

L'altra faccia della medaglia - 1: La sorveglianza degli agenti AMR nel settore degli animali e degli alimenti di origine animale

Antonio Battisti, DVM ECVPH_{PM}

UOC Direzione Operativa Diagnostica Generale

National Reference Laboratory for Antimicrobial Resistance

Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana, Roma

Antimicrobico-resistenza – Cure e Ambiente #4

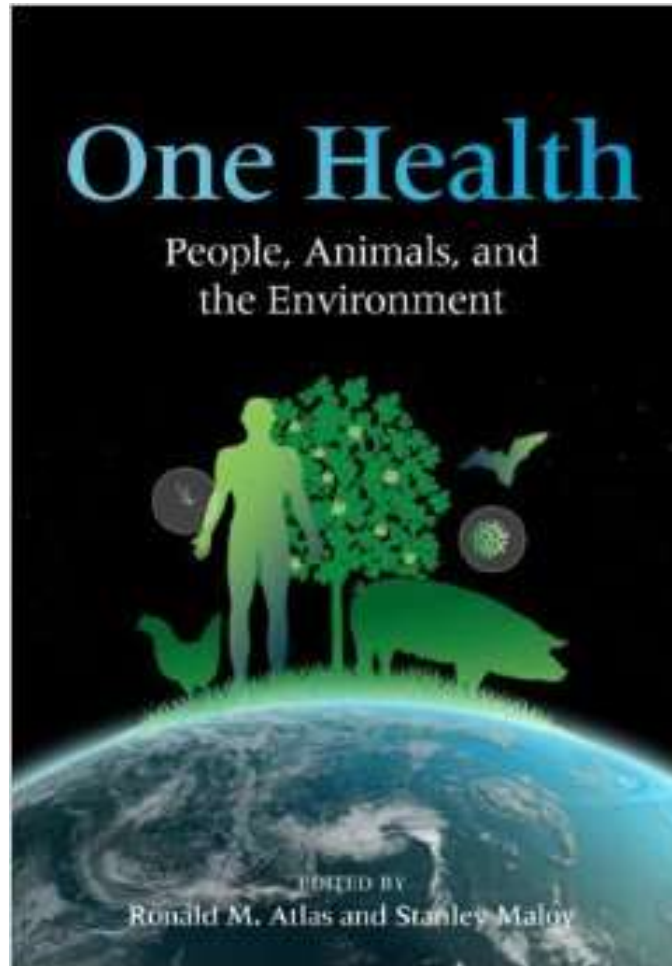
Webinar: «Batteri Connessi»

A cura di ARS Toscana e Servizio Sanitario della Toscana

Il problema dell'AMR e degli agenti AMR & MDR «banco di prova» importante dei concetti di «One Health» e dell'applicazione pratica dei suoi principi

Microbes may be exposed to **environmental selection pressure** (in a “natural” or artificial “niche”), so that new virulence (incl. AMR) traits emerge and are transmitted between animals and humans.

Thus, health of humans also depends upon health of animals and the environment - a concept called One Health.



A. Battisti 2014

“... We need to have an insight into the mechanisms of microbial evolution toward pathogenicity and the many causes behind the emergence of antibiotic resistance....”

Necessità per un “Uso prudente” degli antibiotici per uso veterinario: focus negli animali nell’approccio “One Health”

- Mantenere l’efficacia per poter **continuare a curare le malattie infettive batteriche** degli animali per meglio garantire la produttività dei sistemi di allevamento e la Salute (anche di animali da compagnia)
- Ridurre la pressione di selezione sugli agenti patogeni zoonosici, commensali/opportunisti che **genera emergenza e diffusione di agenti batterici antibioticoresistenti e di elementi genetici di antibioticoresistenza** lungo le filiere produttive.

Questa strategia riduce l’impatto sulla Salute Umana (oltre che sulla Salute Animale) degli agenti AMR e dei geni AMR di origine animale.

AMR come «Zoonosi trasversale» (concetto già in Dir 99/2003/EC)

Priorità nelle Produzioni Animali/Medicina Veterinaria:



- a. Riduzione dei consumi totali (tutte le classi di antibiotici registrati)
- b. Riduzione consumi per mantenimento dell'efficacia ed uso controllato di Critically Important Antimicrobials registrati anche per uso Veterinario

Specialmente degli H(ighest)P(riority)CIAs:

Classi di antibiotici indispensabili per infezioni invasive nell'uomo causate anche da agenti zoonosici emergenti o ad incidenza rilevante (es. Salmonella, Campylobacter, E. coli, Klebsiella etc).

- Cefalosporine a spettro esteso (3th – 4th generation)
- Fluorochinolonici
- Macrolidi :“probably” still used as “feed additives” = growth promoters”
- Colistina (polymyxins)

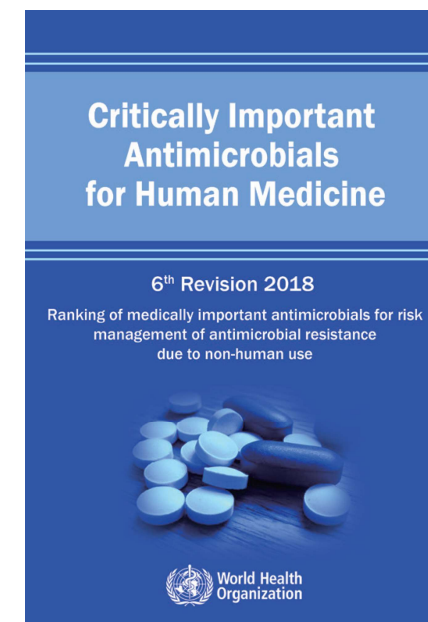
Restricted/controlled use in primary productions?

Table 3. Summary of categorization and prioritization⁴

Antimicrobial class	Criterion / Prioritization Factor				
	C1	C2	P1	P2	P3
CRITICALLY IMPORTANT ANTIMICROBIALS					
<i>Highest Priority Critically Important Antimicrobials</i>					
Cephalosporins (3 rd , 4 th and 5 th generation)	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Glycopeptides	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Macrolides and ketolides	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Polymyxins	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Quinolones	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<i>High Priority Critically Important Antimicrobials</i>					
Aminoglycosides	Yes	Yes	No	Yes	Yes
Ansamycins	Yes	Yes	Yes	Yes	No
Carbapenems and other penems	Yes	Yes	Yes	Yes	No
Glycylcyclines	Yes	Yes	Yes	No	No
Lipopeptides	Yes	Yes	Yes	No	No
Monobactams	Yes	Yes	Yes	No	No
Oxazolidinones	Yes	Yes	Yes	No	No
Penicillins (antipseudomonal)	Yes	Yes	No	Yes	No
Penicillins (aminopenicillins)	Yes	Yes	No	Yes	Yes
Penicillins (aminopenicillins with beta-lactamase inhibitors)	Yes	Yes	No	Yes	Yes
Phosphonic acid derivatives	Yes	Yes	Yes	Yes	No
Drugs used solely to treat tuberculosis or other mycobacterial diseases	Yes	Yes	Yes	Yes	No

