



Farmacoresistenze

rilevate presso le sezioni diagnostiche dell'IZSVe

REPORT 2010-2011



Antonio Barberio
SCT1 Vicenza

Luca Bano
SCT2 Treviso

Salvatore Catania
SCT7 Diagnostica in sanità animale

Michela Corrà
SCT7 Diagnostica in sanità animale

Marzia Mancin
SC8 Analisi del rischio e sistemi di sorveglianza in sanità pubblica

Antonia Ricci
Dipartimento sicurezza alimentare

Gaddo Vicenzoni
Dipartimento di patologia animale e sanità pubblica

Denis Vio
SCT4 Pordenone

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie
Viale dell'Università, 10 - 35020 Legnaro (PD)
Tel.: +39 049 8084211
Fax: +39 049 8830046
E-mail: comunicazione@izsvenezie.it
www.izsvenezie.it

Grafica e impaginazione
Valentina Boscolo Bragadin
SCS7 Laboratorio comunicazione della scienza, IZSVe

Qualsiasi utilizzo dei dati qui citati dovrebbe fare specifico riferimento al presente report

Copyright © 2013 Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie

Pubblicazione non in vendita

I lettori che desiderano informazioni e aggiornamenti sulle attività dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie possono visitare il sito web: www.izsvenezie.it

Indice interattivo

Introduzione	pag. 3	Suini	
Informazioni generali	pag. 4	Infezioni gastro-enteriche	
<i>Resistenza dei germi isolati più frequentemente ripartiti per specie e sindrome:</i>		<i>Escherichia coli</i>	pag. 32
Bovini		Pollo	
Infezioni mammarie		Infezioni enteriche e forme setticemiche	
<i>Staphylococcus aureus</i>	pag. 9	<i>Escherichia coli</i>	pag. 34
<i>Enterococcus spp</i>	pag. 12	Cane	
<i>Streptococcus uberis</i>	pag. 14	Infezioni dell'apparato tegumentario	
<i>Escherichia coli</i>	pag. 16	<i>Staphylococcus Intermedius</i>	pag. 38
Infezioni enteriche		Conclusioni	pag. 41
<i>Escherichia coli</i>	pag. 18	Allegato A	pag. 42
Infezioni dell'apparato respiratorio		Informazioni sulle resistenze degli antibiotici	
<i>Pasteurella multocida</i>		Allegato B	pag. 44
<i>e Mannheimia haemolytica</i>	pag. 20	Note informative sui principali antibiotici impiegati in veterinaria	
Coniglio		<i>β-lattamici</i>	pag. 44
Infezioni dell'apparato tegumentario e della mammella		<i>Tetracicline</i>	pag. 44
<i>Staphylococcus aureus</i>	pag. 24	<i>Aminoglicosidi</i>	pag. 45
Infezioni dell'apparato respiratorio		<i>Macrolidi</i>	pag. 45
<i>Pasteurella multocida</i>	pag. 28	<i>Sulfamidici</i>	pag. 45
Infezioni dell'apparato gastro-enterico		<i>Chinoloni</i>	pag. 46
<i>Escherichia coli</i>	pag. 30		

Introduzione

Gli antimicrobici sono utilizzati largamente in veterinaria per il trattamento delle infezioni; ad oggi il loro uso negli allevamenti intensivi è ritenuto condizione imprescindibile a garanzia della salute e del benessere animale.

È universalmente riconosciuto che l'uso degli antimicrobici negli animali allevati a scopi produttivi è stato causa principale dell'insorgenza del fenomeno dell'antibiotico resistenza sia in microrganismi commensali, che costituiscono la normale flora intestinale degli animali, che in microrganismi patogeni.

Molti studi hanno dimostrato che in seguito all'uso di molecole ad azione antimicrobica negli animali si assiste alla selezione di batteri resistenti; in particolare alcuni di questi studi hanno dimostrato che esiste una correlazione positiva tra l'uso di antimicrobici in medicina veterinaria e la prevalenza di resistenza nei microrganismi patogeni così come nei batteri commensali isolati dalle feci degli animali.

Negli ultimi anni l'impatto sulla salute umana dell'incremento del fenomeno dell'antibiotico resistenza ed in particolare l'evidenziazione dell'esistenza di microrganismi multiresistenti ha assunto una importanza crescente a livello internazionale; particolare attenzione è posta nell'ottenere informazioni sul ruolo dell'uso di molecole ad azione antimicrobica negli animali, sui meccanismi di selezione di microrganismi resistenti e sul trasferimento di geni di resistenza all'uomo.

Nel 2011 la Commissione Europea ha emanato un atto di indirizzo per combattere il fenomeno dell'antibiotico resistenza (*Action Plan against the rising threats from Antimicrobial Resistance*, COM 2011, 748) che prevede fra l'altro azioni volte ad assicurare in Europa l'uso appropriato degli antimicrobici, e a promuovere la diagnosi microbiologica per orientare la terapia empirica e monitorare il fenomeno delle resistenze.

In quest'ottica, a partire dal 2010 l'IZSVe ha dato avvio ad un programma di sorveglianza dell'antibiotico resistenza nei microrganismi isolati nell'ambito dell'attività diagnostica, ponendosi come obiettivo l'armonizzazione e la standardizzazione dei test effettuati e dei pannelli utilizzati nei diversi laboratori (utilizzando alcune molecole come marker di resistenza nei confronti della famiglia di antimicrobici), allo scopo di fornire risultati pienamente comparabili. Il presente report è frutto di questo lavoro.

In esso vengono presentati i risultati degli antibiogrammi suddivisi per microrganismo, specie animale e tipo di patologia (aggregata per semplificazione in "sindromi/infezioni" a carico di apparati o organi), con l'obiettivo di dare un quadro affidabile di questo fenomeno nelle popolazioni animali del nostro territorio di competenza.

Antonia Ricci



Direttore del Dipartimento sicurezza alimentare
dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie

Informazioni generali

Complessivamente nel corso degli anni 2010 e 2011 sono stati eseguiti presso le Sezioni Diagnostiche dell'IZSVe 15.808 antibiogrammi secondo la metodica Kirby-Bauer, di cui 15.232 armonizzati utilizzati per il presente report, mentre 576 (272 nel 2010 e 304 nel 2011) sono stati scartati, in quanto presentavano delle carenze nei dati anamnestici, che non ne consentivano l'impiego. In Tabella 1 è

riportato il totale degli antibiogrammi effettuati presso ogni singola Sezione Diagnostica dell'Istituto. Come si evince dalla tabella le quantità di antibiogrammi effettuati presso le diverse Sezioni è abbastanza omogenea, con l'eccezione di Verona.

Tabella 1. Antibiogrammi effettuati dall'IZSVe nel corso del biennio 2010-2011 suddivisi in numero totale, numero esiti corretti, numero esiti non utilizzabili, e ripartiti per Sezione diagnostica territoriale

Laboratorio territoriale	2010			2011		
	Totale	Corretti	Non utilizzabili	Totale	Corretti	Non utilizzabili
Bolzano	1.519	1.416	103	1.372	1.318	54
Padova	1.741	1.648	93	1.556	1.436	120
Treviso	1.805	1.793	12	1.704	1.677	27
Udine	1.042	1.016	26	1.076	1.016	60
Verona	519	506	13	639	627	12
Vicenza	1425	1.400	25	1.410	1.379	31
Totale	8.051	7.779	272	7.757	7.453	304

La prima suddivisione degli antibiogrammi effettuati è legata alla specie animale (tabella 2). I dati evidenziano come l'attività diagnostica dell'IZSVe sia ancora molto centrata sulla patologia bovina, anche se il dato dei "pet" e degli uccelli ornamentali mette in luce come alcune Sezioni abbiano iniziato a differenziare la loro attività anche in altri ambiti. In questo

report vengono riportati solo i dati per i quali vi è una numerosità accettabile in relazione alla specie microbica e alla patologia.

Tabella 2. Numero totale di antibiogrammi effettuati dall'IZSVe nel corso del biennio 2010-2011 sui ceppi batterici isolati nell'attività diagnostica di routine suddivisi per specie animale

Specie	2010		2011	
	Frequenza	Percentuale	Frequenza	Percentuale
Bovino	4.105	52,8%	3.802	51,0%
Coniglio	1.504	19,3%	1.517	20,4%
Cane - gatto	584	7,5%	724	9,7%
Volatili d'allevamento	422	5,4%	367	4,9%
Uccelli ornamentali	385	4,9%	376	5,0%
Cavallo	272	3,5%	173	2,3%
Suino	138	1,8%	158	2,1%
Uccelli - altro	61	0,8%	79	1,1%
Lepre	42	0,5%	14	0,2%
Capra	31	0,4%	48	0,6%
Altre specie	235	3,0%	195	2,6%
Totale	7.779	100%	7.453	100%

Al fine di rendere più efficace l'analisi dei dati sui risultati degli antibiogrammi, questi sono stati classificati non solo per specie batterica o per animale da cui il campione è stato prelevato, ma anche per tipo di patologia (Tab. 3). Si è ritenuto infatti che questo dato potesse avere una maggiore utilità per il clinico. Sono state pertanto identificate le seguenti 8 categorie di patologie/sindromi in cui suddividere i germi isolati e sottoposti ad antibiogramma:

- infezione mammaria,
- sindrome enterica,
- sindrome respiratoria,
- sindrome neurologica,

- setticemia,
- infezioni dell'apparato uro-genitale,
- patologie dell'apparato tegumentario,
- patologie dell'apparato locomotore.

I germi in cui non era possibile definire la patologia non sono stati presi in considerazione dal momento che non era possibile correlarli ad alcuna sindrome specifica.

Tabella 3. Numero totale di antibiogrammi effettuati dall'IZSVe nel corso del biennio 2010-2011 sui ceppi batterici isolati nell'attività diagnostica di routine suddivisi per tipo di patologia

Sindrome	2010		2011	
	Frequenza	Percentuale	Frequenza	Percentuale
Infezione mammaria	3.445	50,8%	3.204	49,6%
Sindrome enterica	1.536	22,6%	1.366	21,2%
Sindromi respiratorie	747	11,0%	654	10,1%
Setticemia	475	7,0%	411	6,4%
Patologie dell'apparato tegumentario	314	4,6%	326	5,0%
Sepsi dell'apparato uro-genitale	248	3,7%	194	3,0%
Patologie dell'apparato locomotore	19	0,3%	294	4,6%
Sidrome nervosa	2	0,0%	8	0,1%
Totale	6.786	100,0%	6.457	100,0%

Un quadro più esaustivo della tipologia di antibiogrammi effettuati si ottiene associando i dati relativi alla specie animale con il tipo di patologia riscontrata (tabella 4).

Dalla tabella si evidenzia che circa la metà dei ceppi sottoposti ad antibiogramma sono stati isolati da campioni di bovini affetti da infezioni mammarie, mentre l'altra categoria patologica maggiormente rappresentata, la sindrome enterica, ha la sua massima frequenza nel coniglio, e le sindromi respiratorie si presentano in entrambe le specie.

Un aspetto che va sottolineato è la presenza di un numero elevato di campioni inviati senza indicazioni anamnestiche sul tipo di patologia soprattutto in alcune specie. Per quanto

riguarda i "pet", ad esempio, su 1.308 ceppi isolati nel biennio, il 40% non riportava indicazioni anamnestiche idonee a riferirli ad una specifica sindrome. Negli uccelli ornamentali circa il 70% degli antibiogrammi sono stati classificati fra quelli non attribuibili a specifiche sindromi, a causa della tipologia di campione conferito, solitamente costituito da tamponi cloacali o fecali, utilizzati nella pratica clinica come controlli o monitoraggio del gruppo di uccelli.

Per le altre specie il numero di isolamenti è risultato molto più contenuto e distribuito tra le differenti sindromi.

Tabella 4. Numero totale di antibiogrammi effettuati dall'IZSVe nel corso del biennio 2010-2011 sui ceppi batterici isolati nell'attività diagnostica di routine suddivisi associando la specie animale e il tipo di patologia

2010		SPECIE											
		Bovino	Coniglio	Cane - gatto	Volatili d'allevamento	Uccelli ornamentali	Cavallo	Suino	Uccelli - altro	Lepre	Capra	Altro specie	Totale
SINDROME	Infezione mammaria	3.353	84	2	0	0	0	0	0	1	1	4	3.445
	Sindrome enterica	263	808	85	145	56	16	56	11	13	16	67	1.536
	Terapia	136	144	214	30	265	70	18	35	5	1	75	993
	Sindromi respiratorie	248	270	41	65	14	16	37	2	17	10	27	747
	Setticemia	69	49	39	161	49	18	24	13	3	3	47	475
	Patologie dell'apparato tegumentario	9	112	165	3	1	10	1	0	3	0	10	314
	Infezione dell'apparato uro-genitale	26	31	34	9	0	142	1	0	0	0	5	248
	Patologie dell'apparato locomotore	1	6	2	9	0	0	1	0	0	0	0	19
	Sindrome neurologica	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Totale	4.105	1.504	584	422	385	272	138	61	42	31	235	7.779	

2011		SPECIE											
		bovino	coniglio	cane - gatto	volatili d'allevamento	uccelli ornamentali	cavallo	suino	uccelli - altro	lepre	capra	altro specie	totale
SINDROME	Infezione mammaria	3.098	88	5	0	1	1	1	0	0	10	0	3.204
	Sindrome enterica	318	768	73	53	32	7	25	17	7	16	50	1.366
	Terapia	39	151	307	23	270	60	10	51	1	6	78	996
	Sindromi respiratorie	178	267	52	39	8	11	73	1	0	5	20	654
	Setticemia	78	52	39	140	32	2	13	8	0	9	38	411
	Patologie dell'apparato tegumentario	12	139	153	7	3	8	0	0	0	1	3	326
	Patologie dell'apparato locomotore	66	25	25	73	25	3	34	2	6	1	34	294
	Sepsi dell'apparato uro-genitale	13	27	69	4	0	81	0	0	0	0	0	194
	Sidrome nervosa	0	0	1	0	5	0	2	0	0	0	0	8
	Totale	3.802	1.517	724	339	376	173	158	79	14	48	223	7.453

Bovini

Infezioni mammarie

Staphylococcus aureus

In tabella 5 è rappresentata la percentuale di ceppi di *Staphylococcus aureus* isolati da bovine in corso di infezioni mammarie, che sono risultati resistenti (R), intermedi (I) e sensibili (S) agli antimicrobici testati. Il numero di ceppi sottoposti ad antibiogramma è di 941 isolati nel 2010 e 771 nel 2011, per gli antibiotici di uso comune, mentre per alcuni antibiotici impiegati in modo più selettivo il numero di ceppi testati è inferiore, come ad esempio la cefalosporina di IV generazione, per la quale sono stati testati solo 300 isolati nel 2010 e 293 nel 2011.

