/EMA, 2017).



“...The use of third- and fourth-generation cephalosporins for the treatment of infections caused by *E. coli* and other bacteria in humans is associated **with resistance to these antibiotics in *E. coli* found in humans.**” (ECDC/EFSA/EMA, 2017)

**Maggiore resistenza verso cefotaxime** → *bla*CTX-M, codifica enzimi in grado di idrolizzare il cefotaxime (*bla*TEM e *bla*SHV: ceftazidime)

In Europa e in Italia, in particolare, il gene maggiormente diffuso è *bla*CTX-M

**Monitoraggio (2015) in Italia (ECDC/EFSA/EMA, 2017):**

- gene *bla*CTX-M in tutti gli *E. coli* produttori di ESβL isolati da **carne suina**
- su 304 campioni di **feci** di suini allevati in modo intensivo: 195 *E. coli* ESβL, presenza del gene *bla*CTX-M nel 96,9%, gene *bla*SHV nel 3,1%.

## PER CONCLUDERE...

- Lo studio delle prevalenze delle resistenze antibiotiche nella filiera suina assume un ruolo fondamentale in vista dell'applicazione del **Piano Nazionale di contrasto all'antimicrobico resistenza (2017- 2020)**
- Valutare il reale **rischio per il consumatore e OSA derivato dal contatto con** batteri resistenti presenti nella filiera zootecnica e alimentare
- Mappare il problema a livello **nazionale**, acquisendo un maggior numero di dati

**SEMPRE E COMUNQUE... CREARE STRATEGIE DI LOTTA CONTRO  
AMR E PROMUOVERE L'USO CONSAPEVOLE DEGLI ANTIBIOTICI!**

# Criticità e prospettive future di approfondimento

- progetto 2017: ricerca solo ceppi **ESBL** con lo scopo di avere una panoramica della diffusione di tale ceppi in un territorio limitato compreso fra Lombardia ed Emilia-Romagna
- progetto 2018: **pattern di antibiotico resistenza e multi-resistenza**, compresi gli **ESBL**, in suini allevati a Reggio Emilia con trattamenti farmacologici noti per evidenziare una possibile correlazione trattamento-presenza di *E. coli* resistenti isolati dalle feci e dalle carcasse degli stessi animali

## PROSPETTIVA FUTURA

È POSSIBILE CHE I CEPPI DI *E. COLI* ESβL SIANO IN GRADO DI ARRIVARE ALL'UOMO MEDIANTE L'ASSUNZIONE O LA MANIPOLAZIONE DI CARNE E PRODOTTI CARNEI CONTAMINATI?

«FROM FARM TO FORK»

N° di campioni esiguo per un'analisi statistica

Indagini molecolari per confermare «parentela» tra isolati con lo stesso profilo di antibiotico resistenza o ESβL

## The discovery of natural antibiotics



"One sometimes finds what one is not looking for."

"People have called it a miracle. For once in my life as a scientist, I agree. It is a miracle, and it will save lives by thousands."

Sir Alexander Fleming  
Nobel Prize for Medicine, 1945

**GRAZIE**

**PER**

**L'ATTENZIONE**



# Un grazie a tutti coloro che hanno reso possibile la realizzazione di questo studio

*Dott. Antonio Cuccurese*

*Dott. Aurelio Aldrovandi*

*Dott. Paolo Bonilauri (Zooprofilattico)*

*e tutto lo staff*

*Dott. Carlo Alberto Alberti*

*Dott. Paola Aldini*

*Dott. Alberto Beretti*

*Dott. Lorenza Cecchini*

*Dott. Andrea Colli*

*Dott. Pierluigi Corradi*

*Dott. Vainer Dallari*

*Dott. Valerio Fantini*

*Dott. Francesca Grignani*

*Dott. Stefano Guazzetti*

*Dott. Emilio Guidotti*

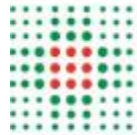
*Dott. Andrea Iotti*

*Dott. Paolo Monica*

*Dott. Graziano Savio*

*Dott. Alessandro Scolari*

*Dott. Alessandro Zatelli*



SERVIZIO SANITARIO REGIONALE  
EMILIA-ROMAGNA  
Azienda Unità Sanitaria Locale di Reggio Emilia  
IRCCS Istituto in tecnologie avanzate e modelli assistenziali in oncologia



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della  
Lombardia e dell'Emilia-Romagna  
"B. Ubertini"