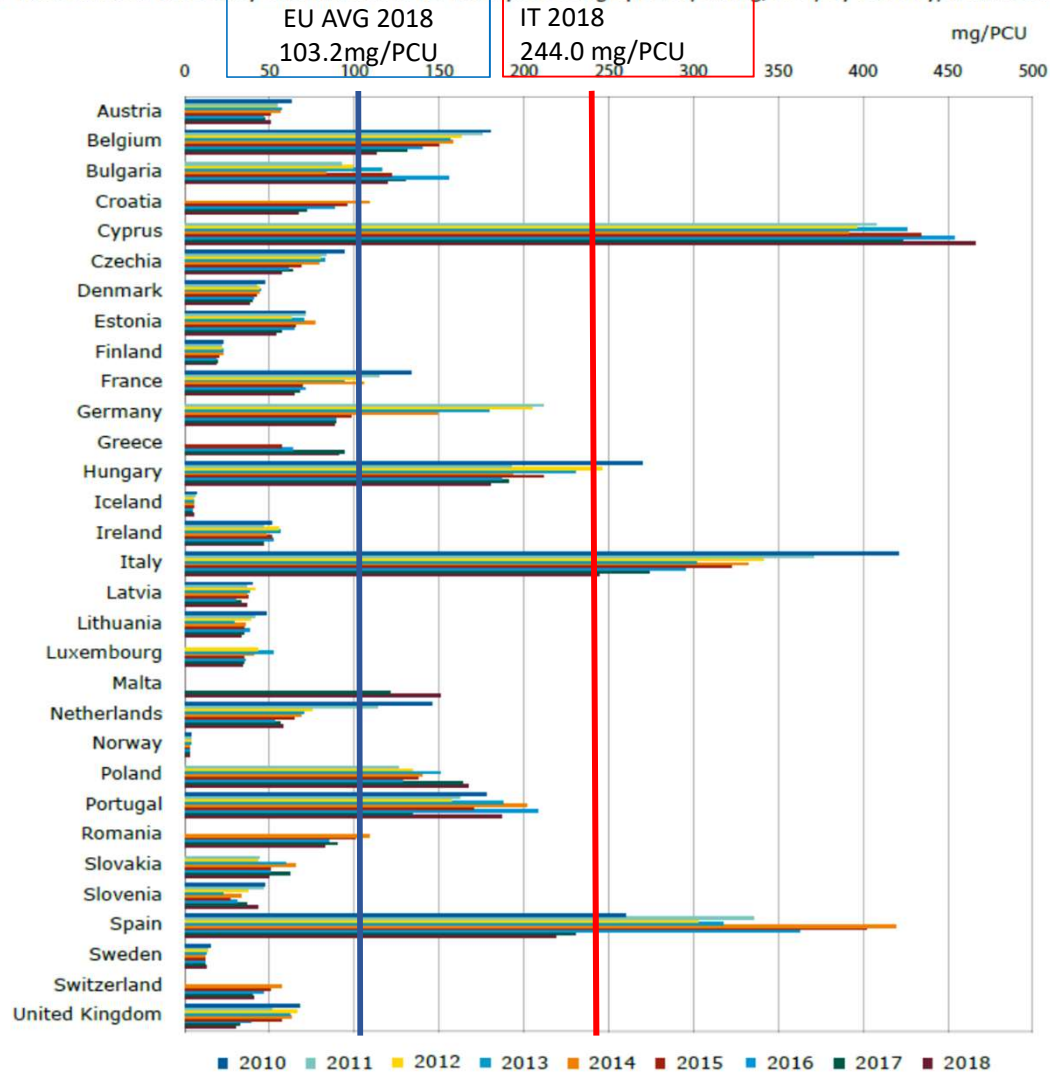
WHO List of CIAs, 2019

Tranne poche (sub)classi (es. carbapenemi, glicopeptidi, oxazolidinoni, glicilglicine, lipopeptidi...) gli ANTIBIOTICI, inclusi gli HPCIA, sono REGISTRATI ANCHE per uso veterinario



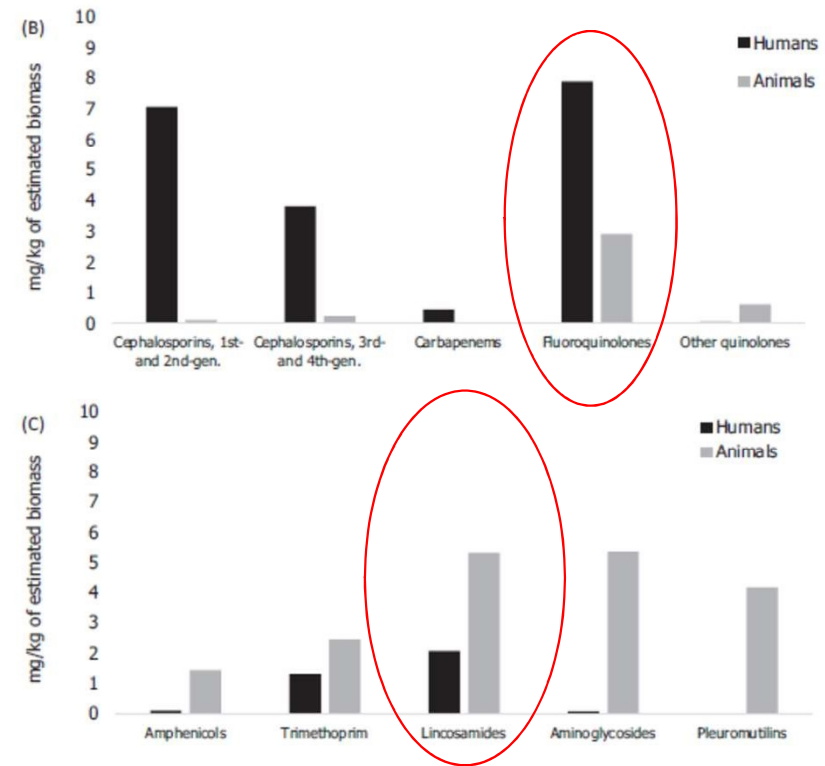
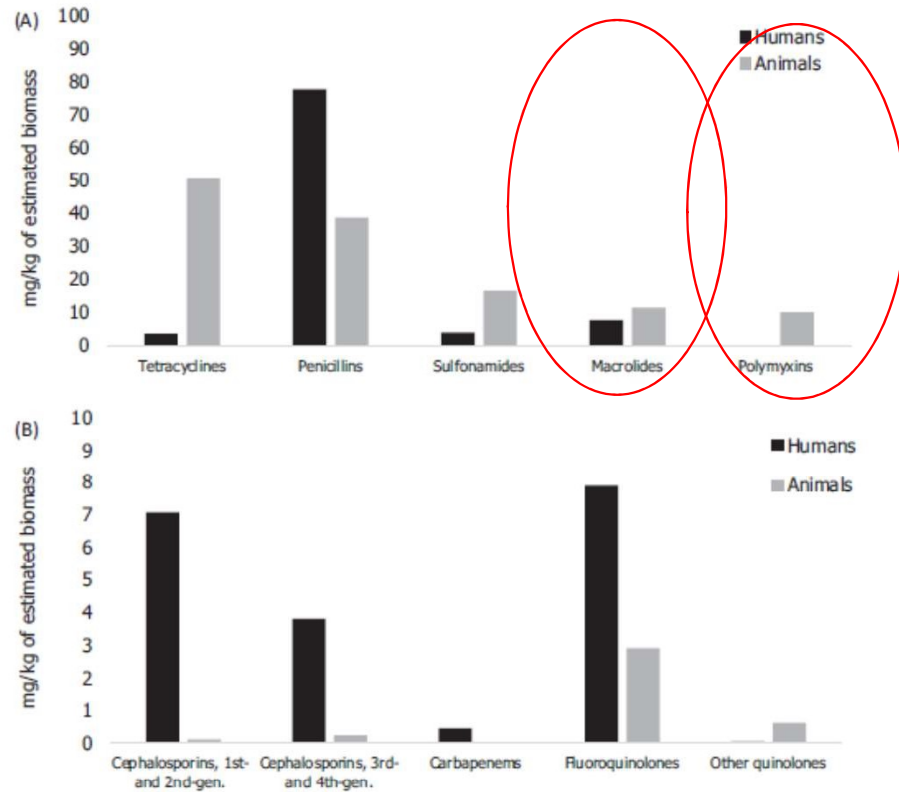
2.8.3. Changes in overall sales in mg/PCU, by country

Figure 26. Total sales of veterinary antimicrobials for food-producing species, in mg/PCU, by country, from 2010 to 2018¹⁻⁹



- Spain 219 mg/PCU
- France 64 mg/PCU,
- NL 57 mg/PCU
- Germany 88 mg/PCU
- UK 29.5 mg/PCU

¹ Corrections to sales data or to PCU data as published in the ESVAC 2017 report are described in Chapter 1.5.



Notes: 1) The y-axis scale differs between the graphs A, B and C.
 2) The estimates presented are crude and must be interpreted with caution. For limitations that hamper the comparison of consumption of antimicrobials in humans and animals, please see Section 14.
 3) Classes not included for human medicine were monobactams (ATC group J01DF), other cephalosporins and penems (J01DI), streptogramins (J01 FG), glycopeptides, imidazoles, nitrofurans, steroid antimicrobials and other antimicrobials (J01XX). Substances not included for food-producing animals were bacitracin (ATCvet group QA07AA93 and QJ01XX10), paromomycin (QJ01GB92) and spectinomycin (QJ01XX04).

Figure 7: Comparison of consumption of selected antimicrobial classes in humans and food-producing animals, EU/EEA MSs, 2014

Migliorare consapevolezza e conoscenza sul problema AMR: **per attuare nella pratica**

- Knowledge, Attitude, Practice (KAP)
- Awareness

Nel settore animale:

Favorire l'incremento di queste attitudini si può, attraverso vari strumenti

- Attitudine a servirsi del Laboratorio per diagnosi eziologica e Test di Sensibilità
- Linee Guida all'interpretazione dei Test di Sensibilità agli Antibiotici nella pratica Clinica
- **Linee Guida all'uso prudente nelle varie linee produttive e nei companion animals**

DIREZIONE OPERATIVA DIAGNOSTICA GENERALE
CENTRO DI RIFERENZA NAZIONALE PER L'ANTIBIOTICORESISTENZA

LINEE GUIDA PER L'INTERPRETAZIONE DELLE PROVE DI SENSIBILITÀ AI CHEMIOANTIBIOTICI IN VITRO PER UN UTILIZZO NELLA TERAPIA CLINICA

I panel impiegati per le prove di Sensibilità agli antibiotici (AST), gestite presso la Direzione Operativa Diagnostica Generale dell'IZSLT, Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza, sono diversamente composti a seconda delle specie e famiglie batteriche oggetto di prova. Includono numerose molecole, alcune delle quali rappresentative di classi o subclassi di antibiotici ("class representative"), e pertanto definibili "molecole prototipo". Le molecole prototipo sono utilizzate per valutare la Sensibilità dell'isolato anche nei confronti delle molecole rappresentate. La composizione di panel che comprendano almeno tali "molecole prototipo" consente di saggiare, con un numero ragionevole di test in vitro per isolato batterico, un range di classi e subclassi di molecole adeguato allo scopo del servizio diagnostico, ed in funzione della terapia. Nella Tabella seguente è compreso un elenco delle molecole prototipo e delle relative molecole rappresentate.