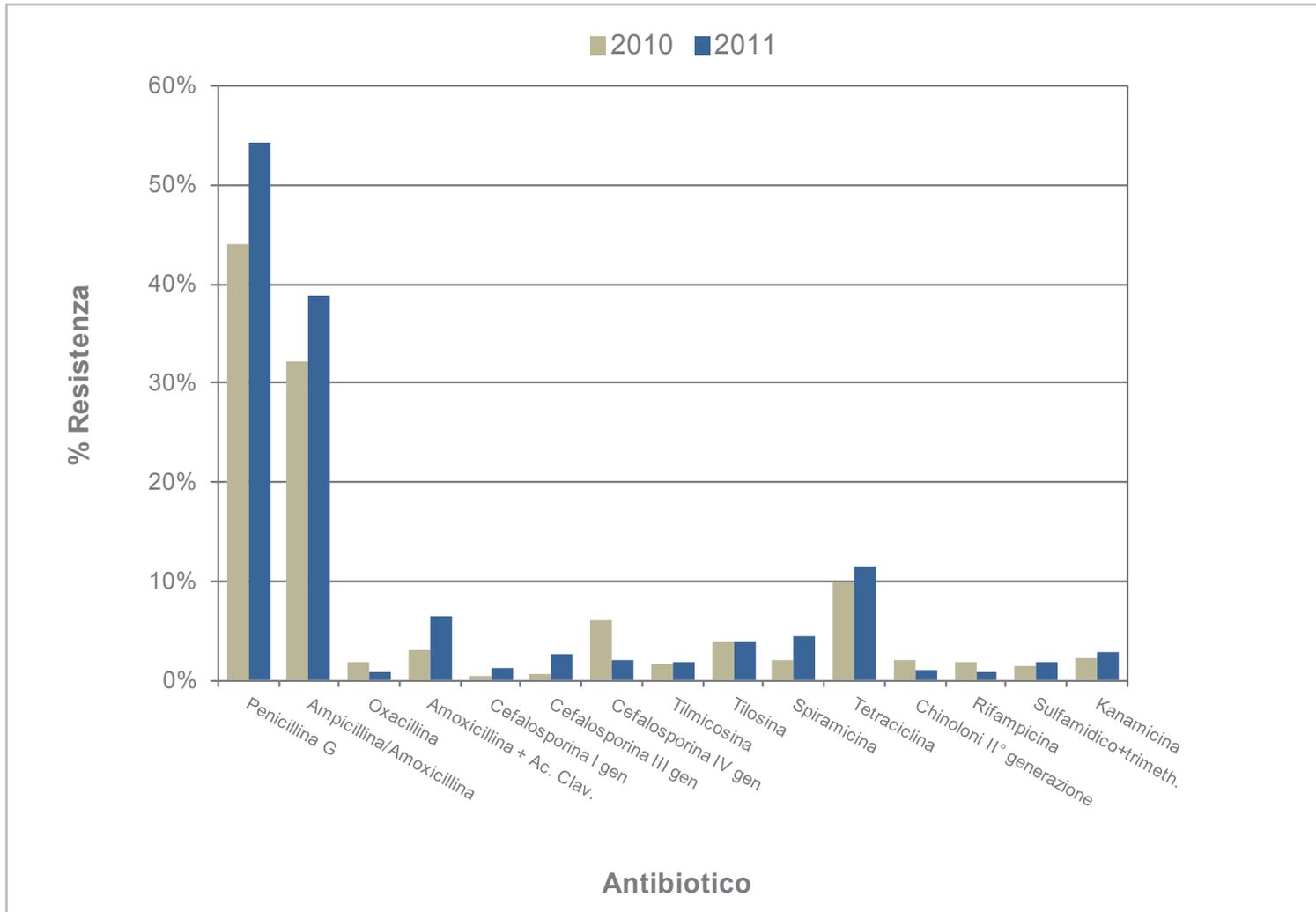
Le maggiori percentuali di resistenza (grafico 1) sono state riscontrate nei confronti della penicillina, dell'ampicillina e delle tetracicline. Per quanto concerne la penicillina è importante notare che precedenti indagini condotte negli anni 90 avevano evidenziato una percentuale di ceppi resistenti attorno al 50%, per cui il livello di resistenza a questo antibiotico sembra essersi mantenuto costante nel corso degli ultimi 10-15 anni.

La percentuale di ceppi resistenti alle penicilline antistafilococciche e a quelle potenziate con l'acido clavulanico è stata invece molto bassa; un analogo risultato si è avuto per le cefalosporine, indifferentemente dal tipo (I, III o IV generazione). Va considerata invece con attenzione la presenza di una piccola percentuale di ceppi che risultano resistenti all'oxacillina, in quanto questo antibiotico ha la funzione di "marker" per individuare i ceppi meticillino-resistenti, che possiedono una resistenza crociata ai betalattamici e alle cefalosporine. La presenza di ceppi di *S. aureus* meticillino-resistenti (MRSA) è stata segnalata recentemente nei bovini da latte in Olanda e l'eventuale diffusione di questi ceppi resistenti all'uomo desta forte preoccupazione in campo sanitario. Sarà quindi importante nel futuro effettuare sui ceppi resistenti all'oxacillina i test di biologia molecolare idonei a evidenziare l'effettiva presenza dei geni che codificano per la meticillino-resistenza, onde poter dare una più precisa valutazione del fenomeno.

Tabella 5. Risultati delle prove di sensibilità agli antimicrobici effettuate su ceppi di *S. aureus* isolati da casi di mastite bovina

Antibiotico	2010					2011				
	R	I	S	Totale	%R	R	I	S	Totale	%R
Penicillina G	414	1	526	941	44,0%	418	0	353	771	54,2%
Ampicillina/Amoxicillina	302	0	639	941	32,1%	299	0	472	771	38,8%
Oxacillina	17	4	919	940	1,8%	7	8	756	771	0,9%
Amoxicillina + Ac. Clav.	29	1	911	941	3,1%	50	0	721	771	6,5%
Cefalosporina I gen	5	1	935	941	0,5%	10	7	754	771	1,3%
Cefalosporina III gen	7	42	890	939	0,7%	20	70	681	771	2,6%
Cefalosporina IV gen	18	1	281	300	6,0%	6	8	279	293	2,0%
Tilmicosina	12	2	718	732	1,6%	13	18	675	706	1,8%
Tilosina	29	10	696	735	3,9%	30	24	717	771	3,9%
Spiramicina	20	216	705	941	2,1%	34	177	560	771	4,4%
Tetraciclina	93	6	841	940	9,9%	89	10	672	771	11,5%
Chinoloni II generazione	19	57	865	941	2,0%	8	53	705	766	1,0%
Rifampicina	17	11	913	941	1,8%	7	7	757	771	0,9%
Sulfamidico+trimeth.	14	15	912	941	1,5%	14	8	749	771	1,8%
Kanamicina	21	37	880	938	2,2%	22	65	684	771	2,9%

Grafico 1. Percentuale di ceppi di *S. aureus* resistenti ai principali antibiotici testati su ceppi isolati da casi di mastite bovina



Enterococcus spp

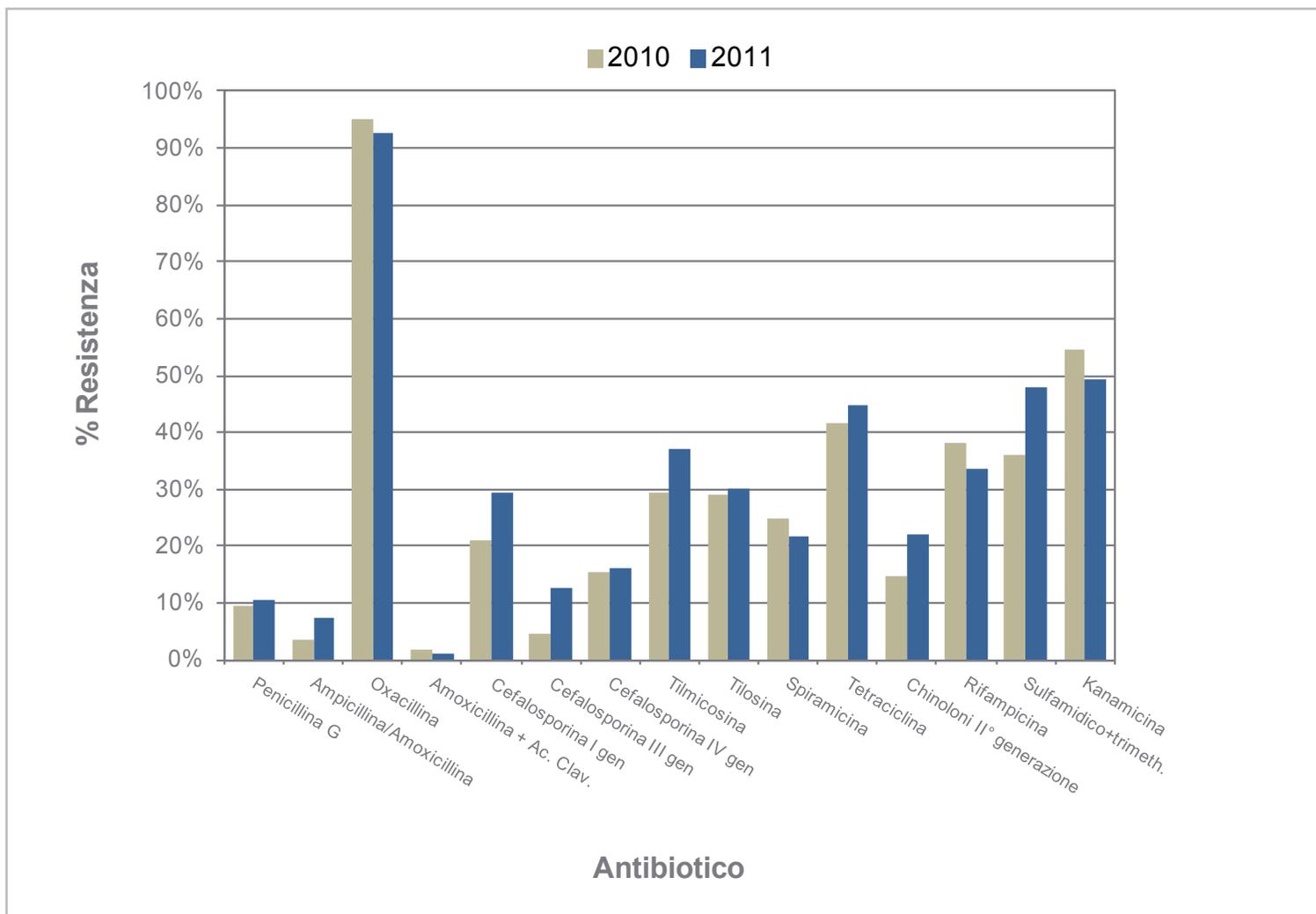
In tabella 6 e grafico 2 è rappresentata la percentuale di ceppi di *Enterococcus* spp. isolati da bovine in corso di infezioni mammarie, che sono risultati resistenti (R), intermedi (I) e sensibili (S) agli antimicrobici testati. Il numero di ceppi sottoposti ad antibiogramma è di 224 isolati nel 2010 e 217 nel 2011, per gli antibiotici impiegati più comunemente, eccezion fatta per alcuni antibiotici, come ad esempio la cefalosporina di IV generazione e la tilmicosina per i quali sono stati testati un numero inferiore di ceppi.

I livelli di resistenza più elevata sono stati riscontrati nei confronti di tetraciclina, aminoglicosidi, mentre bassi livelli di resistenza sono stati osservati nei confronti di ampicillina, amoxicillina + ac. clavulanico e cefalosporine di III generazione. Le penicilline antistafilococciche (oxacillina) erano incluse nel pannello per motivi pratici, ma, come noto, la loro efficacia nei confronti degli enterococchi è praticamente nulla. Si rammenta, ovviamente, che l'oxacillina funge da marker della meticillino-resistenza solo per *S. aureus* e *S. intermedius*.

Tabella 6. Risultati delle prove di sensibilità agli antimicrobici effettuate su ceppi di *Enterococcus* spp. isolati da casi di mastite bovina

Antibiotico	2010					2011				
	R	I	S	Totale	%R	R	I	S	Totale	%R
Penicillina G	21	0	203	224	9,4%	23	0	194	217	10,6%
Ampicillina/Amoxicillina	8	0	216	224	3,6%	16	1	200	217	7,4%
Oxacillina	213	0	11	224	95,1%	201	0	16	217	92,6%
Amoxicillina + Ac. Clav.	4	2	218	224	1,8%	2	7	208	217	0,9%
Cefalosporina I gen	47	48	129	224	21,0%	64	20	133	217	29,5%
Cefalosporina III gen	10	63	150	223	4,5%	27	49	141	217	12,4%
Cefalosporina IV gen	19	1	103	123	15,4%	18	12	83	113	15,9%
Tilmicosina	52	32	93	177	29,4%	76	29	101	206	36,9%
Tilosina	56	11	127	194	28,9%	65	4	147	216	30,1%
Spiramicina	56	39	129	224	25,0%	47	31	139	217	21,7%
Tetraciclina	93	26	104	223	41,7%	97	36	84	217	44,7%
Chinoloni II generazione	33	146	45	224	14,7%	48	132	37	217	22,1%
Rifampicina	85	29	109	223	38,1%	73	24	120	217	33,6%
Sulfamidico+trimeth.	81	37	106	224	36,2%	104	12	101	217	47,9%
Kanamicina	118	36	62	216	54,6%	107	54	56	217	49,3%

Grafico 2. Percentuale di ceppi di *Enterococcus* spp. resistenti ai principali antibiotici testati su ceppi isolati da casi di mastite bovina



Streptococcus uberis

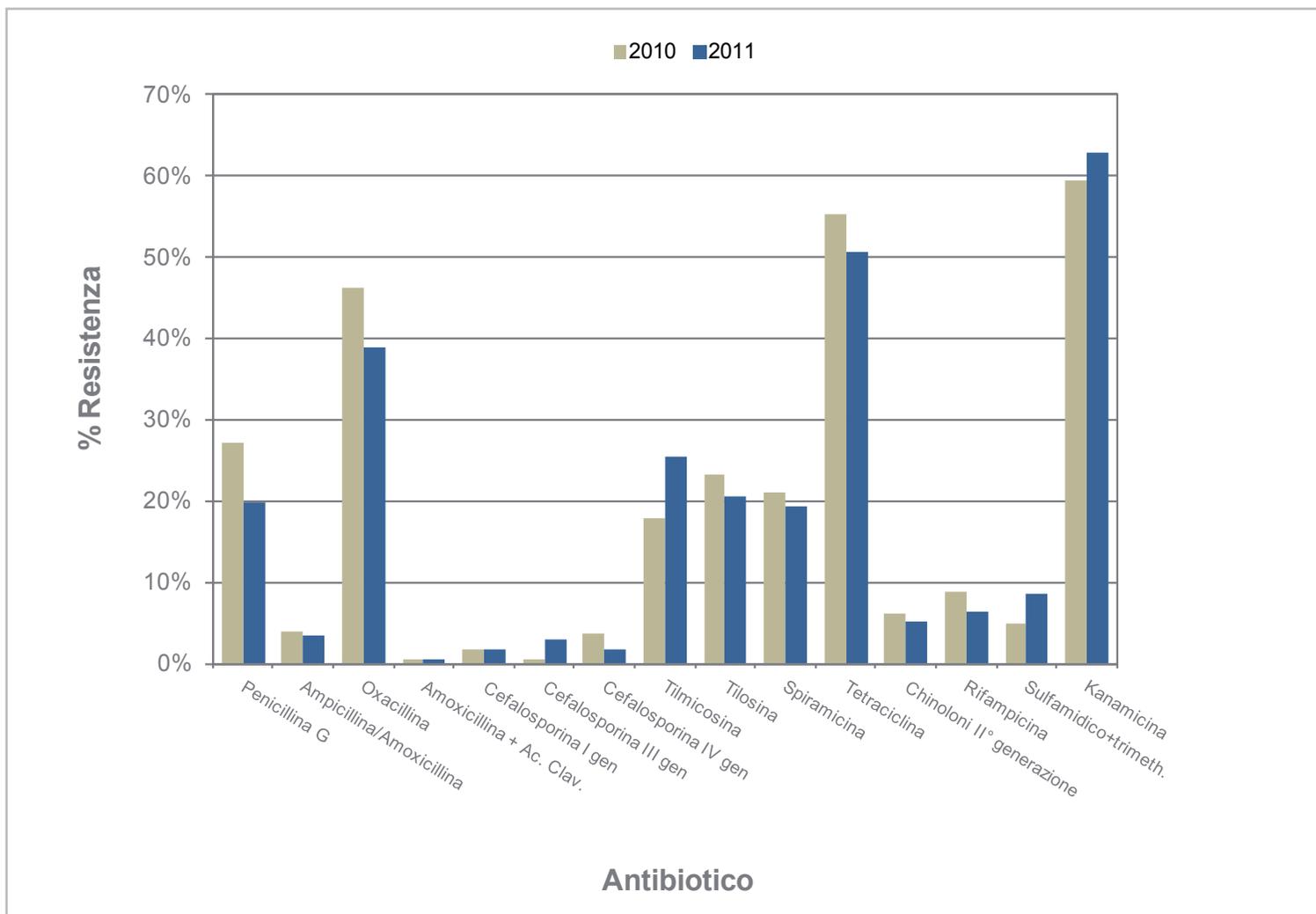
In tabella 7 è rappresentato il quadro della sensibilità ai diversi antibiotici testati da parte dei ceppi di *Streptococcus uberis*, che oggi è il patogeno ambientale più problematico nel campo delle mastiti bovine. Come si evince dalla tabella i farmaci più efficaci "in vitro", quindi con meno fenomeni di resistenza, per il controllo di quest'infezione sono risultati

l'ampicillina, l'amoxicillina potenziata con acido clavulanico e le cefalosporine. Anche i macrolidi hanno dimostrato un livello di efficacia accettabile. A dispetto della ampia scelta di antibiotici con elevata sensibilità "in vitro", va sottolineato come lo *S. uberis* manifesti "in vivo" una notevole refrattarietà ai trattamenti e una forte tendenza a dare cronicizzazione in una elevata percentuale di casi.