MOLECOLA PROTOTIPO	MOLECOLE RAPPRESENTATE DAL PROTOTIPO
Penicillina G [†]	Penicillina, Penetamato
Ampicillina	Ampicillina, Amoxicillina, Etacillina
Oxacillina	Oxacillina, Meticillina, Cloxacillina, Flucoxacillina, Nafcillina
Amoxicillina + ac. clavulanico [§]	Amoxicillina + ac. clavulanico
Cefalotina	Tutte le Cefalosporine di 1 ^a generazione: Cefalotina, Cefadroxil, Cefalexina, Cefapirina, Cefradina, Cefaclor, (Cefazolina: testare separatamente in Enterobacteriaceae), Cefacettrile, Cefalonio
Ceftiofur (Cefotaxime)	Cefalosporine a spettro esteso, Oximino-cefalosporine (Ceftiofur, Cefoperazone, Cefpodoxime), Cefquinome
[Cefpodoxime]	Cefalosporine a Spettro esteso, Oximino-cefalosporine (Cefpodoxime: cani e gatti)
Clindamicina	Clindamicina, Lincomicina (Pirlimicina)
[Pirlimicina]	Pirlimicina (Clindamicina, Lincomicina)
Cloramfenicolo	Cloramfenicolo (se esito AST è S, l'esito è rappresentativo anche per quello di Florfenicol*)
Tetraciclina	Tetraciclina, Clortetraciclina, Doxyciclina, Minociclina, Oxytetraciclina. Se esito AST è R, esito AST per Doxyciclina potrebbe ancora essere S (<i>Staphylococcus spp.</i>)**
[Doxiciclina]	Doxiciclina, Tetraciclina (vedi sopra)
Trimethoprim-Sulfametoxazolo	Sulfonamidi potenziati con Trimethoprim
Sulfisossazolo (Sulfametoxazolo)	Tutti i Sulfonamidi
Enrofloxacin	Enrofloxacin, Danofloxacin, Ciprofloxacina, Marbofloxacina, Orbifloxacina, Pradofloxacin (fluorochinoloni in genere)
Acido Nalidixico	Acido Nalidixico, Flumequine (chinolonici)
Kanamicina***	Kanamicina, Neomicina (Framicetina)
Gentamicina***	Gentamicina (Tobramicina), Apramicina
Amikacina	Amikacina
Eritromicina	Macrolidi (14-15 membered): Eritromicina, Tulathromicina, Gamithromicina, (Tilosina), (per <i>Staphylococcus spp.</i>)
Tilmicosina	Macrolidi (16-membered): Tilmicosina, Tildipirosina, Spiramicina, Tilosina (Solo per <i>Pasteurellaceae</i> , e. g. <i>M. haemolytica</i> , <i>P. multocida</i> nei ruminanti)
Rifampicina	Rifamicine (Rifampicina, Rifaximina)

Tra [] le molecole che possono essere impiegate in un panel aggiuntivo, da utilizzarsi in serie al primo panel (in caso di un pattern esteso di resistenze rilevate al primo panel)

Linee Guida per impiego di beta-lattamici prototipo nei test di sensibilità per *Staphylococcus* spp. a scopo diagnostico: interpretazione degli esiti a vantaggio della pratica clinica. (rev. 0 del 30/10/2018)

Per *Staphylococcus* spp. CLSI (sia standard veterinario che umano) e EUCAST hanno lo stesso approccio ai test di sensibilità ed alla refertazione dei risultati degli antibiotici beta-lattamici. In breve, per *Staphylococcus* spp. da campioni clinici animali, seguendo lo specifico standard CLSI, il laboratorio diagnostico veterinario **può limitarsi a testare soltanto:**

a. (benzil)penicillina

b. cefoxitina¹ per *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus lugdunensis*

c. oxacillina¹ per *S. pseudintermedius* e *S. schleiferi*

(benzil)penicillina deve essere utilizzata come rappresentante per testare la suscettibilità di *Staphylococcus* spp. verso tutte le penicilline penicillinasi-labili (per esempio penicillina, aminopenicilline). CLSI include anche la possibilità di testare la suscettibilità di ampicillina (come rappresentante di aminopenicilline), che comunque non è strettamente necessaria, rispetto allo schema su riportato.

Quindi, qualora un isolato di *Staphylococcus* spp. sia Sensibile alla benzilpenicillina e alla cefoxitina o all'oxacillina (nelle specie batteriche sopra elencate), è da riportarsi come Sensibile alla benzilpenicillina, alla fenossimetilpenicillina (penicillina V), al penetamato, (ed anche alle aminopenicilline, es. ampicillina, amoxicillina)

Antibiotico saggiato (esito prodotto in DD o MIC) ¹	Esito atteso per: <i>Staphylococci</i> Non-produttori di penicillinasi	Sensibilità (per un uso clinico appropriato) anche a:
Penicillina	Sensibile	1. penicilline (es. penicillina G, penicillina V, penetamato); 2. aminopenicilline (ampicillina, amoxicillina)
Cefoxitina (<i>S. aureus</i> , <i>S. lugdunensis</i>) Oxacillina (<i>S. pseudintermedius</i> , <i>S. schleiferi</i>)	Sensibile	



NEWS

IL CENTRO DI REFERENZA
NAZIONALE CRN-AR E
NATIONAL REFERENCE
LABORATORY NRL-AR

ANTIBIOTICORESISTENZA

I SISTEMI INFORMATIVI DEL
CRAB

RICERCA

PUBBLICAZIONI

LINEE GUIDA E STRUMENTI

Linee Guida sull'uso prudente
degli antibiotici

Linee guida per l'interpretazione
delle prove di sensibilità ai
chemioantibiotici in vitro per un
utilizzo nella terapia clinica

Resistenze intrinseche in batteri di
interesse veterinario

Fenotipi di resistenza eccezionali

Vademecum per un uso prudente
e razionale degli antibiotici nelle
produzioni zootecniche

Strumenti diagnostici e test di
sensibilità agli antibiotici
nell'approccio alla terapia della
mastite bovina

LINEE GUIDA PER L'INTERPRETAZIONE DELLE PROVE DI SENSIBILITÀ AI CHEMIOANTIBIOTICI IN VITRO PER UN UTILIZZO NELLA TERAPIA CLINICA

Linee guida per l'interpretazione delle prove di sensibilità ai chemioantibiotici *in vitro* per un utilizzo nella terapia clinica

I panel impiegati per le prove di Sensibilità ai chemioantibiotici, gestite presso la Direzione Operativa Diagnostica Generale dell'IZSLT, Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza, sono diversamente composti a seconda delle specie e famiglie batteriche oggetto di prova. Includono numerose molecole, alcune delle quali rappresentative di classi o subclassi di chemioantibiotici ("class representative"), e pertanto definibili "molecole prototipo".

Le molecole prototipo, sono utilizzate per valutare la Sensibilità dell'isolato anche nei confronti delle molecole rappresentate. La composizione di panel che comprendano almeno tali "molecole prototipo" consente di saggiare, con un numero ragionevole di test in vitro per isolato batterico, un range di classi e subclassi di molecole adeguato allo scopo del servizio diagnostico, ed in funzione della terapia.

Nella Tabella seguente è compreso un elenco delle molecole prototipo e delle relative molecole rappresentate.

Molecole prototipo e loro equivalenti in vitro

Linee Guida per impiego di beta-lattamici prototipo nei test di sensibilità per Staphylococcus spp. a scopo diagnostico: interpretazione degli esiti a vantaggio della pratica clinica

«Guidelines and tools» section:

A variety of useful information for **Veterinary laboratories** dealing with diagnosis of (bacterial) diseases in animals and for **Veterinary practitioners** who are willing to enhance their attitude to the use of diagnostic laboratory for a **laboratory diagnosis and Antimicrobial Susceptibility Testing**
Rationale and practical support for an informed decision on susceptibility and on which antibiotic is to be used



NEWS

IL CENTRO DI REFERENZA
NAZIONALE CRN-AR E
NATIONAL REFERENCE
LABORATORY NRL-AR

ANTIBIOTICORESISTENZA

I SISTEMI INFORMATIVI DEL
CRAB

RICERCA

PUBBLICAZIONI

LINEE GUIDA E STRUMENTI

PIANO MONITORAGGIO
RESISTENZA ANTIMICROBICA:

"PILLOLE" PER IL VETERINARIO
PRATICO

LINEE GUIDA SULL'USO PRUDENTE DEGLI ANTIBIOTICI

La Regione Emilia - Romagna, con Nota regionale n. 419182 del 07 giugno 2018 ha ufficializzato le Linee Guida sull'uso prudente dell'antibiotico nell'allevamento suino, bovino e negli animali da compagnia.

**Linee Guida sull'uso prudente in:
Bovini da latte, suini, animali da compagnia**

<http://www.alimenti-salute.it/taxonomy/term/1230>

Il risultato raggiunto è stato frutto di un lavoro multidisciplinare che ha coinvolto tecnici di Istituti Zooprofilattici Sperimentali, Aziende Usl regionali, Università di Bologna e Veterinari Liberi Professionisti, con la revisione e l'approvazione da parte del Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza (CRAB); i tre documenti sono stati presentati anche al Ministero della Salute e al Coordinamento Interregionale, in attesa dell'approvazione da parte della Conferenza Stato-Regioni, **con l'ottica di diventare un punto di riferimento a livello nazionale.**

[Linee Guida Uso dell'antibiotico nell'allevamento bovino da latte](#)

[Linee Guida Uso degli antibiotici nell'allevamento suino](#)

[Linee Guida Uso dell'antibiotico negli animali da compagnia](#)

Le Linee Guida rappresentano strumenti pratici importanti, di indubbia utilità nell'ambito delle attività del Piano Nazionale di Contrasto dell'Antibioticoresistenza nel settore animale.

http://www.salute.gov.it/portale/documentazione/p6_2_2_1.jsp?lingua=italiano&id=2660

NEWS

IL CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE CRN-AR E NATIONAL REFERENCE LABORATORY NRL-AR

ANTIBIOTICOESISTENZA

I SISTEMI INFORMATIVI DEL CRAB

RICERCA

PUBBLICAZIONI

LINEE GUIDA E STRUMENTI

PIANO MONITORAGGIO RESISTENZA ANTIMICROBICA:

"PILLOLE" PER IL VETERINARIO PRATICO

ANTIMICROBICO RESISTENZA INDICAZIONI COGENTI (NOTA MINSAL)

"PILLOLE" PER IL CONSUMATORE

EVENTI

LINK UTILI

COLLABORAZIONI

CONTATTI

Cerca nel sito



"PILLOLE" PER IL VETERINARIO PRATICO

Le "pillole" sono pensate per fornire al Veterinario pratico informazioni indipendenti su aspetti critici relativi ad alcune classi e sottoclassi di antibiotici registrati per uso veterinario, con l'auspicio di contribuire alla consapevolezza su argomenti prioritari di resistenze agli antibiotici e alla sensibilizzazione circa i "principi di uso prudente" negli animali.

Colistina e uso orale nelle Produzioni Animali

La colistina è un antibiotico appartenente alla classe delle polimixine. Nel documento del WHO List of Critically Important Antimicrobials for Human Medicine* https://www.who.int/foodsafety/areas_work/antimicrobial-resistance/cia/en/ la colistina è classificata tra gli **Highest Priority Clinically Important Antimicrobials** (Antibiotici di Importanza Critica a più alta priorità).

E' divenuto negli ultimi anni antibiotico di ultima risorsa, ad utilizzo ospedaliero, ancora in grado di curare nell'Uomo malattie da infezioni sistemiche da batteri della famiglia *Enterobacteriaceae* (es. *Klebsiella*, *E. coli*) che risultano resistenti a quasi tutte le classi di antibiotici, inclusi i carbapenemi (definiti in tal caso **Extremely Drug-Resistant, XDR**). Purtroppo, in Italia agenti XDR risultano spesso causa delle cosiddette "Infezioni Correlate all'Assistenza" a livello nosocomiale, con un impatto molto rilevante sulla salute pubblica.

Nel settore veterinario in Italia, la quasi totalità della colistina venduta (vedi dati ESVAC) è in formulazioni per uso orale, tipicamente utilizzate nelle somministrazioni "di massa" (somministrazione di gruppo), con l'acqua di bevanda o il mangime.

E' da sottolineare tuttavia che la colistina, allorché viene somministrata per uso orale, non viene assorbita in dosi minimamente associabili a quelle terapeutiche necessarie a trattare infezioni extra-intestinali.

Pertanto, l'uso per via orale negli animali (ed in particolar modo negli animali zootecnici), è ingiustificato, perché inefficace, se lo scopo è quello di trattare gli animali per malattie batteriche non intestinali (es. malattie batteriche in altri organi o apparati, malattie batteriche sistemiche).

E ciò è vero anche qualora questi batteri risultassero sensibili alla colistina nei test di sensibilità (come ad es. in un referto di laboratorio).

Particolarmente ingiustificato, inoltre è l'utilizzo per via orale della colistina in quelle specie zootecniche, **come il pollo,** in cui non è neanche mai stata descritta una malattia batterica intestinale da *Escherichia coli*.

* WHO List of Critically Important Antimicrobials for Human Medicine (Ranking of medically important antimicrobials for risk management of antimicrobial resistance) due to non-human use), 5th rev. released in 2017. https://www.who.int/foodsafety/areas_work/antimicrobial-resistance/cia/en/

 Aminoglicosidi: caratteristiche farmacologiche e uso orale

Aminoglicosidi: spettro di utilizzo ed esempi di uso non prudente

Aminoglicosidi, Cefalosporine di I e II generazione e Salmonellosi

Penicilline naturali vs Aminopenicilline

Uso prudente dei beta-lattamici nelle malattie da *Streptococcus suis* del suino

Macrolidi per uso orale e loro impiego nelle Produzioni Animali

Macrolidi per uso orale e allevamento suino

Antibiotici non efficaci clinicamente in vivo nei confronti di *Enterococcus spp.*

Cloramfenicolo, Tiamfenicolo e uso per via orale negli animali zootecnici

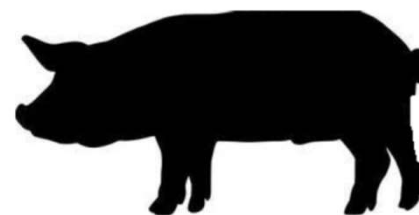
LINEE GUIDA

Uso prudente
dell'antibiotico
nell'allevamento
bovino da latte



LINEE GUIDA

Uso prudente degli
antibiotici
nell'allevamento suino



DECISIONS

The AMR Monitoring system in the EU, in food-producing animal populations...
Repealed by Dec 1729/2020 (01 Jan 2021)

COMMISSION IMPLEMENTING DECISION
of 12 November 2013

on the monitoring and reporting of antimicrobial resistance in zoonotic and commensal bacteria

(notified under document C(2013) 7145)

(Text with EEA relevance)

(2013/652/EU)

THE EUROPEAN COMMISSION,

Having regard to the Treaty on the Functioning of the European Union,

Having regard to Directive 2003/99/EC of the European Parliament and of the Council of 17 November 2003 on the monitoring of zoonoses and zoonotic agents, amending Council Decision 90/424/EEC and repealing Council Directive 92/117/EEC ⁽¹⁾, and in particular Article 7(3) and the fourth subparagraph of Article 9(1) thereof,

put in place a five-year action plan to fight against AMR based on 12 key actions, including strengthened surveillance systems on AMR.

- (4) In the Council Conclusions of 22 June 2012 on the impact of antimicrobial resistance in the human health sector and in the veterinary sector — a One Health Perspective ⁽³⁾, that Institution calls upon the Commission to follow up on its Communication of 15 November 2011 through concrete initiatives to implement the 12 actions set out in that Communication, and to collaborate closely with the European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), the European Food Safety Authority (EFSA) and the European Medicines Agency (EMA) in strengthening the assessment and evaluation of the occurrence of AMR in humans, in animals and in food in the Union.

Subject matter and scope

1. This Decision lays down detailed rules for the harmonised monitoring and reporting of antimicrobial resistance (AMR) to be carried out by Member States in accordance with Article 7(3) and 9(1) of Directive 2003/99/EC and Annex II (B) and Annex IV thereto.

That monitoring and reporting shall cover the following bacteria obtained from samples from certain food-producing animal populations and certain food:

(a) *Salmonella* spp.;

(b) *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* (*C. jejuni* and *C. coli*);

(c) Indicator commensal *Escherichia coli* (*E. coli*);

(d) Indicator commensal *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* (*E. faecalis* and *E. faecium*).

2. This Decision lays down specific requirements for the harmonised monitoring and reporting of the *Salmonella* spp., and *E. coli* producing the following enzymes in certain food-producing animal populations and in certain food:

(a) Extended-Spectrum β -Lactamases (ESBL);