Tabella 7. Risultati delle prove di sensibilità agli antimicrobici effettuate su ceppi di *Streptococcus uberis* isolati da casi di mastite bovina

Antibiotico	2010					2011				
	R	I	S	Totale	%R	R	I	S	Totale	%R
Penicillina G	186	2	499	687	27,1%	119	0	484	603	19,7%
Ampicillina/Amoxicillina	27	217	444	688	3,9%	21	161	420	602	3,5%
Oxacillina	318	2	367	687	46,3%	235	1	366	602	39,0%
Amoxicillina + Ac. Clav.	3	7	678	688	0,4%	3	2	597	602	0,5%
Cefalosporina I gen	12	9	667	688	1,7%	11	8	584	603	1,8%
Cefalosporina III gen	4	21	661	686	0,6%	18	17	567	602	3,0%
Cefalosporina IV gen	15	1	389	405	3,7%	6	3	368	377	1,6%
Tilmicosina	94	107	322	523	18,0%	134	117	273	524	25,6%
Tilosina	141	20	443	604	23,3%	124	21	455	600	20,7%
Spiramicina	145	129	414	688	21,1%	116	71	416	603	19,2%
Tetraciclina	380	71	235	686	55,4%	305	63	233	601	50,7%
Chinoloni II generazione	42	397	248	687	6,1%	31	345	223	599	5,2%
Rifampicina	61	52	573	686	8,9%	38	12	553	603	6,3%
Sulfamidico+trimeth.	33	140	513	686	4,8%	51	53	499	603	8,5%
Kanamicina	405	143	132	680	59,6%	379	118	106	603	62,9%

Grafico 3. Percentuale di ceppi di *Streptococcus uberis* resistenti ai principali antibiotici testati su ceppi isolati da casi di mastite bovina



Escherichia coli

Nella tabella 8 e nel grafico 4 è rappresentata la percentuale di ceppi di *Escherichia coli* isolati da bovino in corso di infezioni mammarie che sono risultati resistenti (R), intermedi (I) e sensibili (S) agli antimicrobici testati.

Il numero di ceppi sottoposti ad antibiogramma varia per i diversi antibiotici inclusi nel pannello fra 235 isolati nel 2010 e 216 nel 2011, per gli antibiotici di uso più comune, e fra 132 e 126 ceppi per quanto riguarda le cefalosporine di IV generazione.

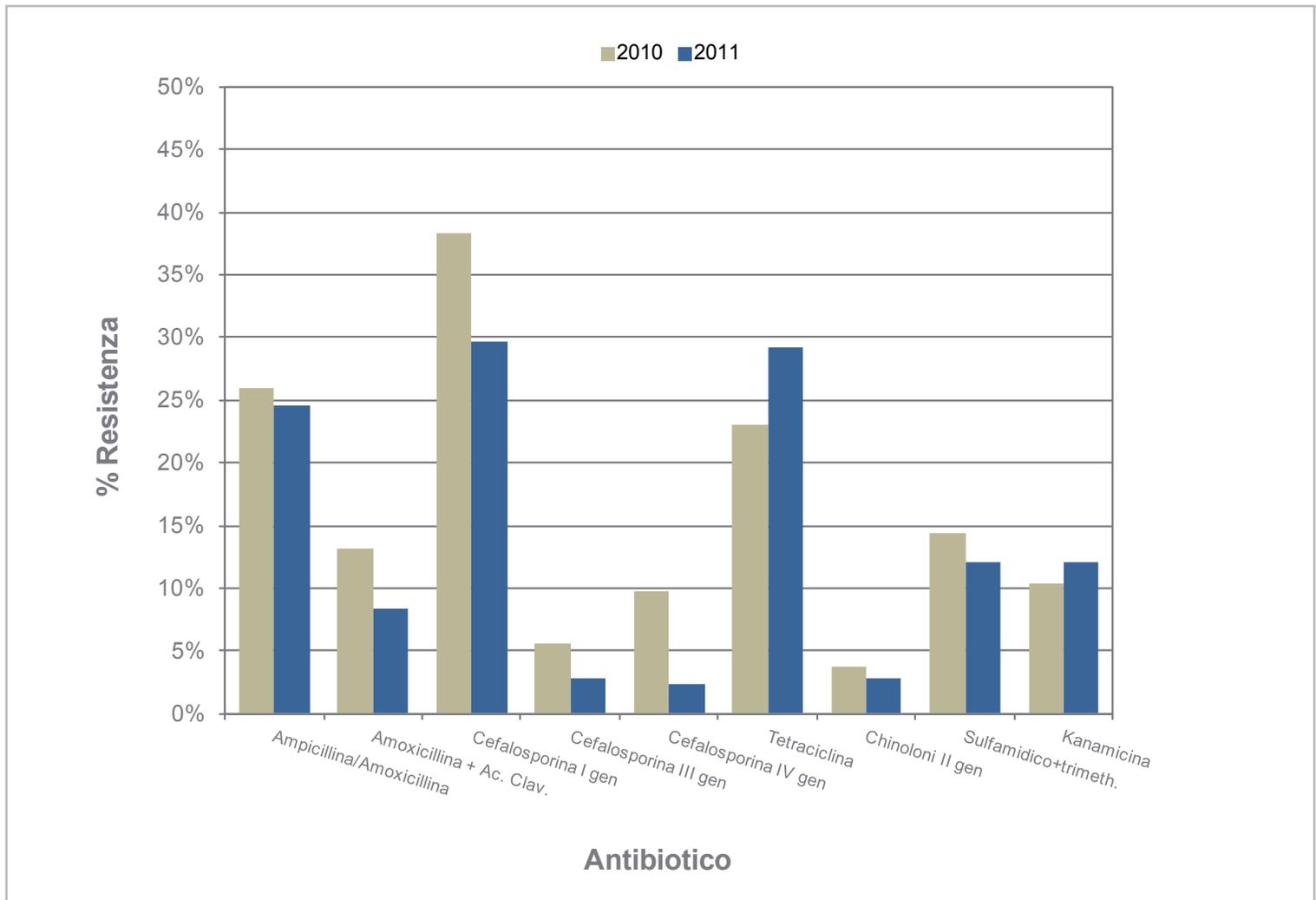
Le resistenze maggiori sono state registrate nei confronti, delle cefalosporine di I generazione)

e delle tetracicline, mentre alcuni antibiotici, ancorché abbastanza datati, come i sulfamidici + trimethoprim e la kanamicina, evidenziano ancora livelli di efficacia abbastanza buoni. Da sottolineare inoltre il bassissimo numero di ceppi resistenti ai chinoloni di II generazione (solo 15 ceppi in due anni), a dimostrazione del fatto che l'impiego di questo farmaco nelle vacche da latte è eseguito in modo appropriato, a differenza di quanto avviene per altre specie animali, o, come evidenziato successivamente, nella terapia dei vitelli.

Tabella 8. Risultati delle prove di sensibilità agli antimicrobici effettuate su ceppi di *E. coli* isolati da casi di mastite bovina

Antibiotico	2010					2011				
	R	I	S	Totale	%R	R	I	S	Totale	%R
Ampicillina/Amoxicillina	61	44	130	235	26,0%	53	32	131	216	24,5%
Amoxicillina + Ac. Clav.	31	65	139	235	13,2%	18	35	163	216	8,3%
Cefalosporina I gen	90	98	47	235	38,3%	64	103	49	216	29,6%
Cefalosporina III gen	13	6	216	235	5,5%	6	14	196	216	2,8%
Cefalosporina IV gen	13	0	119	132	9,8%	3	2	121	126	2,4%
Tetraciclina	53	9	168	230	23,0%	63	26	127	216	29,2%
Chinoloni II gen	9	12	214	235	3,8%	6	26	183	215	2,8%
Sulfamidico+trimeth.	34	8	193	235	14,5%	26	3	187	216	12,0%
Kanamicina	24	38	169	231	10,4%	26	24	166	216	12,0%

Grafico 4. Percentuale di ceppi di E. coli resistenti ai principali antibiotici testati su ceppi isolati da casi di mastite bovina



Bovini

Infezioni enteriche

Escherichia coli

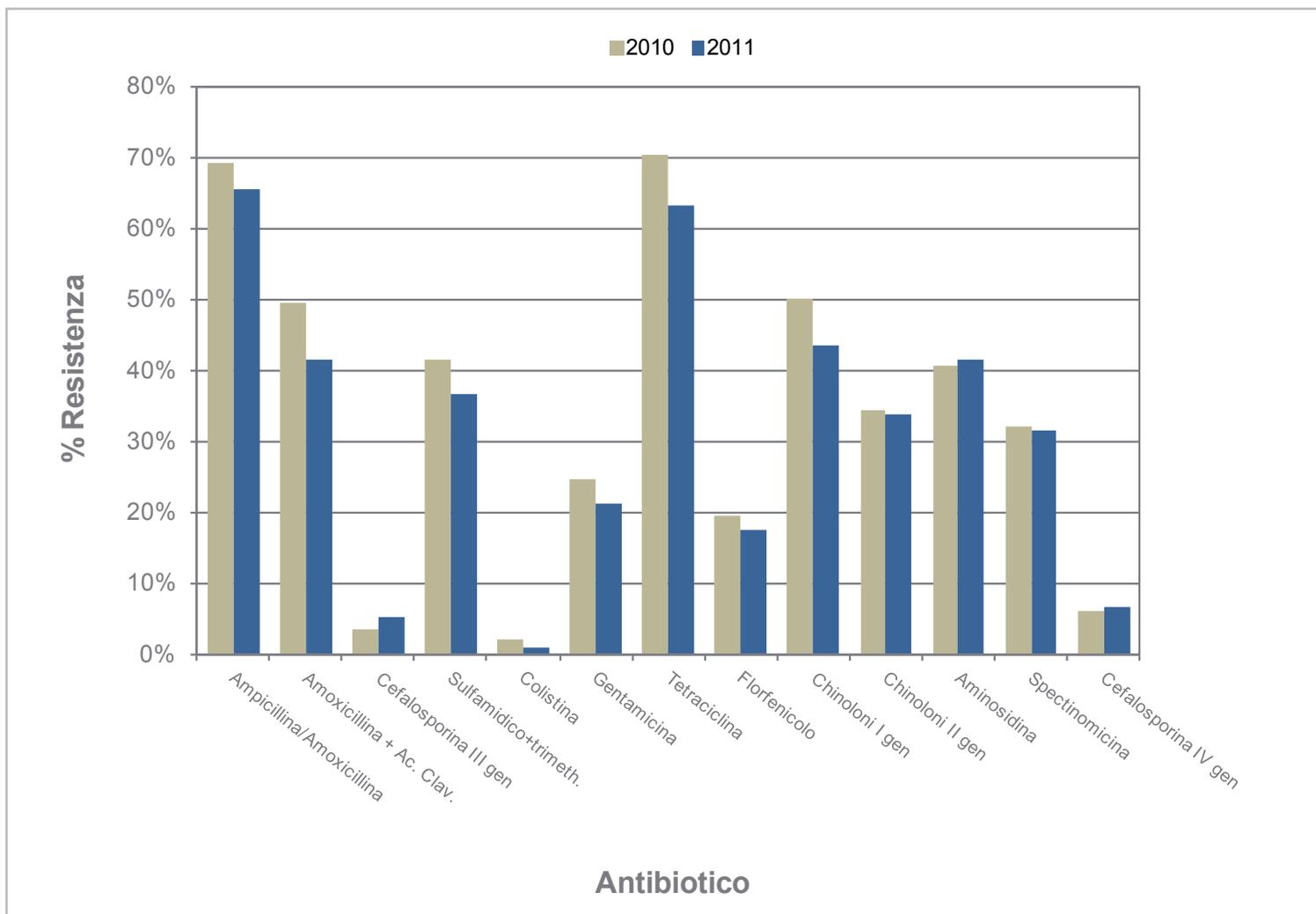
Nella tabella 9 e nel grafico 5 è rappresentata la percentuale di ceppi di *Escherichia coli* isolati da bovino in corso di infezioni enteriche che sono risultati resistenti (R), intermedi (I) e sensibili (S) agli antimicrobici testati. A differenza di quanto evidenziato nei ceppi di *E. coli* isolati da casi di mastite, è stato riscontrato un livello di resistenza molto elevato verso la maggior parte delle molecole testate. I livelli di resistenza riscontrati risultano particolarmente elevati per tetraciclina, penicilline, chinoloni di I e II generazione, aminoglicosidi (in particolare amminosidina) sulfamidici + trimethoprim.

In particolare è sicuramente preoccupante il numero di ceppi che hanno dimostrato resistenza nei confronti dei chinoloni, e questo dato andrà sicuramente approfondito con l'impiego di test che consentano di confermare la presenza di geni di resistenza in quei ceppi batterici che evidenziano *in vitro* resistenze specifiche a questi farmaci. Confrontando questo dato con quello evidenziato nei ceppi isolati da casi di mastite, si può presumere che vi sia un eccessivo impiego di questi farmaci nel trattamento dei vitelli, che, essendo ancora monogastrici, tollerano bene la terapia per os.

Tabella 9. Risultati delle prove di sensibilità agli antimicrobici effettuate su ceppi di *E. coli* isolati da casi di enterite dei bovini

Antibiotico	2010					2011				
	R	I	S	Totale	%R	R	I	S	Totale	%R
Ampicillina/Amoxicillina	159	26	45	230	69,1%	198	26	78	302	65,6%
Amoxicillina + Ac. Clav.	114	54	62	230	49,6%	125	44	133	302	41,4%
Cefalosporina III gen	8	3	219	230	3,5%	16	3	282	301	5,3%
Sulfamidico+trimeth.	95	3	131	229	41,5%	111	4	187	302	36,8%
Colistina	5	13	212	230	2,2%	3	25	274	302	1,0%
Gentamicina	57	9	164	230	24,8%	64	7	231	302	21,2%
Tetraciclina	162	4	64	230	70,4%	191	3	108	302	63,2%
Florfenicolo	45	6	179	230	19,6%	51	9	229	289	17,6%
Chinoloni I gen	115	3	112	230	50,0%	131	4	165	300	43,7%
Chinoloni II gen	79	28	123	230	34,3%	102	22	178	302	33,8%
Aminosidina	93	0	136	229	40,6%	123	0	173	296	41,6%
Spectinomicina	74	24	132	230	32,2%	95	18	189	302	31,5%
Cefalosporina IV gen	11	3	163	177	6,2%	20	7	271	298	6,7%

Grafico 5. Percentuale di ceppi di *E. coli* resistenti ai principali antibiotici testati su ceppi isolati da casi di enterite dei bovini



Bovini

infezioni dell'apparato respiratorio

Pasteurella multocida e *Mannheimia haemolytica*

Nella tabella 10 sono rappresentate rispettivamente la percentuale di ceppi di *Pasteurella multocida* e di *Mannheimia haemolytica* isolati da bovino in corso di infezioni respiratorie, risultati resistenti (R), intermedi (I) e sensibili (S) agli antimicrobici testati. I livelli di resistenza verso questi patogeni sono abbastanza simili e generalmente

inferiori rispetto a quelli riscontrati per altri microrganismi. I maggiori livelli di resistenza sono stati rilevati (grafico 6 e 7) nei confronti di alcuni aminoglicosidi (amminosidina), delle tetracicline, dei chinoloni di I generazione. Tutti gli altri antibiotici testati hanno evidenziato un buon livello di efficacia *in vitro*.