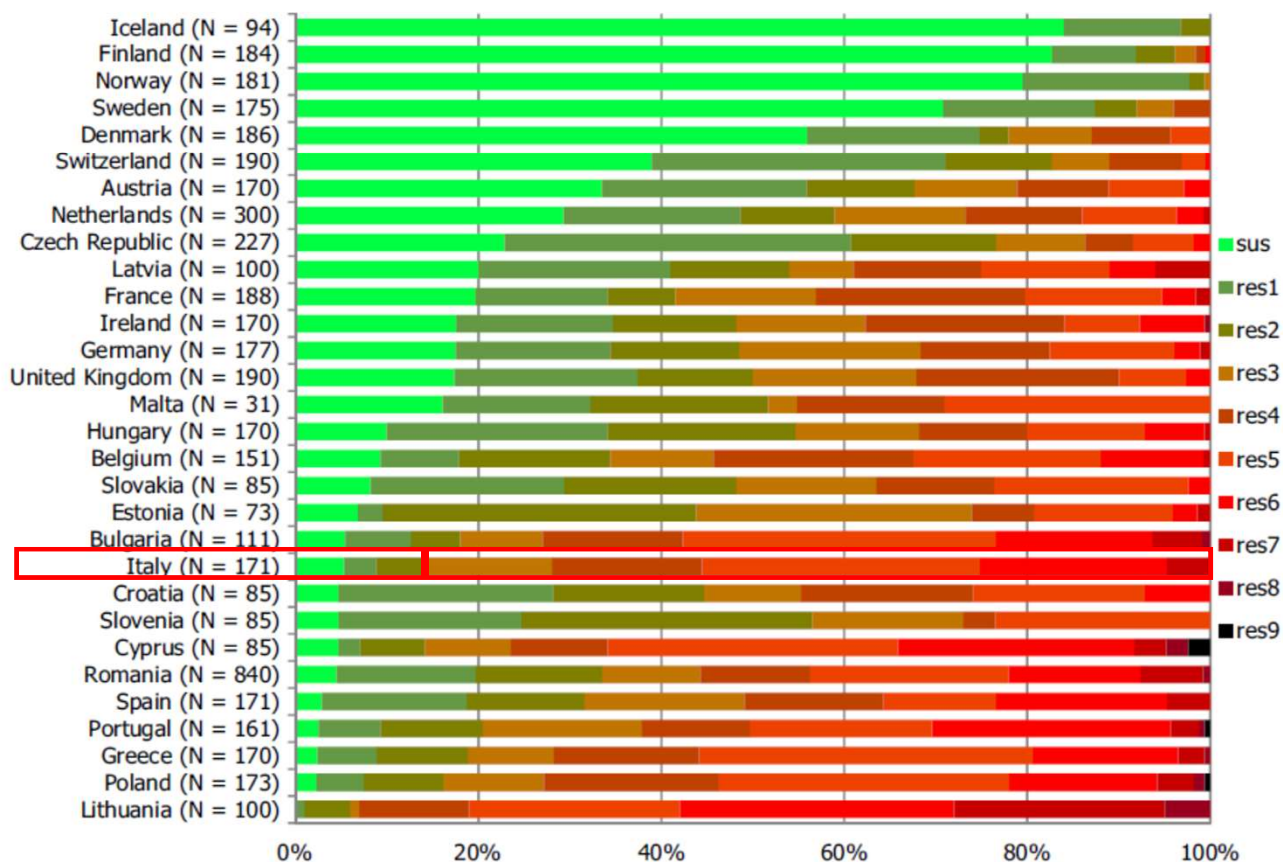
(b) AmpC β -Lactamases (AmpC);

(c) Carbapenemases.

MAINLY “ACTIVE MONITORING” AT DIFFERENT STAGES...

Voluntary for EU MS...

Multidrug-resistant isolates (MDR) (i.e. resistant to three or more antimicrobial classes) were reported from all countries, except from Iceland, where none of the reported isolates was resistant to more than two antimicrobials. Among the countries reporting MDR isolates, the proportions varied markedly, being the highest in Lithuania (94.0%) and the lowest in Norway (0.6%) (Table COMESCHEBR).



N: total number of isolates tested for susceptibility against the whole harmonised set of antimicrobials for *Escherichia coli*; sus: susceptible to all antimicrobial classes of the harmonised set for *E. coli*; res1–res9: resistance to 1 up to 11 antimicrobial classes of the harmonised set for *E. coli*.

LA RIDUZIONE COMPLESSIVA dell'uso di tutte le classi e subclassi di antibiotici ha lo scopo di consentire alla popolazione «pienamente suscettibile» di riprodursi in modo differenziale e di «tornare ad essere prevalente» nel corso degli anni...)

In Italia nel 2016:
5% «Fully Susceptible» vs
85% MultiDrugResistant...

A complementary approach to data interpretation

Piano Nazionale Contrasto AMR 2016-2020

Strategia italiana nel settore umano

L'obiettivo in questo settore è la riduzione (nel 2020 rispetto al 2016: 4 anni) del:

- consumo di antibiotici sistemici >10% in ambito territoriale e >5% in ambito ospedaliero,
- consumo territoriale e ospedaliero di fluorochinoloni (riduzione >10%),
- prevalenza di *S. aureus* meticillino-resistenti negli isolati da sangue (riduzione >10%),
- prevalenza di Enterobatteri produttori di carbapenemasi (CPE) negli isolati da sangue (riduzione >10%).

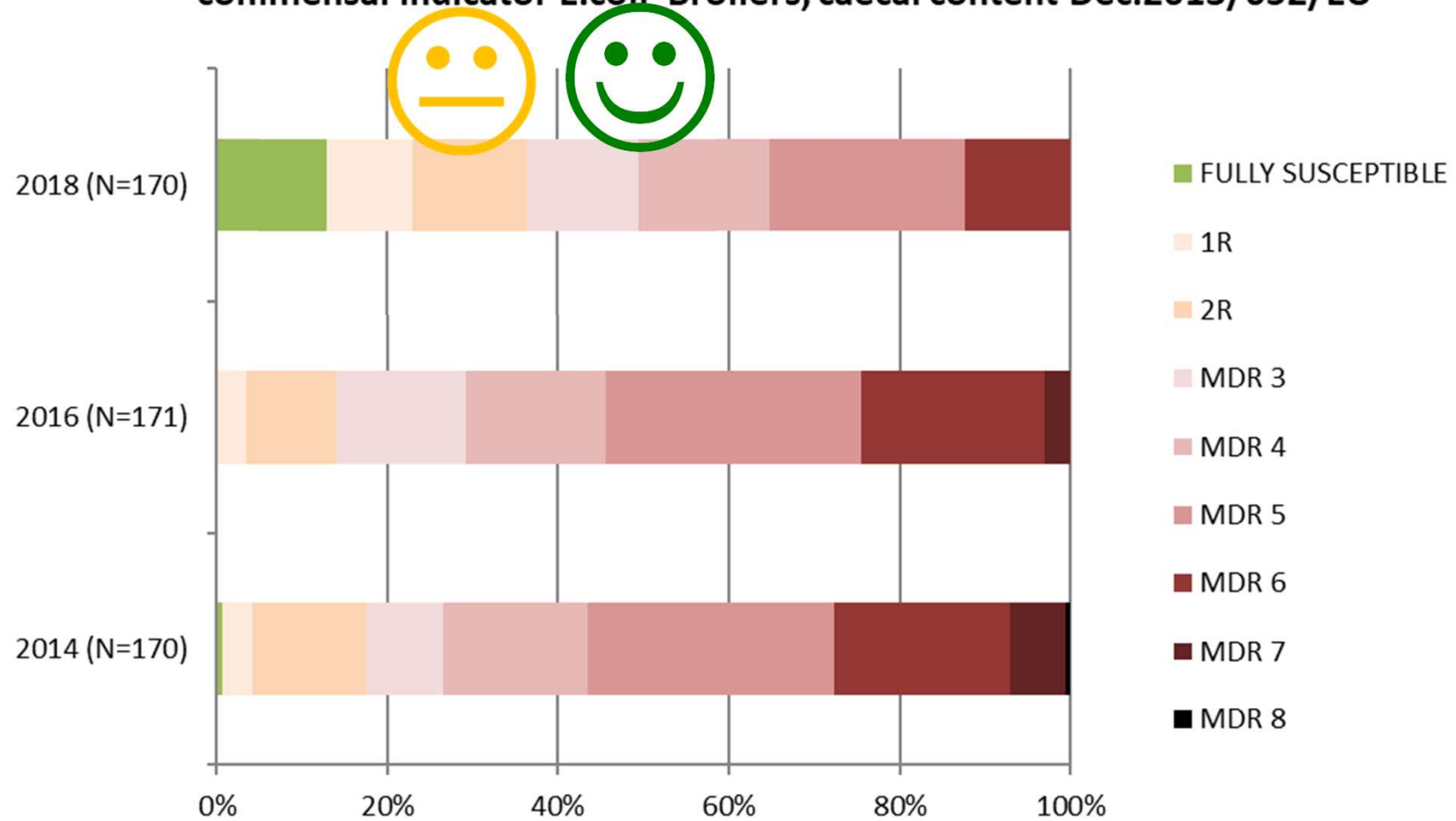
Strategia italiana nel settore veterinario:

Focus sulla riduzione dell'uso degli antibiotici!

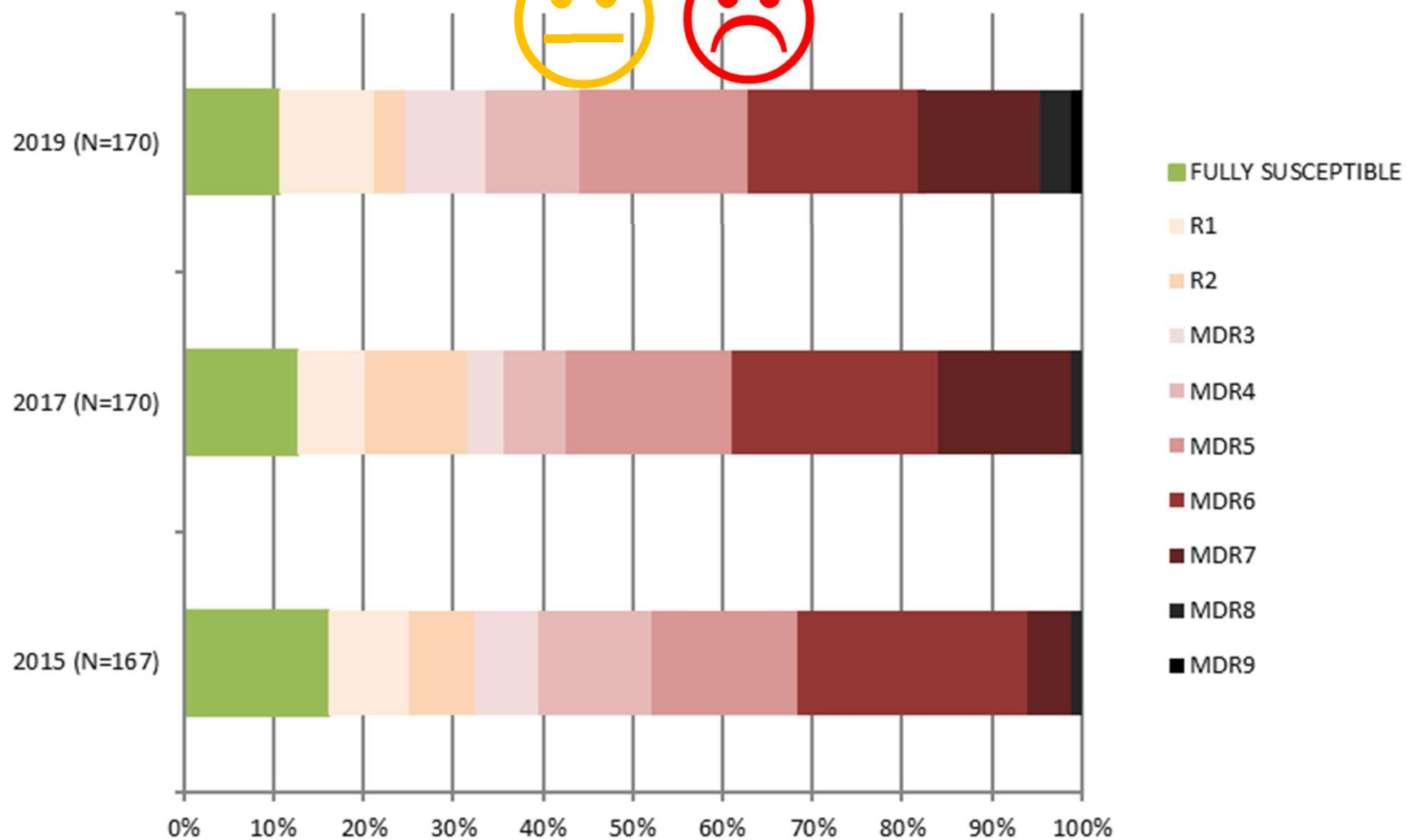
L'obiettivo in questo settore è la riduzione (nel 2020 rispetto al 2016: 4 anni):

- - **30% del consumo di antibiotici (riduzione complessiva, tutte le classi)**
- - 10% del consumo dei *Critically Important Antimicrobials* (leggi HPClAs...),
- Giungere ad (almeno) 5 mg/PCU del consumo di colistina,
- - 30% del consumo di antibiotici nelle formulazioni farmaceutiche per via orale.

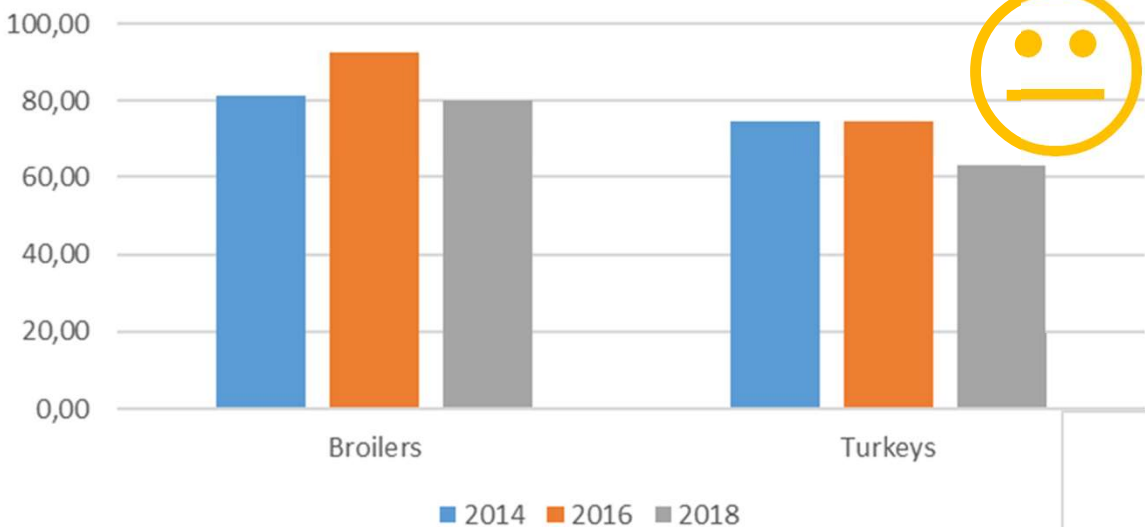
**Multidrug-resistant isolates (MDR, 3+R)
commensal indicator E.coli Broilers, caecal content Dec.2013/652/EU**



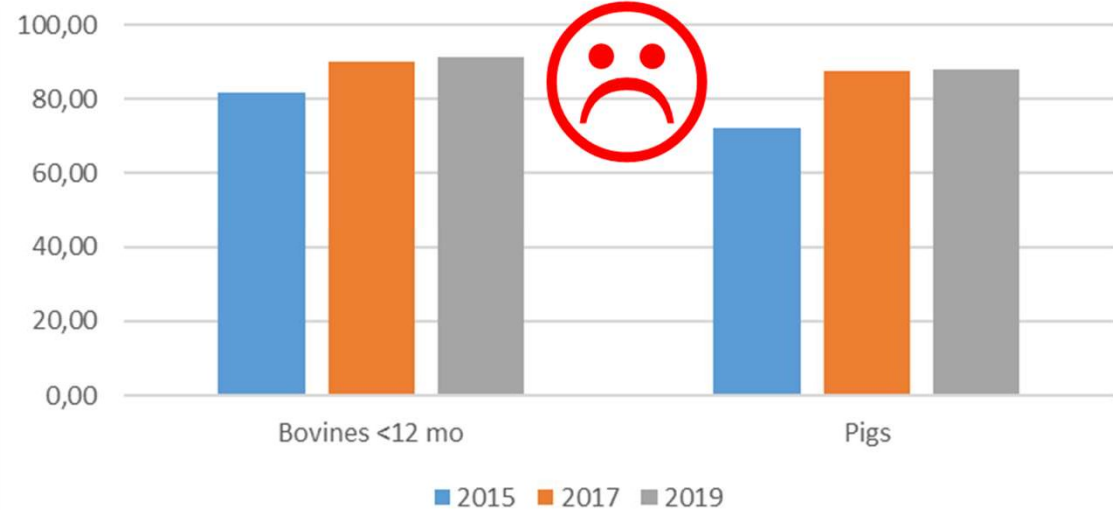
Multidrug-resistant isolates (MDR, 3+R)
commensal indicator E.coli - Pigs, caecal content, Dec. 2013/652/EU



Broilers & Turkeys: Prevalence epi units
ESBL/AmpC producing Ecoli, Italy 2014-2018



Bovines <12 mo & Pigs: Prevalence epi units
ESBL /AmpC producing Ecoli, Italy, 2015-2019

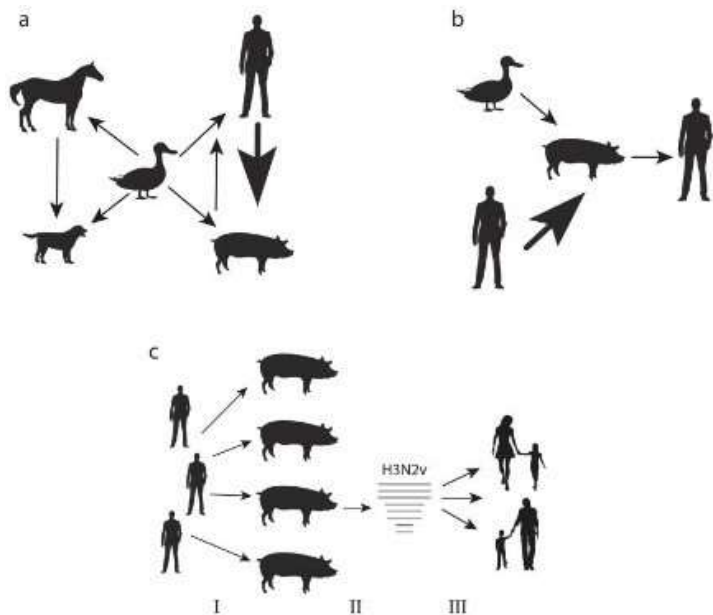


AMR come «Zoonosi trasversale» (principio già in Dir 99/2003/EC)

Definizione «moderna» di Zoonosi:

Malattia da agenti infettivi trasmissibili «tra animali e Uomo»

Keywords: «Bidirezionalità e di Circolarità» delle Zoonosi



S. aureus e MRSA: i principali cloni negli animali derivano da cloni umani, che dagli animali possono ritrasmettersi nell'Uomo, e nelle PA più intensive spesso **MDR, incluse co-resistenze verso HPCIAS**