Tabella 10. Confronto fra i risultati delle prove di sensibilità agli antimicrobici effettuate su ceppi di *Pasteurella multocida* e *Mannheimia haemolytica* isolati da casi d'infezione dell'apparato respiratorio dei bovini

PASTEURELLA MULTOCIDA	2010					2011				
	R	I	S	Totale	%R	R	I	S	Totale	%R
Ampicillina/Amoxicillina	1	2	94	97	1,0%	3	5	51	59	5,1%
Amoxicillina + Ac. Clav.	1	0	96	97	1,0%	1	2	56	59	1,7%
Cefalosporina III gen	1	2	91	94	1,1%	3	1	55	59	5,1%
Sulfamidico+trimeth.	8	1	88	97	8,2%	6	6	47	59	10,2%
Colistina	1	2	94	97	1,0%	0	2	57	59	0,0%
Gentamicina	12	7	78	97	12,4%	11	3	45	59	18,6%
Tilmicosina	5	5	83	93	5,4%	8	9	42	59	13,6%
Tetraciclina	21	12	64	97	21,6%	16	3	40	59	27,1%
Florfenicolo	2	1	91	94	2,1%	8	0	50	58	13,8%
Chinoloni I gen	12	7	76	95	12,6%	7	4	48	59	11,9%
Chinoloni II gen	4	2	91	97	4,1%	5	3	51	59	8,5%
Aminosidina	27	2	66	95	28,4%	14	0	44	58	24,1%
Spectinomina	14	16	67	97	14,4%	20	14	25	59	33,9%
Cefalosporina IV gen	5	1	36	42	11,9%	4	1	52	57	7,0%

MANNHEIMIA HAEMOLYTICA	2010					2011				
Antibiotico	R	I	S	Totale	%R	R	I	S	Totale	%R
Ampicillina/Amoxicillina	9	4	117	130	6,9%	7	0	44	51	13,7%
Amoxicillina + Ac. Clav.	1	1	128	130	0,8%	1	0	50	51	2,0%
Cefalosporina III gen	1	2	124	127	0,8%	0	1	50	51	0,0%
Sulfamidico+trimeth.	12	3	115	130	9,2%	14	4	33	51	27,5%
Colistina	3	3	124	130	2,3%	0	0	51	51	0,0%
Gentamicina	20	10	100	130	15,4%	18	2	31	51	35,3%
Tilmicosina	8	10	105	123	6,5%	2	13	33	48	4,2%
Tetraciclina	32	13	85	130	24,6%	13	2	35	50	26,0%
Florfenicolo	2	1	124	127	1,6%	2	0	48	50	4,0%
Chinoloni I gen	29	10	89	128	22,7%	19	1	31	51	37,3%
Chinoloni II gen	9	6	115	130	6,9%	3	6	42	51	5,9%
Aminosidina	34	5	88	127	26,8%	15	0	36	51	29,4%
Spectinomicina	18	23	89	130	13,8%	6	18	27	51	11,8%
Cefalosporina IV gen	5	1	47	53	9,4%	1	2	48	51	2,0%

Grafico 6. Percentuale di ceppi di *Pasteurella multocida* resistenti ai principali antibiotici testati su ceppi isolati da casi di infezione dell'apparato respiratorio dei bovini

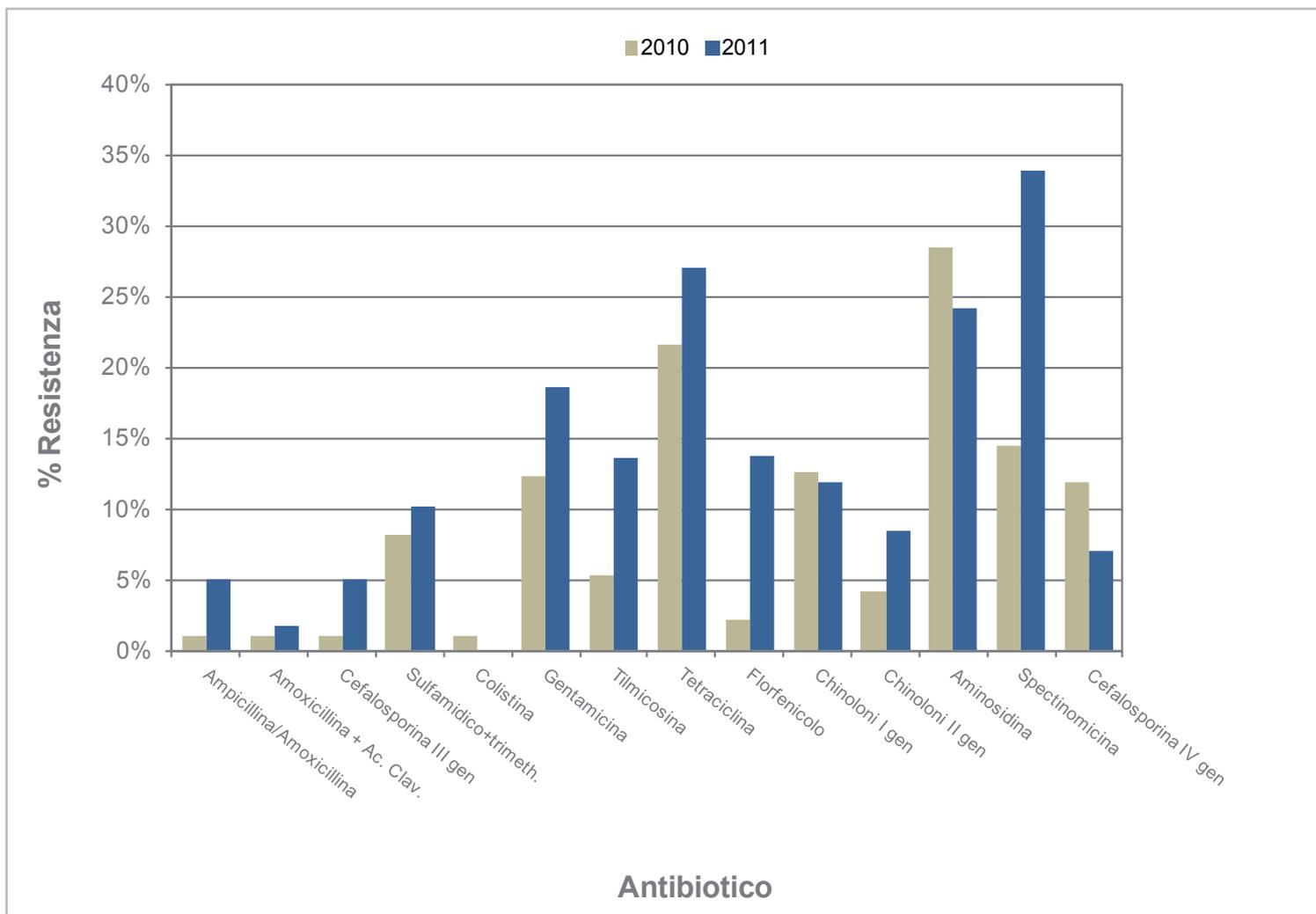
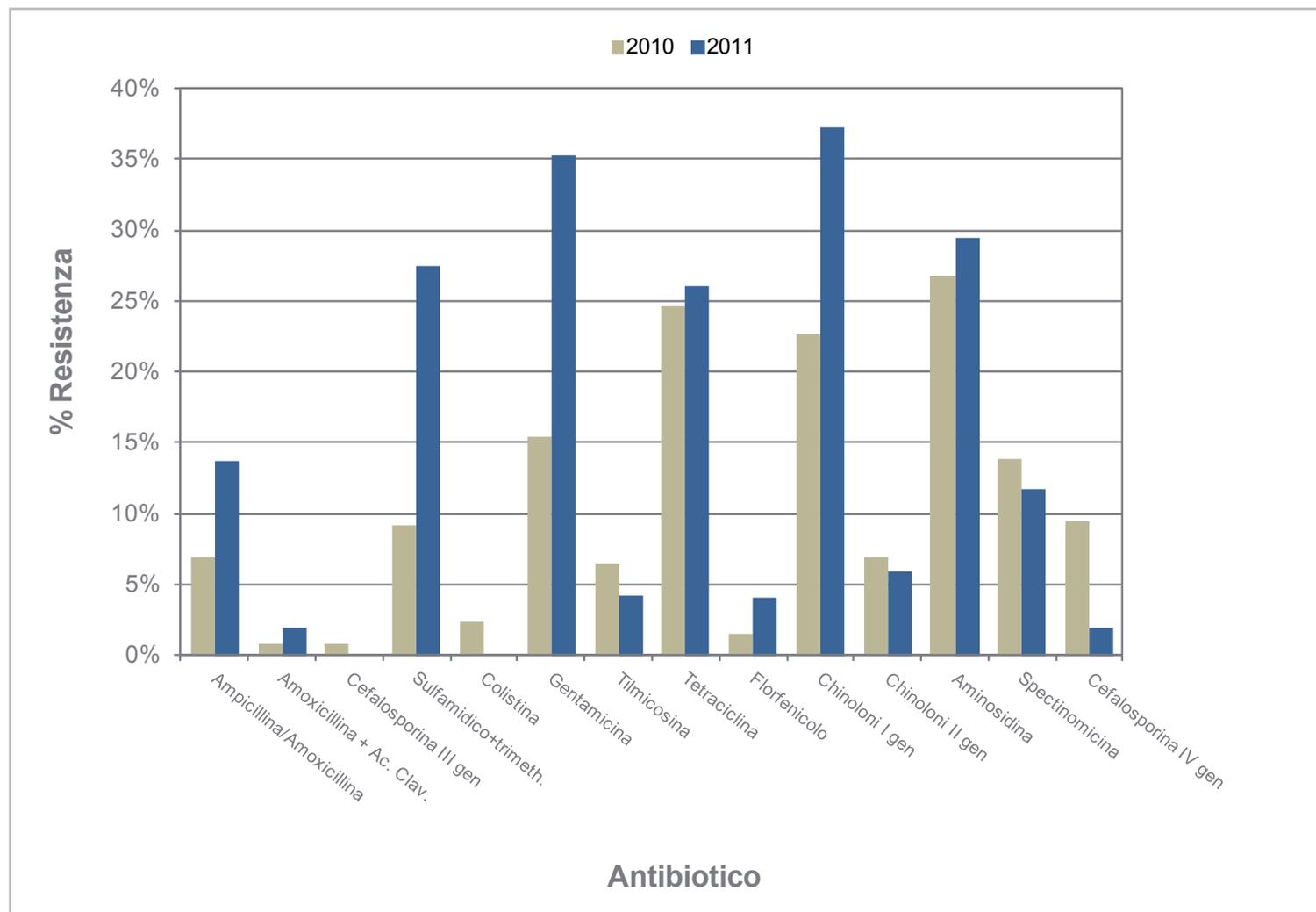


Grafico 7. Percentuale di ceppi di *Mannheimia haemolytica* resistenti ai principali antibiotici testati su ceppi isolati da casi di infezione dell'apparato respiratorio dei bovini



Conigli

Infezioni dell'apparato tegumentario e della mammella

Staphylococcus aureus

Nella tabella 11 e nei grafici 8 e 9 è rappresentata la percentuale di ceppi di *Staphylococcus aureus* isolati dal coniglio in corso di infezioni rispettivamente dell'apparato tegumentario e della mammella che sono risultati resistenti (R), intermedi (I) e sensibili (S) agli antimicrobici testati.

I maggiori livelli di resistenza evidenziati nei ceppi isolati da cute e da mammella sono stati riscontrati verso tetraciclina, macrolidi,

sulfamidici + trimethoprim e le penicilline. L'inserimento dei betalattamici nel pannello antibiogramma dedicato al coniglio aveva solo la funzione di verificare la presenza di eventuali resistenze in una specie animale nella quale non vengono comunemente impiegati poiché considerati tossici. Sotto questo aspetto è interessante osservare i numerosi ceppi resistenti ad ampicillina e penicillina nelle infezioni dell'apparato tegumentario.

Tabella 11. Risultati delle prove di sensibilità agli antimicrobici effettuate su ceppi di *Staphylococcus aureus* isolati nel coniglio in corso di infezioni rispettivamente dell'apparato tegumentario e della mammella

ISO. APP. TEGUMENTARIO	2010					2011				
	R	I	S	Totale	%R	R	I	S	Totale	%R
Penicillina	26	0	53	79	32,9%	22	0	66	88	25,0%
Ampicillina/Amoxicillina	20	0	59	79	25,3%	23	0	65	88	26,1%
Oxacillina	1	0	77	78	1,3%	2	3	83	88	2,3%
Amoxicillina + Ac. Clav.	6	0	73	79	7,6%	2	0	86	88	2,3%
Cefalosporina I gen	1	0	78	79	1,3%	2	0	86	88	2,3%
Cefalosporina IV gen	0	0	62	62	0,0%	4	8	75	87	4,6%
Eritromicina	51	6	22	79	64,6%	54	5	29	88	61,4%
Tilmicosina	41	3	28	72	56,9%	44	1	25	70	62,9%
Tilosina	46	0	32	78	59,0%	55	4	29	88	62,5%
Spiramicina	47	22	10	79	59,5%	59	13	16	88	67,0%
Clindamicina	47	3	29	79	59,5%	55	7	26	88	62,5%
Tetraciclina	73	0	6	79	92,4%	82	1	5	88	93,2%
Chinoloni II gen	4	23	52	79	5,1%	14	48	26	88	15,9%
Sulfamidico+trimeth.	33	6	40	79	41,8%	18	6	64	88	20,5%
Tiamulina	1	0	78	79	1,3%	4	0	74	78	5,1%

<i>ISO. DA MAMMELLA</i>	2010					2011				
Antibiotico	R	I	S	Totale	%R	R	I	S	Totale	%R
Penicillina	6	0	53	59	10,2%	12	0	46	58	20,7%
Ampicillina/Amoxicillina	6	0	53	59	10,2%	6	0	52	58	10,3%
Oxacillina	0	0	59	59	0,0%	1	1	56	58	1,7%
Amoxicillina + Ac. Clav.	0	0	59	59	0,0%	2	0	56	58	3,4%
Cefalosporina I gen	0	1	58	59	0,0%	0	0	58	58	0,0%
Cefalosporina IV gen	1	1	44	46	2,2%	0	7	51	58	0,0%
Eritromicina	38	4	17	59	64,4%	39	7	12	58	67,2%
Tilmicosina	34	2	18	54	63,0%	33	3	11	47	70,2%
Tilosina	37	1	21	59	62,7%	40	5	13	58	69,0%
Spiramicina	37	16	6	59	62,7%	42	9	7	58	72,4%
Clindamicina	38	4	17	59	64,4%	41	2	15	58	70,7%
Tetraciclina	49	0	10	59	83,1%	48	4	6	58	82,8%
Chinoloni II gen	4	15	40	59	6,8%	8	31	19	58	13,8%
Sulfamidico+trimeth.	19	4	36	59	32,2%	13	4	41	58	22,4%
Tiamulina	2	0	56	58	3,4%	3	0	54	57	5,3%

Grafico 8. Percentuale di ceppi di *Staphylococcus aureus* resistenti ai principali antibiotici testati su ceppi isolati da casi di infezioni dell'apparato tegumentario nel coniglio