EMIDA ERA-Net First transnational Research Call “LA-MRSA” Project

(“Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages in primary productions: **multi-host pathogen, spill-over and spill-back between animals and humans?**”)

Coordinated by UOC D. O. Diagnostica Generale, IZSLT, Roma, CRN-AR, NRL-AR, Italy

EMIDA-Funded Projects Review Meeting
Bruxelles 24 September 2013



Tracciare ed investigare trasferimento di agenti AMR e determinanti AMR

- Le evidenze nel settore AMR sono indispensabili per orientare le raccomandazioni di Sanità Pubblica e orientare le Risk Management Options.
- Evidenze «di laboratorio» supportano le indagini epidemiologiche (e sempre più spesso orientano verso le ipotesi più plausibili da testare o confermare in modo prioritario)
- Studi di popolazione per valutare il grado di penetrazione di alcune Resistenze di cui è nota o «accettata» l'origine animale, o quella umana...
- **1) Low Resolution Methods, 2) Medium Resolution Methods, 3) High Resolution Methods** si sono succeduti negli anni (applicazioni tecnologiche della Ricerca e del progresso scientifico)
- **Con l'avvento della Genomica e del Sequenziamento Massivo (HTS) e bioinformatica, i primi non sono ritenuti più adeguati....**
- **Il focus sugli animali degli aspetti zoonosici dell'AMR non può essere l'unico, nell'approccio «One Health»... In alcuni casi è dimostrato il percorso contrario.... Da Uomo a animale**

Extended-Spectrum-Beta-Lactamases, AmpC Beta-Lactamases and Plasmid Mediated Quinolone Resistance in *Klebsiella* spp. from Companion Animals in Italy

Valentina Donati, Fabiola Feltrin, Rene S. Hendriksen, Christina Aaby Svendsen, Gessica Cordaro, Aurora Garcia-Fernández, Serena Lorenzetti, Raniero Lorenzetti, Antonio Battisti, Alessia Franco

Published: March 4, 2014 • <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090564>

«HUMAN



»ANIMAL»?

Article	Authors	Metrics	Comments	Media Coverage
▼				

- Abstract
- Introduction
- Materials and Methods
- Results
- Discussion
- Acknowledgments
- Author Contributions
- References
- Reader Comments (0)
- Media Coverage (0)
- Figures

Abstract

We report the genetic characterization of 15 *Klebsiella pneumoniae* (KP) and 4 isolates of *K. oxytoca* (KO) from clinical cases in dogs and cats and showing extended-spectrum cephalosporin (ESC) resistance. Extended spectrum beta-lactamase (ESBL) and AmpC genes, plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) and co-resistances were investigated. Among KP isolates, ST101 clone was predominant (8/15, 53%), followed by ST15 (4/15, 27%). ST11 and ST340, belonging to Clonal Complex (CC)11, were detected in 2012 (3/15, 20%). MLST on KP isolates corresponded well with PFGE results, with 11 different PFGE patterns observed, including two clusters of two (ST340) and four (ST101) indistinguishable isolates, respectively. All isolates harbored at least one ESBL or AmpC gene, all carried on transferable plasmids (IncR, IncFI, IncI1, IncN), and 16/19 were positive for PMQR genes (*qnr* family or *aac(6)-Ib-cr*). The most frequent ESBL was CTX-M-15 (11/19, 58%), detected in all KP ST101, in one KP ST15 and in both KP ST340. *bla*_{CTX-M-15} was carried on IncR plasmids in all but one KP isolate. All KP ST15 isolates harbored different ESC resistance genes and different plasmids, and presented the non-transferable *bla*_{SHV-28} gene, in association with *bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{CTX-M-1} (on IncR, or on IncN), *bla*_{SHV-2a} (on IncR) or *bla*_{CMY-2} genes (on Inc1). KO isolates were positive for *bla*_{CTX-M-9} gene (on IncH2), or for the *bla*_{SHV-12} and *bla*_{DHA-1} genes (on IncLM). They were all positive for *qnr* genes, and one also for the *aac(6)-Ib-cr* gene. All *Klebsiella* isolates showed multiresistance towards aminoglycosides, sulfonamides, tetracyclines, trimethoprim and amphenicols, mediated by *strAB*, *aadA2*, *aadB*, *ant(2'')-Ia*, *aac(6)-Ib*, *sul*, *tet*, *dfp* and *cat* genes in various combinations. The emergence in pets of multidrug-resistant *Klebsiella* with ESBL, AmpC and PMQR determinants, poses further and serious challenges in companion animal therapy and raise concerns for possible bi-directional transmission between pets and humans, especially at household level.

48 Save	33 Citation
5,165 View	1 Share

Download PDF

Print Share

Check for updates

ADVERTISEMENT

Subject Areas

- Antimicrobial resis...
- Cats
- Klebsiella infections
- Pets and companio...
- Italy
- Dogs
- Klebsiella pneumo...
- Plasmids

Archived Tweets

Surveillance of AMR *Klebsiella* spp in pets Dogs and cats: sample size: 1555 dogs & 429 cats (clinical samples & necropsies: n=70 isolates)

Origin of ESC-resistant *Klebsiella*

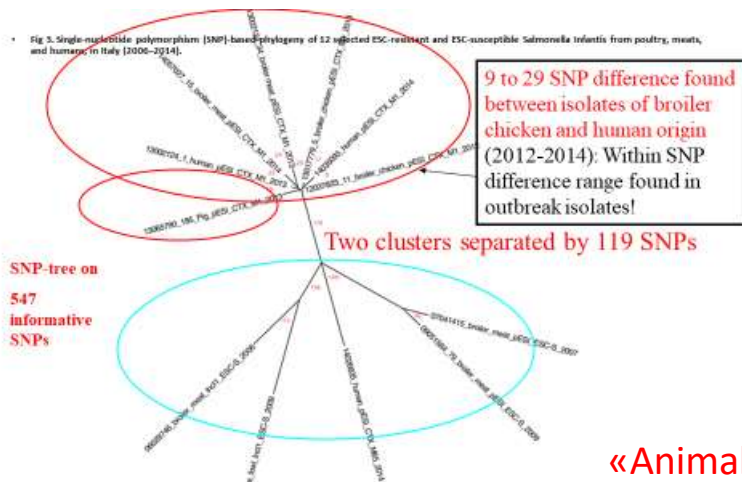
Between 2006 and 2012, the Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana (IZSLT) investigated samples from 1555 dogs and 429 cats of clinical cases and necropsy specimens with suspicious bacterial infections, submitted by veterinarians practising mainly in central Italy, and some practising in northern Italy. Presumptive positive *Klebsiella* isolates were identified using the API 20E identification system (bioMérieux, Craponne, France). For species-level identification of isolates with phenotypic inconclusive results 16S rDNA sequencing technique was employed, by means of the MicroSeq Full Gene system (Applied Biosystems, USA) as described previously [13].

Genotypic characterization

Multilocus Sequence Typing on KP isolates was performed as previously described [14], and interpreted according to the KP MLST database (www.pasteur.fr/mlst).

In addition, all isolates were genotyped by PFGE using *Xba*I according to the previously published protocol [15].

Medium Resolution Study: Cluster analysis, PFGE & microarray for hundreds of genetic markers



Franco A, Leekitcharoenphon P, Feltrin F, Alba P, Cordaro G, et al. (2015) Emergence of a Clonal Lineage of Multidrug-Resistant ESBL-Producing *Salmonella* infantis Transmitted from Broilers and Broiler Meat to Humans in Italy between 2011 and 2014. *PLoS ONE* 10(12): e0144802. doi:10.1371/journal.pone.0144802 <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0144802>



High Resolution Studies (2015-2020): Whole Genome Sequencing (WGS), Bioinformatics for SNP-based Phylogeny of the Bacterial host and the Plasmid, and for virulence, fitness, AMR genes:
The example of Salmonella Infantis in Italy & Europe

«Animal → Human»!