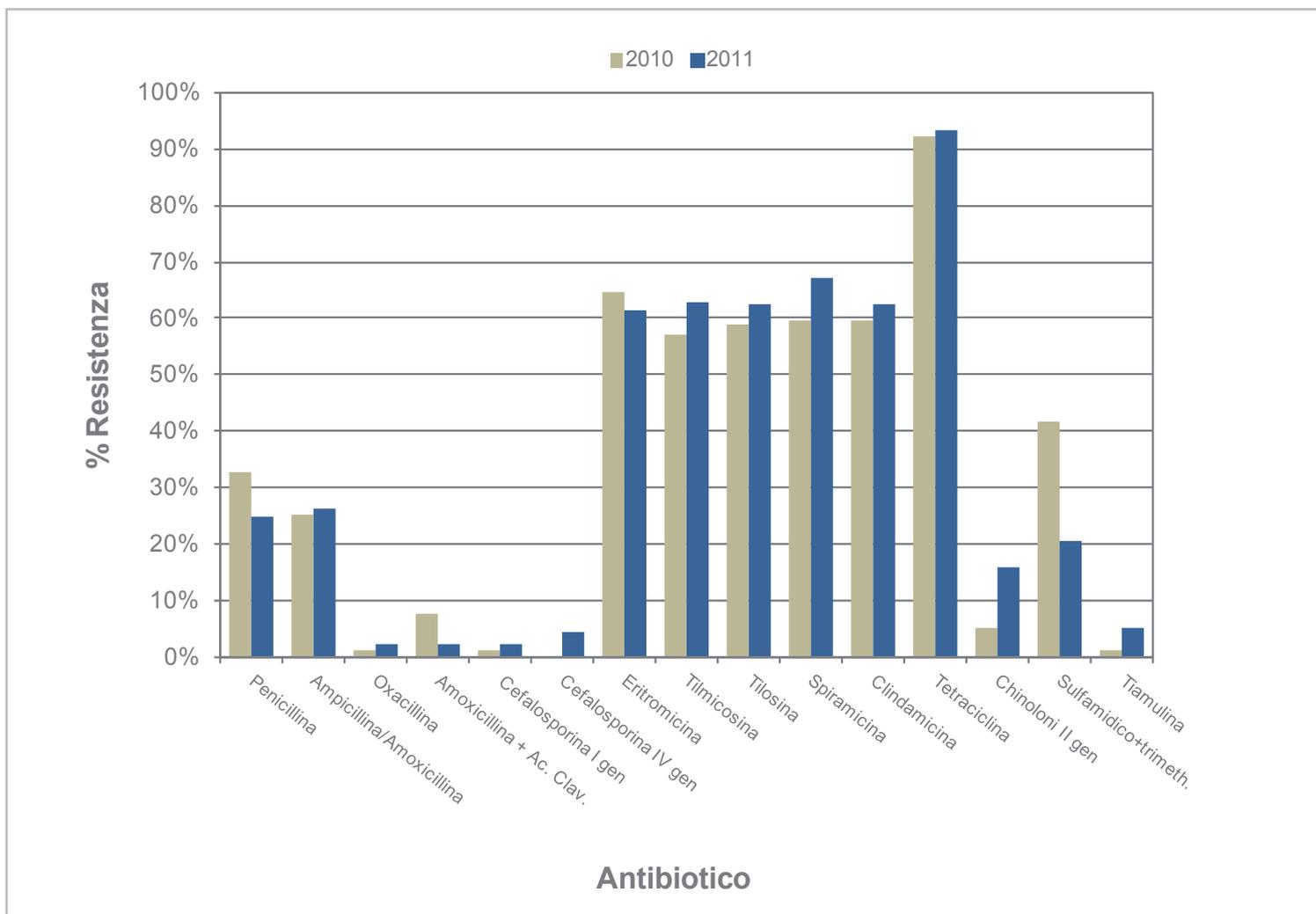
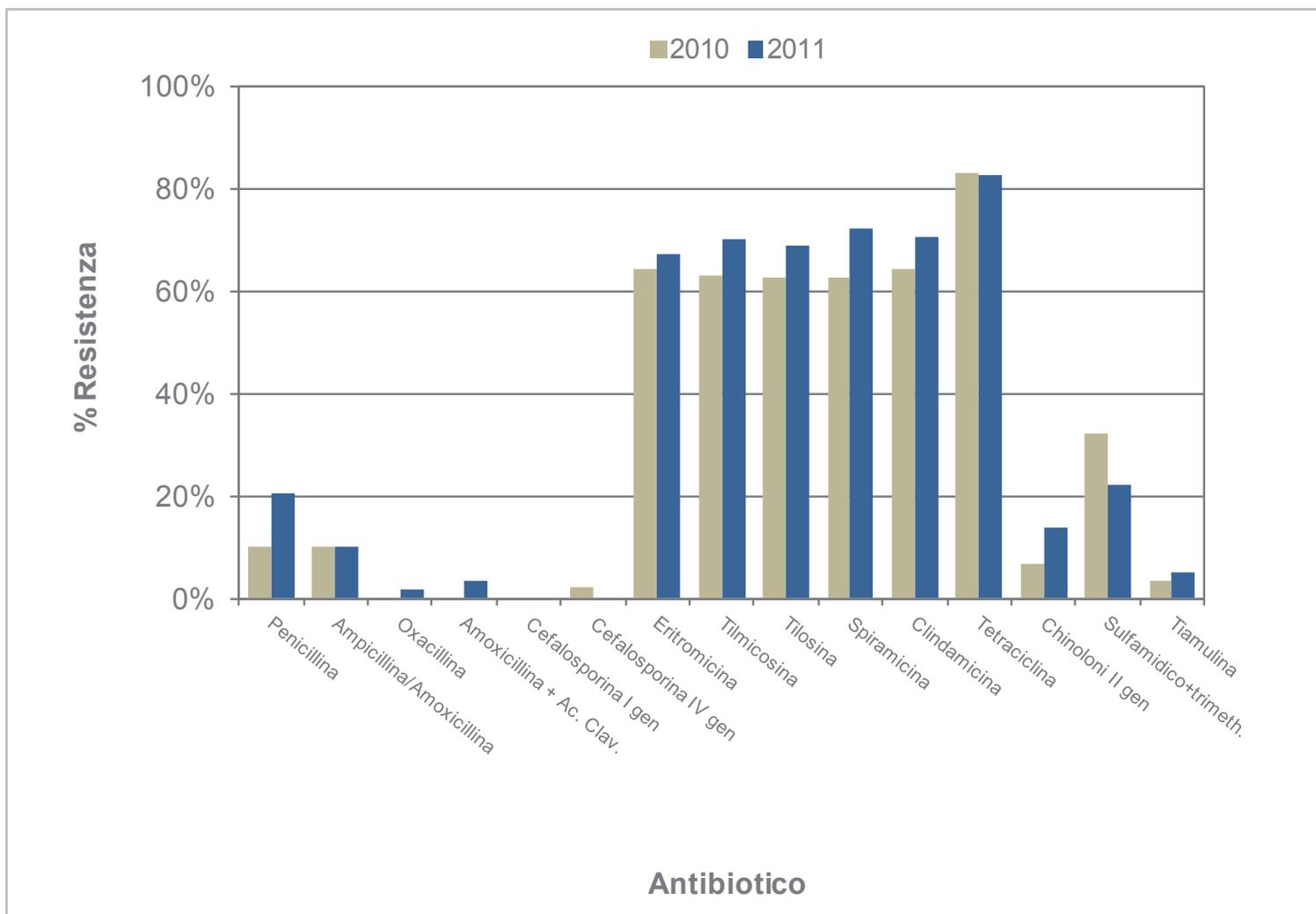


Grafico 9. Percentuale di ceppi di *Staphylococcus aureus* resistenti ai principali antibiotici testati su ceppi isolati da casi di infezioni mammarie nel coniglio



Conigli

Infezioni dell'apparato respiratorio

Pasteurella multocida

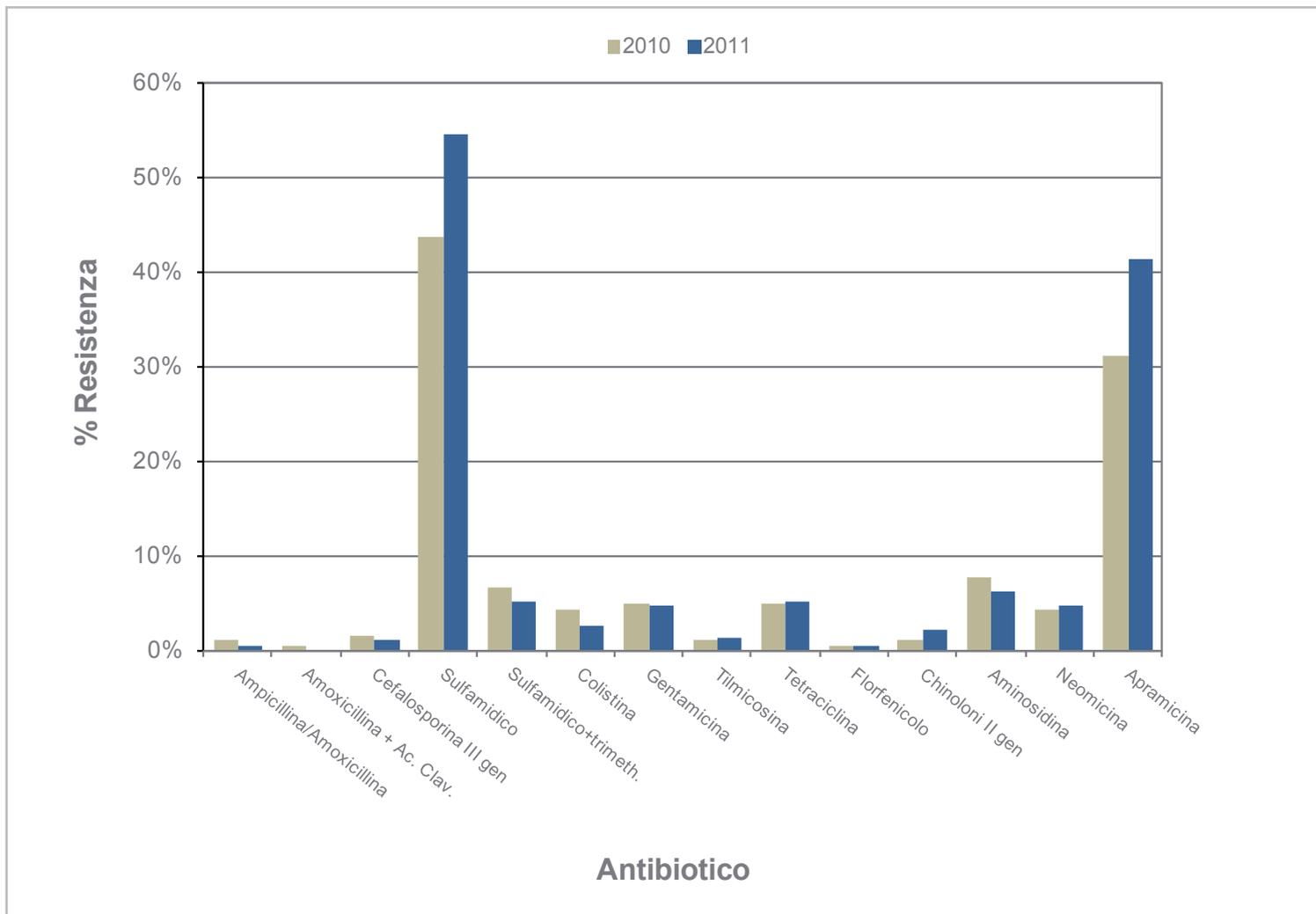
Nella tabella 12 e nel grafico 10 vengono riportati i risultati di farmacosenibilità di ceppi di *Pasteurella multocida* isolati in corso di affezioni dell'apparato respiratorio. Generalmente si osserva un'elevata sensibilità *in vitro* di tale microrganismo rispetto alle

molecole testate. Infatti i livelli di resistenza più elevati sono stati riscontrati nei confronti di sulfamidici e apramicina mentre per tutte le altre si è attestato al di sotto dell'8%.

Tabella 12. Risultati delle prove di sensibilità agli antimicrobici effettuate su ceppi di *Pasteurella multocida* isolati da casi d'infezioni respiratorie dei conigli

Antibiotico	2010					2011				
	R	I	S	totale	%R	R	I	S	totale	%R
Ampicillina/Amoxicillina	2	0	177	179	1,1%	1	1	189	191	0,5%
Amoxicillina + Ac. Clav.	1	0	180	181	0,6%	0	2	189	191	0,0%
Cefalosporina III gen	3	0	178	181	1,7%	2	3	186	191	1,0%
Sulfamidico	79	17	85	181	43,6%	104	17	70	191	54,5%
Sulfamidico+trimeth.	12	2	167	181	6,6%	10	3	178	191	5,2%
Colistina	8	6	167	181	4,4%	5	4	181	190	2,6%
Gentamicina	9	8	164	181	5,0%	9	8	173	190	4,7%
Tilmicosina	2	4	157	163	1,2%	2	9	147	158	1,3%
Tetraciclina	9	1	171	181	5,0%	10	2	179	191	5,2%
Florfenicolo	1	0	180	181	0,6%	1	1	164	166	0,6%
Chinoloni II gen	2	5	174	181	1,1%	4	5	167	176	2,3%
Aminosidina	14	1	166	181	7,7%	12	0	179	191	6,3%
Neomicina	8	46	127	181	4,4%	9	35	147	191	4,7%
Apramicina	56	56	68	180	31,1%	79	59	53	191	41,4%

Grafico 10. Percentuale di ceppi di *Pasteurella multocida* resistenti ai principali antibiotici testati su ceppi isolati da casi di infezioni dell'apparato respiratorio del coniglio



Conigli

Infezioni dell'apparato gastroenterico

Escherichia coli

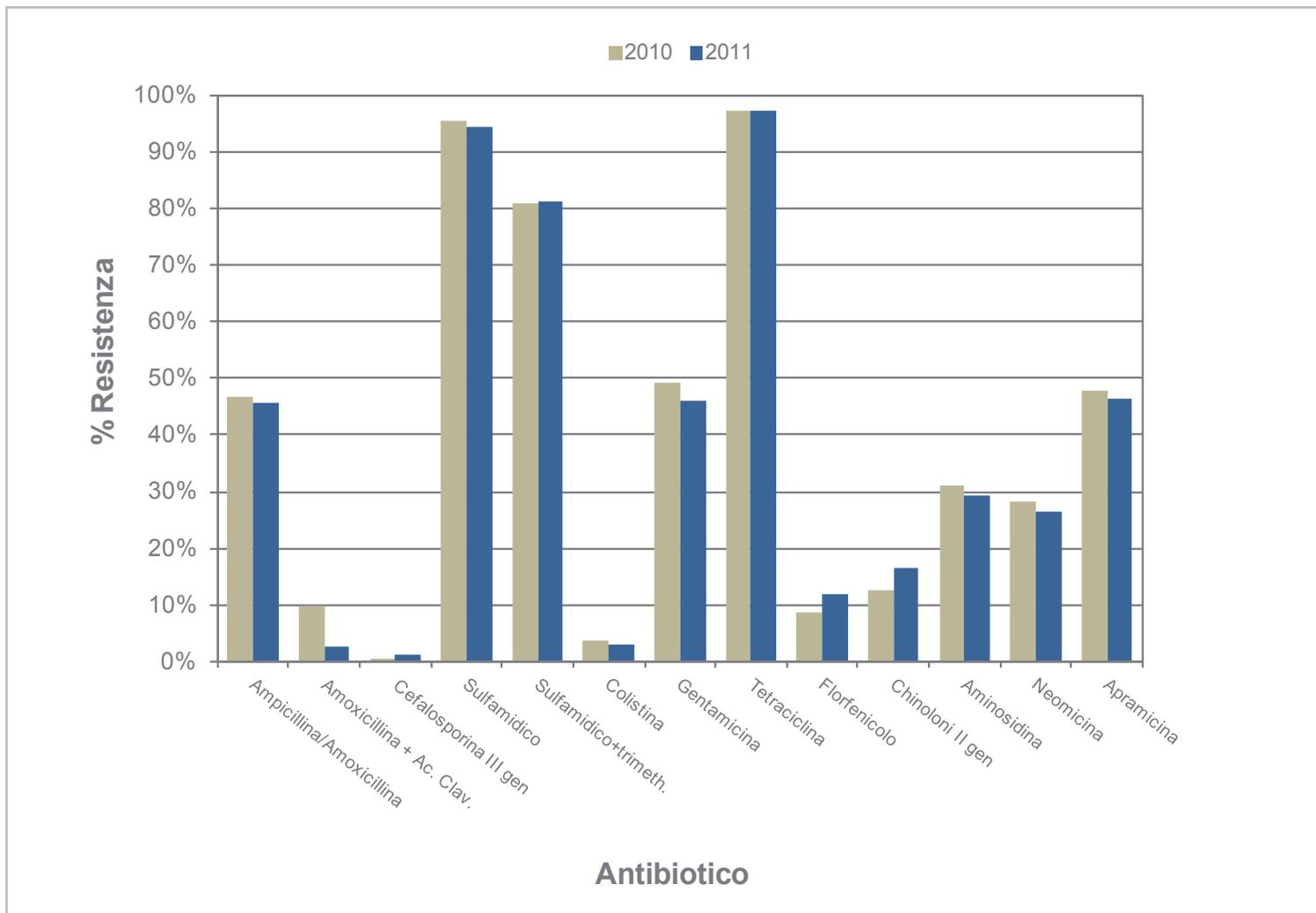
I dati inerenti le farmacoresistenze riscontrate nei confronti di ceppi di *Escherichia coli* isolati in corso di sindromi dell'apparato gastroenterico vengono riportati in tabella 13 e illustrati nel grafico 11. Tra i principi attivi contenuti in specialità veterinarie registrate per questa specie, i livelli di resistenza più elevati sono stati riscontrati nei confronti di tetraciclina, apramicina, aminosidina e soprattutto

sulfamidici, sia da soli che potenziati con trimethoprim. Nel piano di sorveglianza si osserva un basso livello di ceppi resistenti alla colistina, ampiamente utilizzata nel settore cunicolo. Spesso però ad una diffusa efficacia osservata "in vitro" per tale molecola non corrisponde una risposta terapeutica in campo.

Tabella 13. Risultati delle prove di sensibilità agli antimicrobici effettuate su ceppi di *E. coli* isolati da casi di enterite del coniglio

Antibiotico	2010					2011				
	R	I	S	totale	%R	R	I	S	totale	%R
Ampicillina/Amoxicillina	310	107	246	663	46,8%	296	61	292	649	45,6%
Amoxicillina + Ac. Clav.	65	188	414	667	9,7%	17	77	555	649	2,6%
Cefalosporina III gen	1	17	646	664	0,2%	7	12	628	647	1,1%
Sulfamidico	632	9	22	663	95,3%	610	0	37	647	94,3%
Sulfamidico+trimeth.	539	8	120	667	80,8%	528	7	114	649	81,4%
Colistina	24	83	560	667	3,6%	20	72	556	648	3,1%
Gentamicina	328	37	302	667	49,2%	299	20	329	648	46,1%
Tetraciclina	647	1	18	666	97,1%	632	3	14	649	97,4%
Florfenicolo	58	105	504	667	8,7%	68	68	440	576	11,8%
Chinoloni II gen	84	124	459	667	12,6%	99	156	340	595	16,6%
Aminosidina	206	0	459	665	31,0%	189	0	459	648	29,2%
Neomicina	189	267	210	666	28,4%	171	99	378	648	26,4%
Apramicina	316	119	224	659	48,0%	299	111	236	646	46,3%

Grafico 11. Percentuale di ceppi di E.coli resistenti ai principali antibiotici testati su ceppi isolati da casi di enterite dei conigli



Suini

Infezioni dell'apparato gastroenterico

Escherichia coli

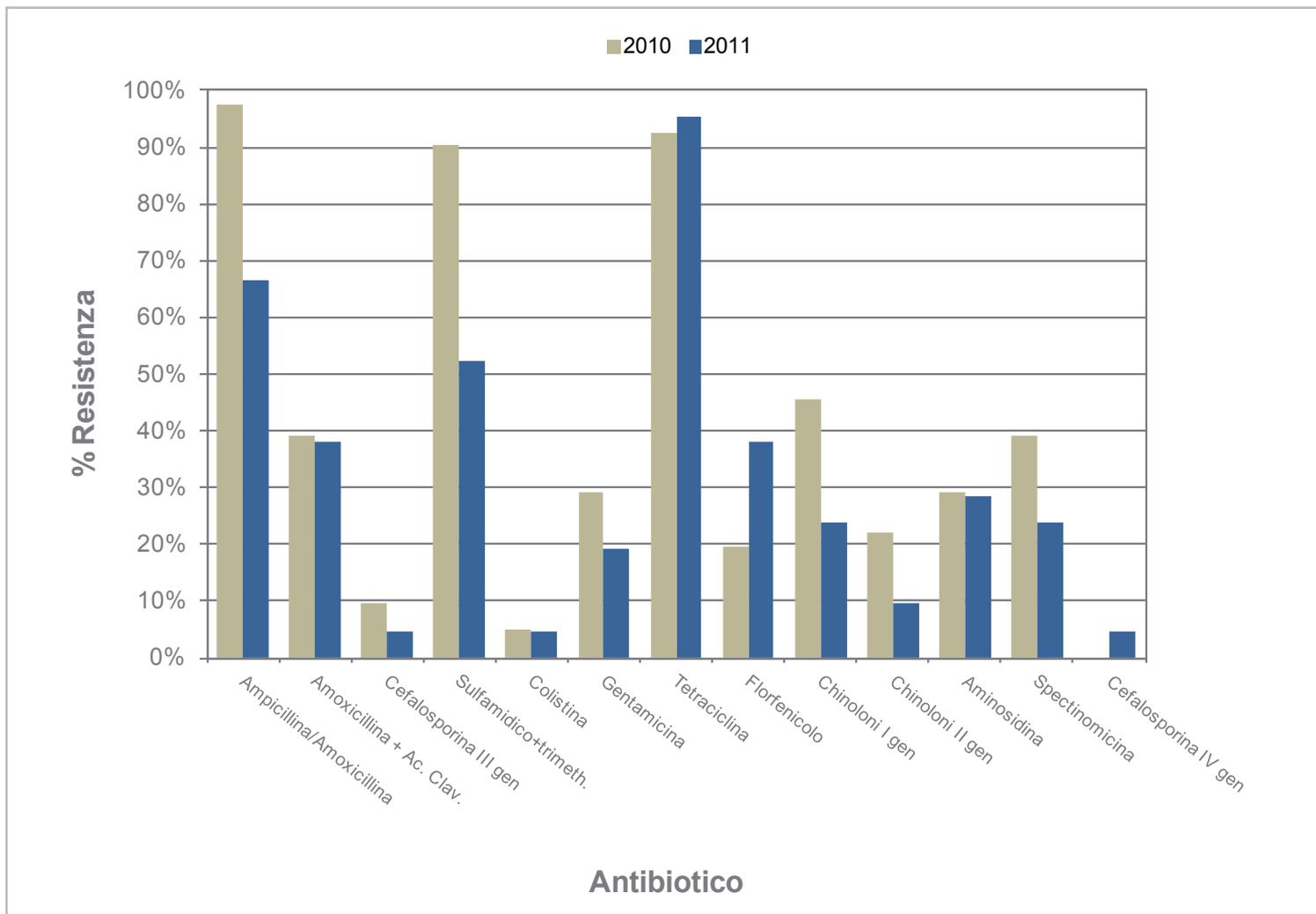
Nella tabella 14 e nel grafico 12 è rappresentata la percentuale di ceppi di *Escherichia coli* isolati dal suino in corso di infezioni dell'apparato gastro-enterico risultati resistenti (R), intermedi (I) e sensibili (S) agli antimicrobici testati. Complessivamente sono stati sottoposti ad antibiogramma 41 isolati nel 2010 e 21 nel 2011, fatta eccezione per cefalosporina di 4° generazione per il quale sono stati testati solo 10 isolati nel 2010 e 20 nel 2011. I livelli di resistenza sono risultati molto elevati per le penicilline, tetraciclina, chinoloni di I generazione ,e aminoglicosidi. I sulfamidici + trimethoprim hanno

evidenziato una notevole differenza fra i ceppi resistenti rilevati nei due anni, con una percentuale di resistenza del 90,2% nel 2010 e del 52,4% nel 2011. Tale differenza è probabilmente da imputare al basso numero di ceppi testati. Infine va sottolineato come anche nel suino siano stati evidenziati ceppi resistenti ai chinoloni di II generazione in percentuali che si possono ritenere preoccupanti per questa tipologia di farmaci 22,0% nel 2010 e 9,0% nel 2011, soprattutto considerando il limitato numero di ceppi testati.

Tabella 14. Risultati delle prove di sensibilità agli antimicrobici effettuate su ceppi di *E. coli* isolati da casi d'infezioni gastroenteriche dei suini

Antibiotico	2010					2011				
	R	I	S	totale	%R	R	I	S	totale	%R
Ampicillina/Amoxicillina	40	0	1	41	97,6%	14	4	3	21	66,7%
Amoxicillina + Ac. Clav.	16	19	6	41	39,0%	8	5	8	21	38,1%
Cefalosporina III gen	4	0	37	41	9,8%	1	1	19	21	4,8%
Sulfamidico+trimeth.	37	0	4	41	90,2%	11	0	10	21	52,4%
Colistina	2	13	26	41	4,9%	1	4	16	21	4,8%
Gentamicina	12	3	26	41	29,3%	4	1	16	21	19,0%
Tetraciclina	38	0	3	41	92,7%	20	0	1	21	95,2%
Florfenicolo	8	3	30	41	19,5%	8	3	10	21	38,1%
Chinoloni I gen	16	1	18	35	45,7%	5	0	16	21	23,8%
Chinoloni II gen	9	7	25	41	22,0%	2	1	18	21	9,5%
Aminosidina	12	0	29	41	29,3%	6	0	15	21	28,6%
Spectinomicina	16	9	16	41	39,0%	5	1	15	21	23,8%
Cefalosporina IV gen	0	0	10	10	0,0%	1	0	20	21	4,8%

Grafico 12. Percentuale di ceppi di *E. coli* resistenti ai principali antibiotici testati su ceppi isolati da casi d'infezioni gastroenteriche dei suini



Pollo

Infezioni enteriche e forme setticemiche

Escherichia coli

Nella tabella 15 e nei grafici 13 e 14 è rappresentata la percentuale di ceppi di *Escherichia coli* isolati dal pollo in corso di infezioni enteriche o di forme setticemiche che sono risultati resistenti (R), intermedi (I) e sensibili (S) agli antimicrobici testati. Complessivamente sono stati sottoposti ad antibiogramma 76 ceppi nel 2010 e 32 nel 2011.

I livelli di resistenza più elevati sono stati riscontrati nei confronti delle tetracicline, delle penicilline, dei sulfamidici e dei sulfamidici potenziati con trimethoprim, rispettivamente. Di particolare

interesse sono le resistenze rilevate nei confronti antibiotici di recente generazione quali chinoloni di II generazione e cefalosporine di III generazione.

Pressoché analoghi livelli di resistenza sono stati rilevati nelle forme setticemiche, nelle quali però va sottolineata la presenza di una percentuale ancora più elevata di ceppi resistenti ai chinoloni di II generazione nei due anni valutati.

Tabella 15. Confronto fra i risultati delle prove di sensibilità agli antimicrobici effettuate su ceppi di *E. coli* isolati dal pollo in corso di infezioni enteriche o di forme setticemiche

SINDROME ENTERICA	2010					2011				
	R	I	S	totale	%R	R	I	S	totale	%R
Ampicillina/Amoxicillina	48	5	23	76	63,2%	18	6	16	40	45,0%
Amoxicillina + Ac. Clav.	19	24	33	76	25,0%	10	11	19	40	25,0%
Cefalosporina III gen	7	1	68	76	9,2%	5	0	35	40	12,5%
Sulfamidico	43	11	22	76	56,6%	19	0	20	39	48,7%
Sulfamidico+trimeth.	33	2	41	76	43,4%	14	0	26	40	35,0%
Colistina	0	6	70	76	0,0%	1	0	39	40	2,5%
Gentamicina	10	1	65	76	13,2%	5	0	35	40	12,5%
Tetraciclina	52	0	24	76	68,4%	24	0	14	38	63,2%
Florfenicolo	5	4	67	76	6,6%	2	2	35	39	5,1%
Chinoloni II gen	12	10	53	75	16,0%	4	6	30	40	10,0%
Aminosidina	3	2	71	76	3,9%	2	0	38	40	5,0%
Neomicina	3	27	46	76	3,9%	6	3	31	40	15,0%
Apramicina	4	7	59	70	5,7%	1	7	32	40	2,5%

SETTICEMIA	2010					2011				
	R	I	S	Totale	%R	R	I	S	Totale	%R
Ampicillina/Amoxicillina	58	7	33	98	59,2%	73	4	31	108	67,6%
Amoxicillina + Ac. Clav.	19	28	51	98	19,4%	19	20	69	108	17,6%
Cefalosporina III gen	13	2	83	98	13,3%	20	2	85	107	18,7%
Sulfamidico	58	6	34	98	59,2%	69	0	39	108	63,9%
Sulfamidico+trimeth.	31	6	61	98	31,6%	35	0	73	108	32,4%
Colistina	0	11	87	98	0,0%	2	15	91	108	1,9%
Gentamicina	2	3	92	97	2,1%	9	0	99	108	8,3%
Tetraciclina	68	0	30	98	69,4%	84	2	21	107	78,5%
Florfenicolo	6	5	87	98	6,1%	4	13	78	95	4,2%
Chinoloni II gen	23	22	53	98	23,5%	32	28	45	105	30,5%
Aminosidina	10	0	87	97	10,3%	12	0	96	108	11,1%
Neomicina	13	39	46	98	13,3%	11	6	91	108	10,2%
Apramicina	5	34	56	95	5,3%	7	35	66	108	6,5%

Grafico 13. Percentuale di ceppi di *E. coli* resistenti ai principali antibiotici testati su ceppi isolati da casi di infezioni enteriche nel pollo

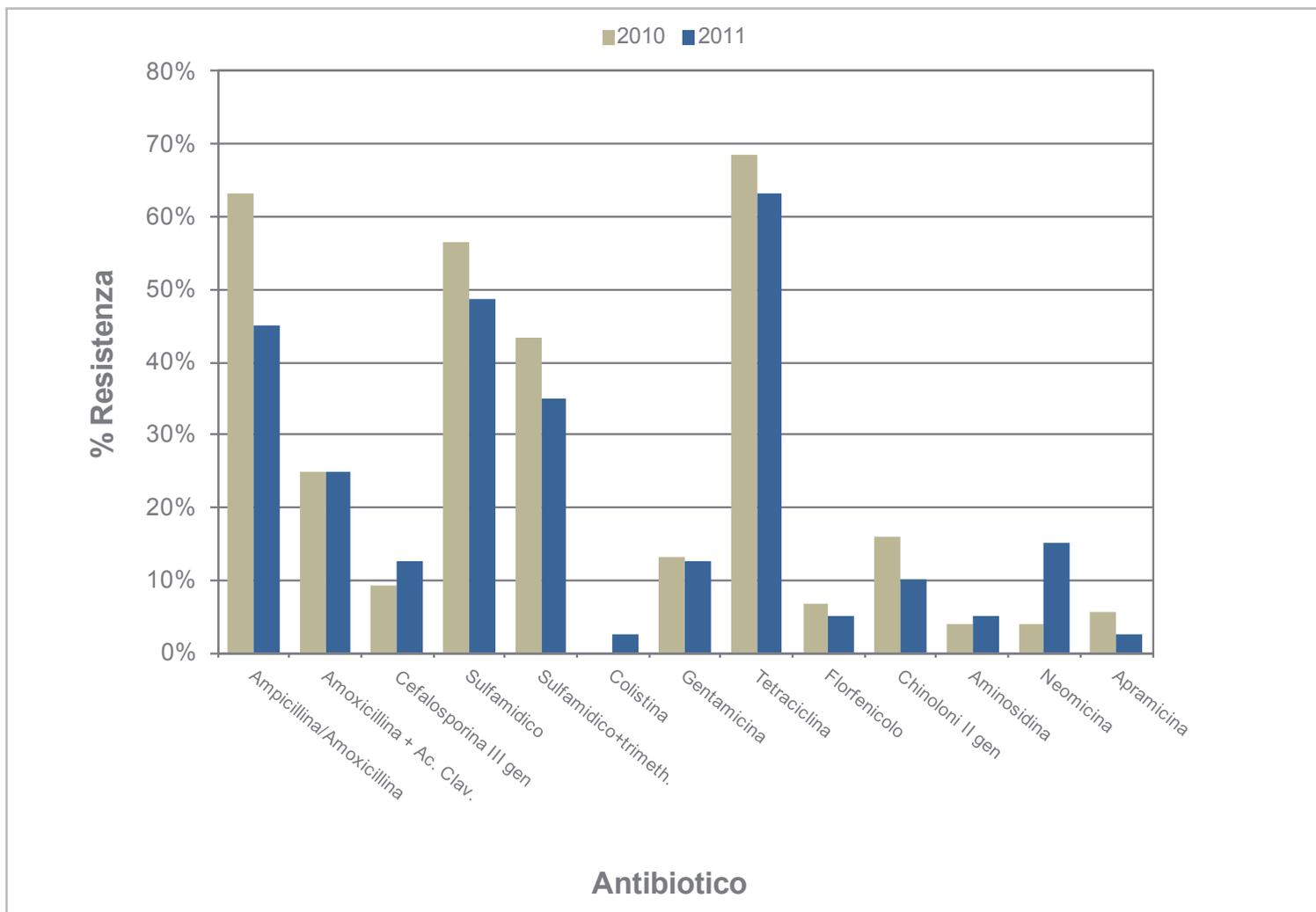
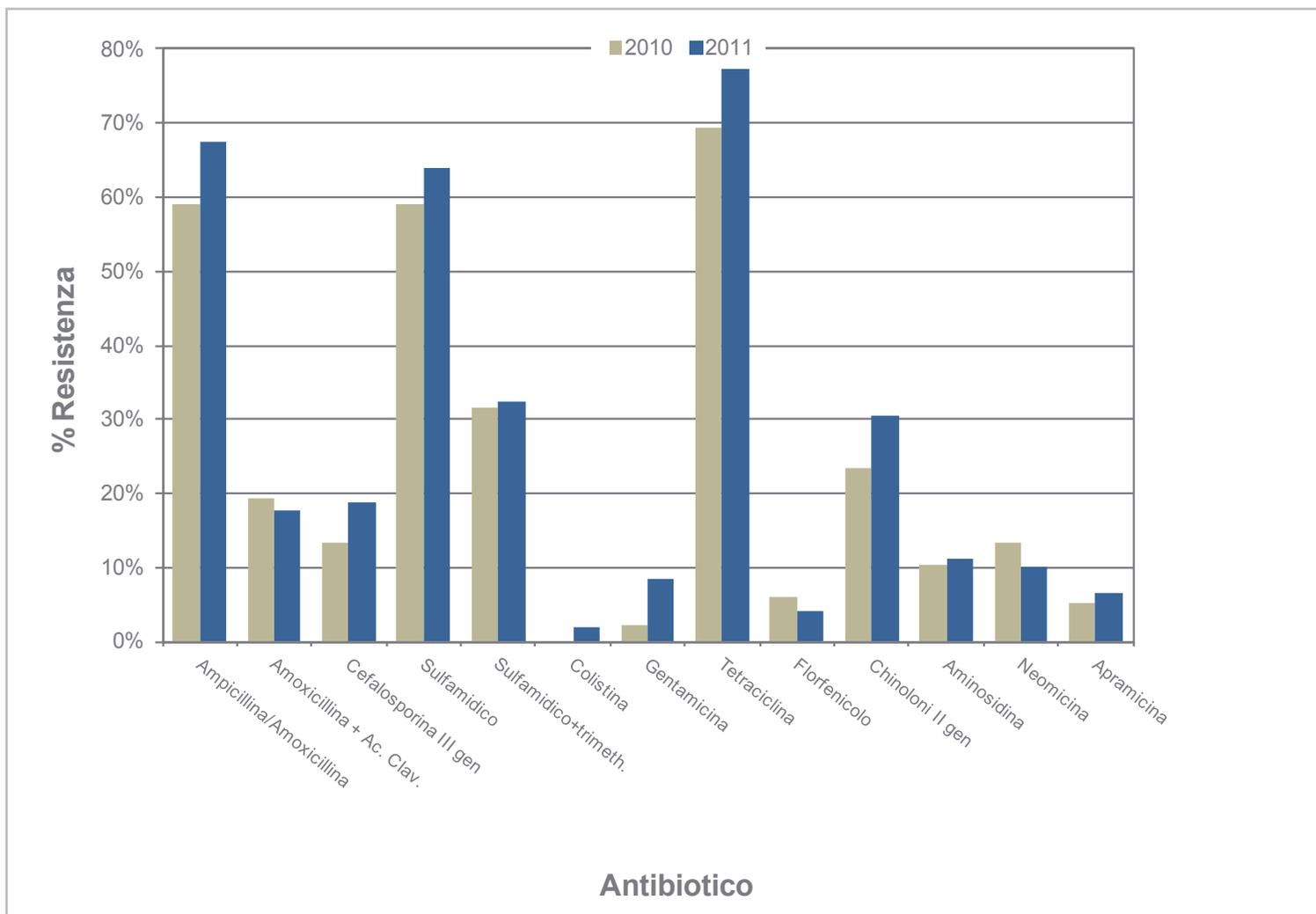


Grafico 14. Percentuale di ceppi di *E. coli* resistenti ai principali antibiotici testati su ceppi isolati da casi di infezioni setticemiche nel pollo



Cane

Infezioni dell'apparato tegumentario

Staphylococcus intermedius

In tabella 16 e nel grafico 15 è rappresentata la percentuale di ceppi di *Staphylococcus intermedius* isolati dal cane in corso di infezioni dell'apparato tegumentario risultati resistenti (R), intermedi (I) e sensibili (S) agli antimicrobici testati. Si ritiene utile ricordare che la denominazione di *Staphylococcus intermedius* si deve intendere, alla luce dei nuovi aggiornamenti tassonomici, come *Staphylococcus intermedius* group, che comprende *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* e *S. delphini*, specie non distinguibili con metodiche di batteriologia classica usate di routine, ma solo con esami di biologia molecolare.

I livelli di resistenza più elevati sono stati riscontrati nei confronti dei β -lattamici, in particolare penicillina e ampicillina; mentre nei confronti delle penicilline potenziate con acido clavulanico e delle penicilline antistafilococciche le resistenze sono più contenute rispetto alle precedenti, ma mostrano comunque un effettivo incremento nel 2011. Le cefalosporine hanno evidenziato maggiori livelli di resistenza sia per quelle di I generazione, sia per quelle di IV generazione; alti livelli di resistenza sono stati inoltre evidenziati nei

confronti delle tetracicline e dei macrolidi, in particolare eritromicina e spiramicina.

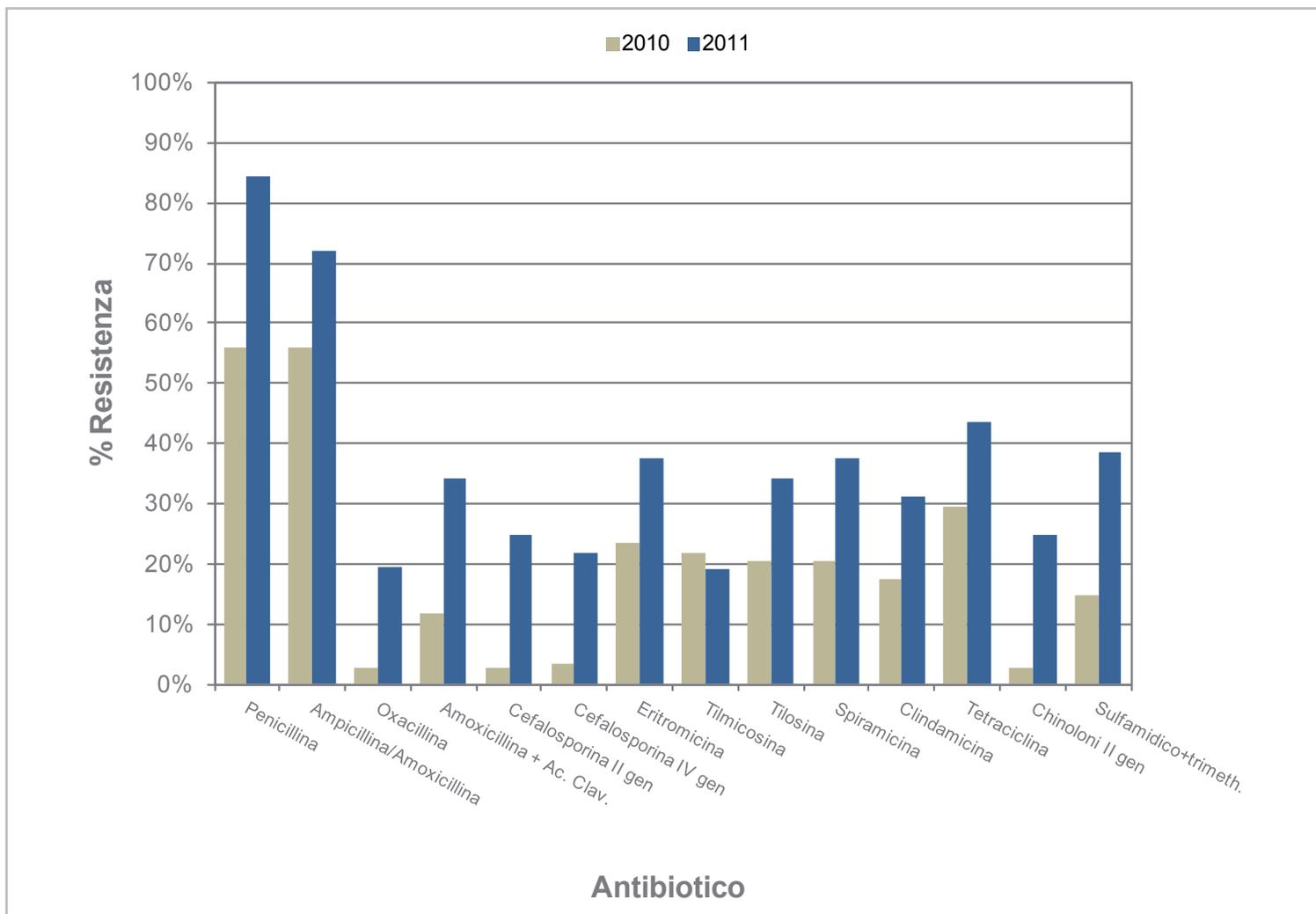
Il dato relativo alle resistenze nei confronti dell'oxacillina, antibiotico marker per rilevare la meticillino-resistenza, è quello che desta maggiore preoccupazione, in quanto anche nella recente letteratura internazionale, i ceppi meticillino-resistenti isolati dal cane sono segnalati in aumento.

Tale fenomeno unito alla stretta condivisione dell'ambiente tra uomo e pet (cane), potrebbe tradursi in un maggior rischio di trasferimento di fattori di resistenza nei confronti degli antibiotici β -lattamici dalla popolazione microbica animale a quella umana. Ricordiamo inoltre che i ceppi di stafilococco meticillino-resistenti sono anche multiresistenti, (cioè resistenti contemporaneamente a 4 o più classi di antibiotici), in quanto il gene che codifica per la meticillino-resistenza è inserito in una porzione più ampia di DNA batterico contenente anche i determinanti di resistenza per vari altri antibiotici non β -lattamici, ad esempio tetracicline, chinoloni, ecc.

Tabella 16. Risultati delle prove di sensibilità agli antimicrobici effettuate su ceppi di *Staphylococcus intermedius* isolati dal cane in corso di infezioni dell'apparato tegumentario

Antibiotico	2010					2011				
	R	I	S	Totale	%R	R	I	S	Totale	%R
Penicillina	19	0	15	34	55,9%	27	0	5	32	84,4%
Ampicillina/Amoxicillina	19	0	15	34	55,9%	23	0	9	32	71,9%
Oxacillina	1	0	33	34	2,9%	6	0	25	31	19,4%
Amoxicillina + Ac. Clav.	4	0	30	34	11,8%	11	0	21	32	34,4%
Cefalosporina I gen	1	0	33	34	2,9%	8	0	24	32	25,0%
Cefalosporina IV gen	1	0	29	30	3,3%	7	1	24	32	21,9%
Eritromicina	8	4	22	34	23,5%	12	0	20	32	37,5%
Tilmicosina	5	0	18	23	21,7%	4	1	16	21	19,0%
Tilosina	7	0	27	34	20,6%	11	0	21	32	34,4%
Spiramicina	7	7	20	34	20,6%	12	2	18	32	37,5%
Clindamicina	6	2	26	34	17,6%	10	1	21	32	31,3%
Tetraciclina	10	1	23	34	29,4%	14	2	16	32	43,8%
Chinoloni II gen	1	0	33	34	2,9%	8	0	24	32	25,0%
Sulfamidico+trimeth.	5	7	22	34	14,7%	12	0	19	31	38,7%

Grafico 15. Percentuale di ceppi di *Staphylococcus intermedius* resistenti ai principali antibiotici testati su ceppi isolati dal cane in corso di infezioni dell'apparato tegumentario



Conclusioni

La raccolta ordinata e armonizzata dei dati sull'antibiotico-resistenza effettuata nel biennio 2010-2011 ci ha permesso di effettuare una valutazione dell'antibiotico-resistenza basata su un numero elevato di antibiogrammi, perlomeno per il bovino e per il coniglio, senza dover ricorrere ad alcuna indagine mirata, ma impiegando i dati della diagnostica di routine.

Il primo aspetto importante che appare dai dati raccolti è la presenza di un numero preoccupante di ceppi di enterobatteri resistenti ai chinoloni in molte specie di animali da reddito, con il conseguente rischio di diffusione della resistenza ad agenti di zoonosi trasferibili poi all'uomo tramite gli alimenti. Il confronto dei dati fra le varie specie ha evidenziato come questa problematica sia probabilmente legata all'uso di terapie di massa per via orale, in quanto nelle vacche da latte, dove i chinoloni possono essere impiegati solo per via iniettabile, data la presenza del rumine, il livello di resistenze sviluppate è estremamente contenuto rispetto ad altre specie.

Un altro punto importante rilevato con questo monitoraggio è la valutazione, sia pure incompleta, della presenza e diffusione dei ceppi di stafilococco resistenti alla meticillina, con particolare riferimento a *S. aureus* e *S. intermedius*. Per quanto attiene a questo tipo di resistenza, la presenza di ceppi sospetti, isolati da casi di mastite nelle vacche, richiede sicuramente degli approfondimenti mirati almeno per questa specie.

Infine, un ultimo punto che va considerato è il basso numero di antibiogrammi effettuati su alcune specie importanti per la sorveglianza sul fenomeno dell'antibiotico resistenza, quali il suino e gli avicoli: in questo ambito sarà importante trovare delle sinergie con il mondo della produzione per poter aumentare il livello di sorveglianza e monitorare in maniera più completa la situazione.

Allegato A

Informazioni sulle resistenze degli antibiotici

I batteri sono stati classificati come sensibili o resistenti agli antibiotici dal momento stesso in cui sono stati scoperti. L'individuazione dei microrganismi resistenti avviene attraverso metodiche di laboratorio, tuttavia non sempre tale valutazione laboratoristica corrisponde al reale effetto dell'antibiotico in vivo. Comunque, queste analisi di laboratorio forniscono importanti indicazioni al clinico in merito a quali siano le molecole più efficaci per trattare un microrganismo e al loro corretto dosaggio. Vi sono differenti metodologie che vengono impiegate per la determinazione fenotipica della resistenza antibiotica, tra queste la metodica più diffusa è l'agar diffusione, nello specifico il metodo Kirby-Bauer. Questo test è di facile esecuzione e può essere allestito anche dai più semplici laboratori di microbiologia; inoltre è il metodo più economico per determinare la resistenza e si adatta all'analisi di un grande numero di isolati.

Vi sono poi altre metodiche di laboratorio per determinare fenotipicamente i livelli di resistenza antibiotica dei ceppi batterici basate sulla diluizione dell'antibiotico (agar diluizione e brodo diluizione). Infine, la resistenza antibiotica può essere studiata in laboratorio anche attraverso metodiche molecolari, finalizzate principalmente all'identificazione dei determinanti genetici responsabili della resistenza.

Le resistenze antibiotiche sono di due tipologie: quelle intrinseche e quelle acquisite.

Resistenza intrinseca

Considerando le differenti specie batteriche, anziché i singoli ceppi, emerge che non tutte sono ugualmente sensibili a tutti gli antibiotici. Ad esempio un'infezione da *E. coli* non dovrebbe essere trattata con eritromicina, oppure un'infezione da streptococchi con aminoglicosidi, dal momento che questi microrganismi sono intrinsecamente resistenti a tali antibiotici. In altre parole, un microrganismo viene definito intrinsecamente resistente a un antibiotico se esso non possiede il sito target d'azione dell'antibiotico, oppure se è impermeabile alla molecola. Dal momento che la resistenza intrinseca è prevedibile, non dovrebbe porre alcun problema nella scelta del trattamento adeguato da utilizzare in caso di infezione. Pertanto, il clinico dovrebbe evitare a priori di somministrare gli agenti antibiotici per i quali tale microrganismo presenta resistenza intrinseca.

Resistenza acquisita

L'introduzione di nuovi antibiotici è stata sempre seguita dall'emergenza di ceppi batterici resistenti a tali antibiotici tra specie che erano considerate sensibili. L'acquisizione di resistenza ha drasticamente ridotto il potere terapeutico di molti importanti antibiotici, ma ha anche rappresentato uno stimolo costante per lo sviluppo di nuove molecole. Mentre l'emergenza della resistenza a nuovi antibiotici rappresenta un fenomeno inevitabile, il tasso di sviluppo e la diffusione della resistenza invece sono del tutto imprevedibili.

Le resistenze acquisite vengono classificate in due tipologie principali: quelle mutazionali e quelle trasmissibili.

Resistenza mutazionale. Questa si verifica quando in un'ampia popolazione batterica ci sono pochi ceppi che sviluppano spontaneamente resistenza. Questi ultimi, in assenza dell'antibiotico, non presentano vantaggi particolari nella sopravvivenza, ma al momento della somministrazione dell'antibiotico, tutti i ceppi sensibili vengono uccisi e in tal modo i pochi ceppi che inizialmente erano resistenti riescono a proliferare molto rapidamente fino anche a costituire un'intera popolazione di batteri resistenti.

Resistenza trasmissibile. Un'altra tipologia di resistenza acquisita si verifica quando i geni responsabili della resistenza antimicrobica vengono trasferiti da un ceppo resistente a uno sensibile. Il trasferimento di tali geni avviene in maniera esponenziale da un ceppo all'altro, quindi questo secondo meccanismo di resistenza risulta molto più efficace rispetto alla resistenza mutazionale, che invece interessa il singolo ceppo batterico.

Tabella 17. Principali meccanismi di resistenza che sono stati sviluppati dai microrganismi

Meccanismo di resistenza	Esempi	
Distruzione o inattivazione dell'antibiotico	Antibiotici β -lattamici Cloranfenicolo Aminoglicosidi	idrolisi della penicillina e degli antibiotici correlati da parte delle β -lattamasi
		enzimi che modificano gli aminoglicosidi
Alterazione o protezione del sito target a cui si lega l'antibiotico al fine di limitare o evitare completamente tale legame	Antibiotici β -lattamici Cloranfenicolo Streptomicina Eritromicina Chinoloni Rifampicina Glicopeptidi Tetracicline	modificazione del RNA ribosomiale in modo tale che eritromicina e le streptogramine del Gr. B non si leghino
Riduzione della permeabilità della parete cellulare batterica, oppure blocco dei meccanismi che permettono all'antibiotico di entrare nella cellula batterica, oppure eliminazione attiva dell'antibiotico dalla cellula batterica attraverso meccanismi specifici	Antibiotici B- lattamici Cloranfenicolo Aminoglicosidi Chinoloni Tetracicline	eliminazione di eritromicina o di tetraciclina

Allegato B

Note informative sui principali antibiotici impiegati in veterinaria

β -lattamici

All'interno del gruppo dei β -lattamici sono incluse penicilline e cefalosporine, entrambe caratterizzate dalla presenza di un anello β -lattamico. La resistenza a tali molecole è attribuibile alla produzione da parte di alcuni microrganismi di enzimi che vanno ad agire sull'anello β -lattamico.

La benzilpenicillina (penicillina G) rappresenta la prima molecola sviluppata all'interno di tale gruppo. Questa molecola è stata storicamente utilizzata per trattare moltissime infezioni, ma progressivamente si sono sviluppate resistenze e soprattutto il suo impiego è stato limitato perché essa presentava un ristretto spettro antibatterico, provocava ipersensibilità ed era idrolizzata da enzimi β -lattamici prodotti da molteplici microrganismi tra cui gli stafilococchi. Quindi, sono state sviluppate nuove molecole finalizzate a compensare i limiti della benzilpenicillina. Ad esempio, aggiungendo un gruppo amminico alla molecola si è formata l'ampicillina, che ha permesso di aumentare lo spettro di azione comprendendo anche i batteri Gram negativi. Ulteriori modifiche hanno permesso di ottenere poi l'amoxicillina, caratterizzata da un maggiore assorbimento rispetto alla molecola originaria. Sono in seguito state sintetizzate numerose altre penicilline.

Le cefalosporine, rispetto alle penicilline presentano uno spettro d'azione più ampio, sebbene siano inefficaci nei confronti degli enterococchi e siano più stabili alle β -lattamasi prodotte dagli stafilococchi. Le cefalosporine sono solitamente descritte come molecole di I, II, III e IV generazione. Nello specifico, le cefalosporine di I generazione rappresentano le prime molecole sintetizzate (come ad esempio la cefalotina) negli anni '70, di seguito sono arrivate le cefalosporine di seconda generazione che risultavano più stabili alle β -lattamasi (come cefuroxime e cefoxitina), poi le molecole di terza generazione che combinavano maggiore stabilità alle β -lattamasi e aumentata attività intrinseca (ad. esempio il cefotaxime), e infine sono state prodotte le cefalosporine di quarta generazione. La resistenza a queste

molecole si verifica attraverso la sintesi di enzimi (β -lattamasi) che agiscono sull'anello β -lattamico. La classificazione delle β -lattamasi è diventata molto complessa dal momento che ne sono state individuate più di 200, alcune differenziabili da altre solamente per uno o pochi aminoacidi. Il più diffuso degli enzimi plasmidici è il TEM 1, che viene sintetizzato da differenti plasmidi e trasposoni. Sono state contate ad oggi più di 100 varianti di TEM, alcune delle quali producono β -lattamasi che sono in grado di idrolizzare una grande varietà di penicilline e cefalosporine (β -lattamasi a spettro esteso). Altri enzimi a spettro esteso, non correlati alle TEM, sono stati descritti, come ad esempio le β -lattamasi che idrolizzano il cefotaxime (CTX-M) e che sono state identificate in isolati di *Klebsiella* spp. *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. Altre tipologie di β -lattamasi, che sono state identificate in batteri Gram -, includono il gruppo degli enzimi SHV-1 che presenta molteplici varianti (oramai più di 50), il gruppo degli enzimi OXA e il gruppo PSE. Gli antibiotici β -lattamici possono essere inattivati oltre che attraverso degli enzimi anche attraverso un altro meccanismo secondario. In particolare, ad esempio i ceppi di *Streptococcus pneumoniae* con ridotta suscettibilità alle penicilline sono caratterizzati da un'alterazione del sito target delle proteine leganti le penicilline e ciò determina una ridotta affinità di legame tra tali proteine e le molecole antibiotiche. Allo stesso modo, la resistenza alla meticillina negli stafilococchi è associata con la sintesi di una PBP modificata che presenta una ridotta affinità per la meticillina e altri antibiotici β -lattamici. Infine, la resistenza ai β -lattamici può essere anche causata da un meccanismo di interferenza con il trasporto e l'accumulo nella cellula. Le membrane dei microrganismi Gram negativi sono molto differenti per quanto riguarda la permeabilità a penicilline e cefalosporine. La maggior parte dei β -lattamici riescono a raggiungere i loro siti target attraverso dei pori (porine) che sono localizzati nella membrana esterna. La capacità di penetrare nella cellula è influenzata dalla dimensione del β -lattamico e della porina. In alcuni batteri la resistenza può derivare da alterazioni nella

forme e nella funzione delle porine, condizioni che contribuiscono a prevenire il passaggio dell'antibiotico. Ad esempio, la resistenza ai carbapenemi è causata dalla perdita delle porine, talvolta amplificata dalla produzione di β -lattamasi.

Tetracicline

La prima tetraciclina, la clortetraciclina, è stata descritta nel 1948. Questa famiglia antibiotica è caratterizzata da un spettro d'azione molto ampio, che comprende sia batteri Gram positivi che Gram negativi. Le diverse molecole che sono incluse in questa famiglia non presentano grosse differenze nell'attività antimicrobica, ma si distinguono piuttosto per la loro farmacocinetica.

I microrganismi sensibili concentrano le tetracicline attraverso trasporto attivo. All'interno della cellula queste molecole legano reversibilmente la sub-unità ribosomiale 30S impedendo il legame dell'aminoacil-RNA. Questi antibiotici sono prevalentemente batteriostatici.

Plasmidi e trasposoni, che contengono determinanti di resistenza alle tetracicline, sono piuttosto comuni sia tra i batteri Gram positivi che Gram negativi. Solitamente c'è cross-resistenza, così un batterio che risulta resistente nei confronti di una tetraciclina, molto probabilmente sarà resistente verso tutte le molecole di questa famiglia.

La resistenza alle tetracicline solitamente è associata anche con la sintesi di una proteina di membrana che determina una rapida eliminazione dell'antibiotico attraverso trasporto attivo, così la molecola quando entra nella cellula viene rimossa rapidamente.

Aminoglicosidi

La streptomina rappresenta il primo aminoglicoside che fu scoperto nel 1943. Questa famiglia antibiotica è composta da molecole che presentano uno spettro d'azione molto ampio (la maggior parte dei Gram negativi, gli stafilococchi e altri Gram positivi). Sono inefficaci invece contro i microrganismi anaerobi e gli streptococchi, ma attraverso l'impiego in associazione alle penicilline, con le quali interagiscono in maniera sinergica, risultano efficaci anche contro questi microrganismi. Penetrano difficilmente nelle cellule dei mammiferi, per cui il loro effetto nelle infezioni causate da batteri a localizzazione intracellulare è piuttosto limitata.

Gli aminoglicosidi agiscono legandosi ad una specifica proteina ribosomiale e quindi la modificazione di un solo aminoacido nel sito di legame dell'antibiotico alla proteina determina resistenza. Il sito di legame della streptomina è differente ad esempio da quello di kanamicina e neomicina, quindi la resistenza di un antibiotico non necessariamente implica la resistenza verso le rimanenti molecole della famiglia. Il legame degli aminoglicosidi a tale proteina ha diversi effetti, come ad esempio la sintesi di proteine modificate, o l'alterazione dell'integrità della membrana.

Gli aminoglicosidi entrano all'interno della cellula attraverso un processo di trasporto attivo, che coinvolge chinoloni respiratori. Negli streptococchi e nei microrganismi anaerobi questi meccanismi sono assenti, per cui tali microrganismi sono resistenti agli aminoglicosidi.

La resistenza agli aminoglicosidi deriva principalmente dall'interferenza con il meccanismo di trasporto in seguito alla modificazione attraverso uno o più enzimi prodotti dal microrganismo resistente. Gli enzimi sono codificati da plasmidi, ma sono stati anche associati alla presenza di trasposoni e integroni. Tali enzimi sono stati classificati sulla base del tipo di modificazione che determinano e della localizzazione di tale modificazione.

Macrolidi

L'eritromicina rappresenta il primo macrolide, che fu scoperto nel 1952. Questo antibiotico è stato introdotto quando la resistenza degli stafilococchi alla penicillina stava divenendo un serio problema. Di seguito sono state sviluppate altre molecole appartenenti a questa famiglia caratterizzate da maggiore biodisponibilità rispetto all'eritromicina che risultava particolarmente labile all'ambiente acido dello stomaco e da maggior capacità di penetrazione a livello tissutale. I macrolidi hanno uno spettro d'azione simile a quello delle penicilline. Di norma si preferisce l'uso dei βlattamici, ma si possono usare anche i macrolidi come validi sostituti soprattutto nel caso in cui il paziente sia allergico o insensibile alle penicilline. La spiramicina rappresenta un macrolide che trova applicazione nella terapia delle infezioni sostenute da *Toxoplasma gondii*.

Gli antimicrobici appartenenti a questa famiglia agiscono a livello ribosomiale bloccando la sintesi proteica dei batteri. Generalmente i macrolidi sono batteriostatici ma, ad alte dosi, divengono anche battericidi.

La resistenza ai macrolidi è attribuibile a mutazioni a livello del sito recettoriale del ribosoma, in tal modo minor quantità di farmaco si lega a tale sito. Nel caso degli isolati di stafilococchi e streptococchi resistenti all'eritromicina, la resistenza solitamente deriva dalla metilazione della subunità 23S dell'RNA ribosomiale, attribuita ad un plasmide. La metilazione dell'RNA ribosomiale rende i batteri resistenti anche ad altri macrolidi, oltre che a lincosamidi e a streptogramine, determinando la riduzione del legame tra i ribosomi e questi antibiotici. Un altro meccanismo di resistenza sviluppato dai microrganismi consiste nel ridotto assorbimento dell'antibiotico, che non riesce a raggiungere concentrazioni critiche per essere efficace.

Sulfamidici

Gli antibiotici sulfamidici agiscono liberando sulfanilamide, un analogo dell'acido para-aminobenzoico (PABA), che rappresenta un componente essenziale per la sintesi del folato da parte dei batteri. Questi infatti sintetizzano l'acido folico e non possono prenderlo preformato dall'ambiente, come invece avviene per i mammiferi che non sono in grado di sintetizzarlo. I sulfamidici bloccano la sintesi dei folati nelle fasi iniziali impedendo la produzione di alcuni nucleotidi. I microrganismi che non utilizzano la via biosintetica dell'acido diidrofolico (enterococchi, lactobacilli) presentano una naturale resistenza ai sulfamidici.

Numerosi sulfonamidi, caratterizzati da differente efficacia antibatterica, sono stati sintetizzati. Questa famiglia antimicrobica è costituita da molecole batteriostatiche caratterizzate da efficacia nei confronti di numerosi batteri, fatta eccezione degli enterococchi, di *Pseudomonas aeruginosa* e di batteri anaerobi. L'emergenza della resistenza nei confronti dei sulfamidici e la tossicità di tali molecole ha determinato una drastica riduzione del loro impiego.

Per aumentarne l'efficacia, i sulfonamidi vengono solitamente impiegati assieme al trimetoprim, in quanto tali molecole agiscono a differenti livelli della medesima via metabolica, quindi hanno un'azione sinergica: i batteri vengono quindi inibiti da una concentrazione inferiore delle due molecole combinate rispetto a quella necessaria se venissero utilizzate separatamente.

La resistenza verso i sulfonamidi si sviluppa attraverso la sintesi di enzimi che agiscono permettendo il corretto funzionamento della via metabolica bloccata dai sulfamidici anche in presenza di questi ultimi. Simili meccanismi di resistenza sono stati sviluppati anche nei confronti del trimetoprim. Inoltre la resistenza può essere dovuta all'iperproduzione di PABA o ad un'alterata permeabilità dei microrganismi all'antibiotico.

Chinoloni

L'acido nalidixico rappresenta la prima molecola scoperta all'interno della famiglia dei chinoloni. I fluorochinoloni rappresentano l'evoluzione di tale famiglia, per questo sono definiti anche chinoloni di II generazione, e sono molecole che presentano maggiore attività antibatterica.

Tutti i composti chinolonici inibiscono due enzimi appartenenti alla famiglia delle topoisomerasi responsabili, rispettivamente, dell'isomerizzazione spaziale dell' α -elica (la DNA-girasi) e di mantenere distaccati il filamento stampo e il filamento inerte (topoisomerasi IV). Questi enzimi sono presenti sia nelle cellule batteriche sia in quelle di tutti i mammiferi in isoforme piuttosto conservate; il basso grado di tossicità di queste molecole deriva, prettamente, dal diverso grado di affinità che hanno le topoisomerasi batteriche con i chinoloni e i fluorochinoloni. Nei batteri Gram - il principale target è rappresentato dalla DNA-girasi, mentre la topoisomerasi IV è riconosciuta come target secondario, per i batteri Gram + invece la situazione è opposta. I fluorochinoloni rappresentano gli antibiotici d'elezione per il trattamento di ceppi di *Salmonella* multiresistenti.

La resistenza a tali molecole è di due tipi principali: la resistenza cromosomiale e quella plasmidica.

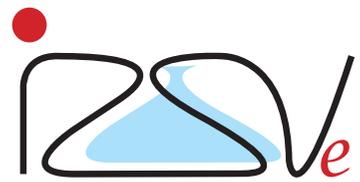
La resistenza cromosomiale si sviluppa spontaneamente quando i microrganismi sono sottoposti a pressione antimicrobica ed è dovuta a mutazioni puntiformi che causano:

1. sostituzioni aminoacidiche a livello della topoisomerasi II (DNA-girasi) e delle subunità IV della *gyrA*, *gyrB*, *parC* o *parE*;
2. diminuita espressione delle porine a livello della membrane esterne;
3. espressione di pompe deputate all'eliminazione degli antibiotici. Le mutazioni localizzate nei geni *gyrA*, *gyrB*, *parC* o *parE*, a livello delle regioni che rappresentano i siti di legame per i fluorochinoloni (denominati *Quinolone Resistance-Determining Region*, QRDR), modificano la struttura delle topoisomerasi impedendo ai fluorochinoloni di legarsi ai propri siti target.

Mutazioni puntiformi provocano resistenza inizialmente sui chinoloni di I generazione (acido nalidixico), quindi se si verificano altre mutazioni, la

resistenza si manifesta anche verso i fluorochinoloni di più recente introduzione (ciprofloxacina). Questo rappresenta un esempio di resistenza definita a step.

Un altro importante meccanismo di resistenza, che è stato descritto per i chinoloni, è quello di tipo plasmidico ed è mediato da geni (*qnr*) codificanti proteine che proteggono la DNA girasi dagli effetti provocati dai fluorochinoloni. Solitamente i plasmidi che veicolano geni di resistenza verso i chinoloni presentano anche determinanti di resistenza verso altri antibiotici.



Istituto Zooprofilattico
Sperimentale delle Venezie

www.izsvenezie.it