Transferable resistance to colistin (*mcr* genes) in the ESBL-producing *Salmonella* infantis clone in the broiler industry, Italy

Journal: *Front Microbiol* | Volume: 8 | Article ID: 1021858 | DOI: 10.3389/fmicb.2017.01858

frontiers in Microbiology

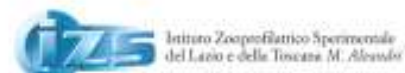
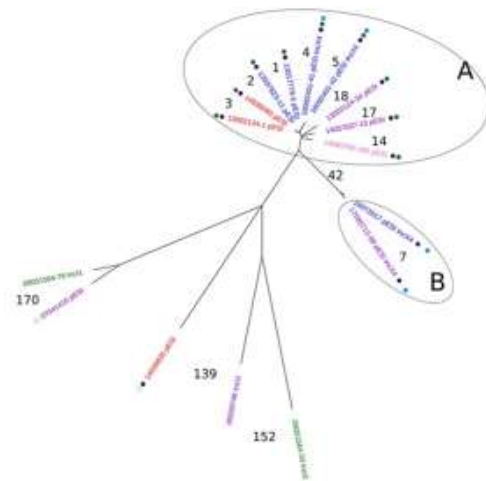
Colistin Resistance Mediated by *mcr-1* in ESBL-Producing, Multidrug Resistant *Salmonella* infantis in Broiler Chicken Industry, Italy (2016–2017)

Virginia Capella, Patricia Alba, Filippos Leekitcharoenphon, Daniele Barfani, Giuseppina Contino, Paola Di Matteo, Valentina Duranti, Angela Iannace, Mariavita Iannace, Eleonora Scaroni, Yama Singhania, Antonio Rattini, and Alessia Ferraro

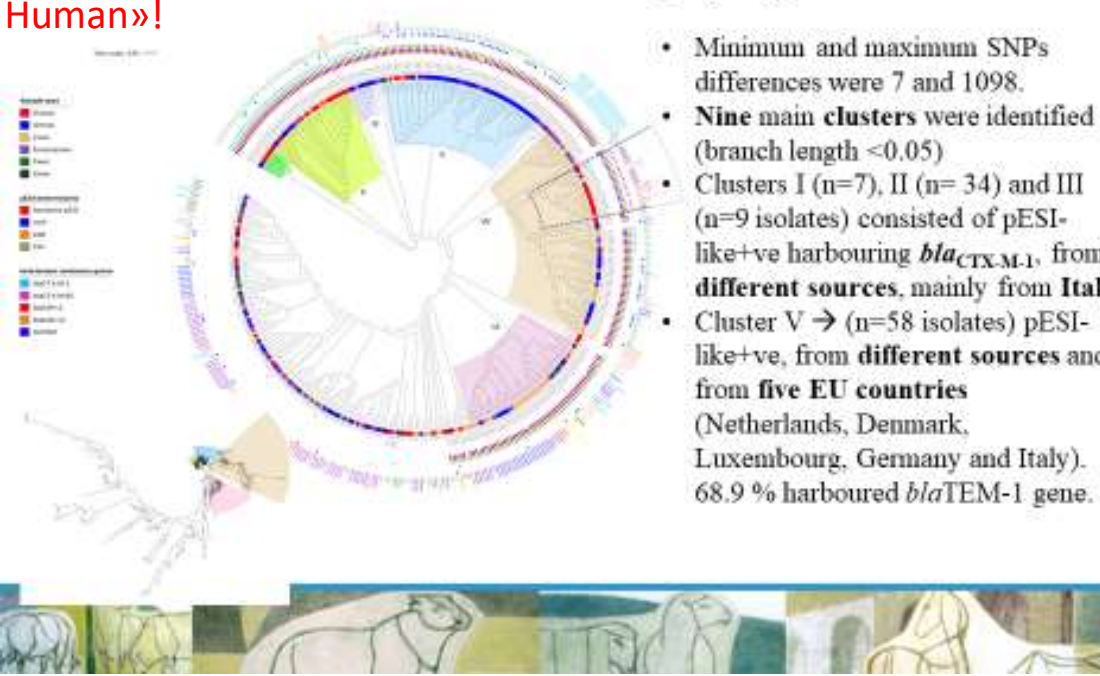
Abstract

Colistin resistance mediated by mobilisable and plasmid-borne *mcr* genes has emerged worldwide, threatening the efficacy of colistin, a last resort antibiotic increasingly used for treating human invasive infections by multidrug-resistant or extensively drug-resistant *Enterobacteriaceae*. In this study, we report the first evidence of *mcr-1*-mediated colistin resistance in four multidrug resistant (MDR) out of 124 *Salmonella* infantis from the Italian antimicrobial resistance (AMR) monitoring (2001–2017) in broilers and broiler meat. Two were also Extended Spectrum Beta-Lactamases (ESBL)-producing isolates. Characterization by whole genome sequencing (WGS), located *mcr-1.1* on an *incX4* plasmid. Phylogenetic analysis of three isolates with selected Italian *S. infantis* previously isolated from animals, meat and human clinical cases with unknown epidemiological relationship, demonstrated that ESBL-producing, *mcr-1*-positive isolates belonged to the emerging pES1-like-positive-ESBL-producing clone described in Italy in 2015.

Keywords: colistin resistance, *mcr* genes, ESBL (Extended Spectrum Beta-Lactamases), plasmids, whole genome sequencing, *Salmonella* infantis, broilers, broiler meat

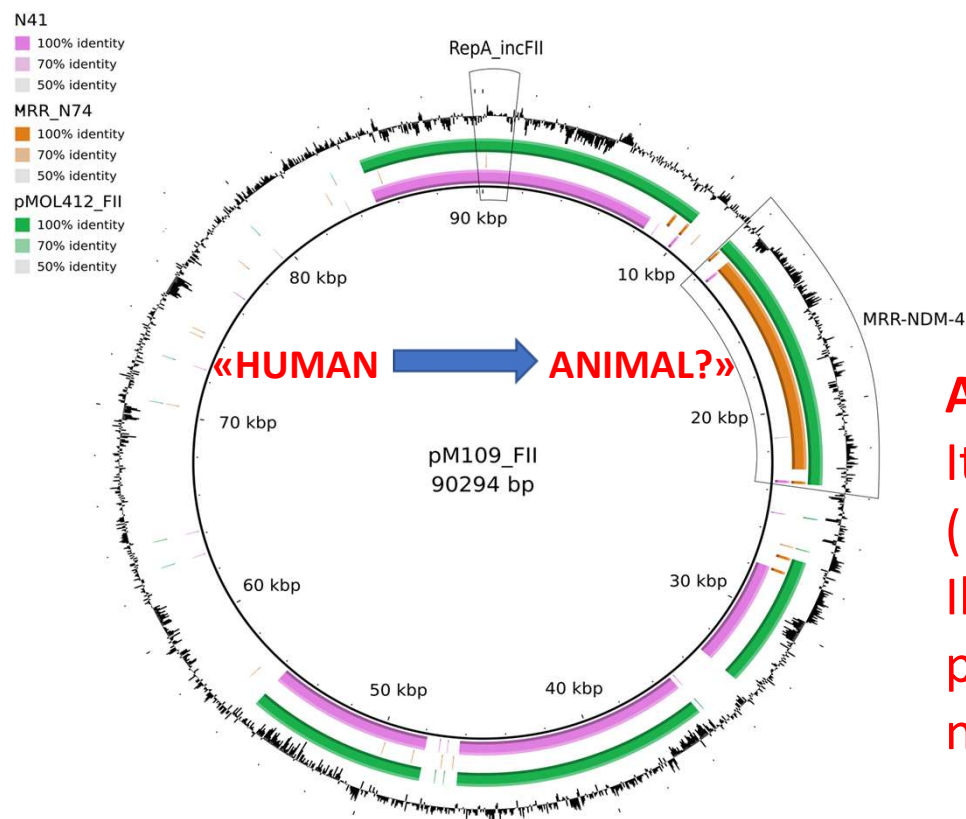


Chromosome SNP-based phylogenetic tree



High Resolution Study: Whole Genome Sequencing and Bioinformatics (Bacterial Host and full resolution of the Plasmid)

Figure 2. Comparative analysis of closely related plasmids pMOL412_FII and pM109_FII harbouring bla_{NDM-4} ...



J Antimicrob Chemother, dkaa374, <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa374>

The content of this slide may be subject to copyright: please see the slide notes for details.

Journal of Antimicrobial Chemotherapy

Issues More Content ▼ Submit ▼ Purchase Alerts About ▼

All Journal of Antimicrobi

Article Contents

Abstract
Introduction
Materials and methods
Results
Discussion
Acknowledgements
References
Supplementary data

Novel IncFII plasmid harbouring bla_{NDM-4} in a carbapenem-resistant *Escherichia coli* of pig origin, Italy

Elena L Diaconu, Virginia Carfora, Patricia Alba, Paola Di Matteo, Fiorentino Stravino, Carmela Buccella, Elena Dell'Aira, Roberta Onorati, Luigi Sorbara, Antonio Battisti ...
[Show more](#)

Journal of Antimicrobial Chemotherapy, dkaa374, <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa374>

Published: 24 August 2020 [Article history ▼](#)

[PDF](#) [Split View](#) [Cite](#) [Permissions](#) [Share ▼](#)

Abstract

Allevamento suino: Nel 2019, primo riscontro in Italia e in EU di un *E. coli* resistente ai carbapenemi (NDM-4) nelle Produzioni Animali
Il Plasmide condivide 99,9% della sequenza con un plasmide isolato in infezione clinica da *E. coli* nell'Uomo in Myanmar

OXFORD
UNIVERSITY PRESS

High Resolution Study: Whole Genome Sequencing and Bioinformatics (Bacterial Host and full resolution of the Plasmid)

Veterinary Microbiology Carbapenemase IncF-borne bla_{NDM-5} gene in the *E. coli* ST167 high-risk clone from canine clinical infection, Italy

Highlights

- First evidence in Italy of a NDM-5-producing *E. coli* in companion animals
- Full reconstruction of the bla_{NDM-5}-carrying mosaic plasmid.
- Evidence of transmission of bla_{NDM-5} *E. coli* from humans to animals and vice-versa.

pMOL008: plasmide a mosaico con 4 diversi repliconi: due IncFII, IncFA e IncFB (F36:F31:A4:B1).

Rosso: geni antibioticoresistenza: aadA2, aac(3)-IIa, bla_{NDM-5}, mph(A), sul1, tet(A) e dfrA12

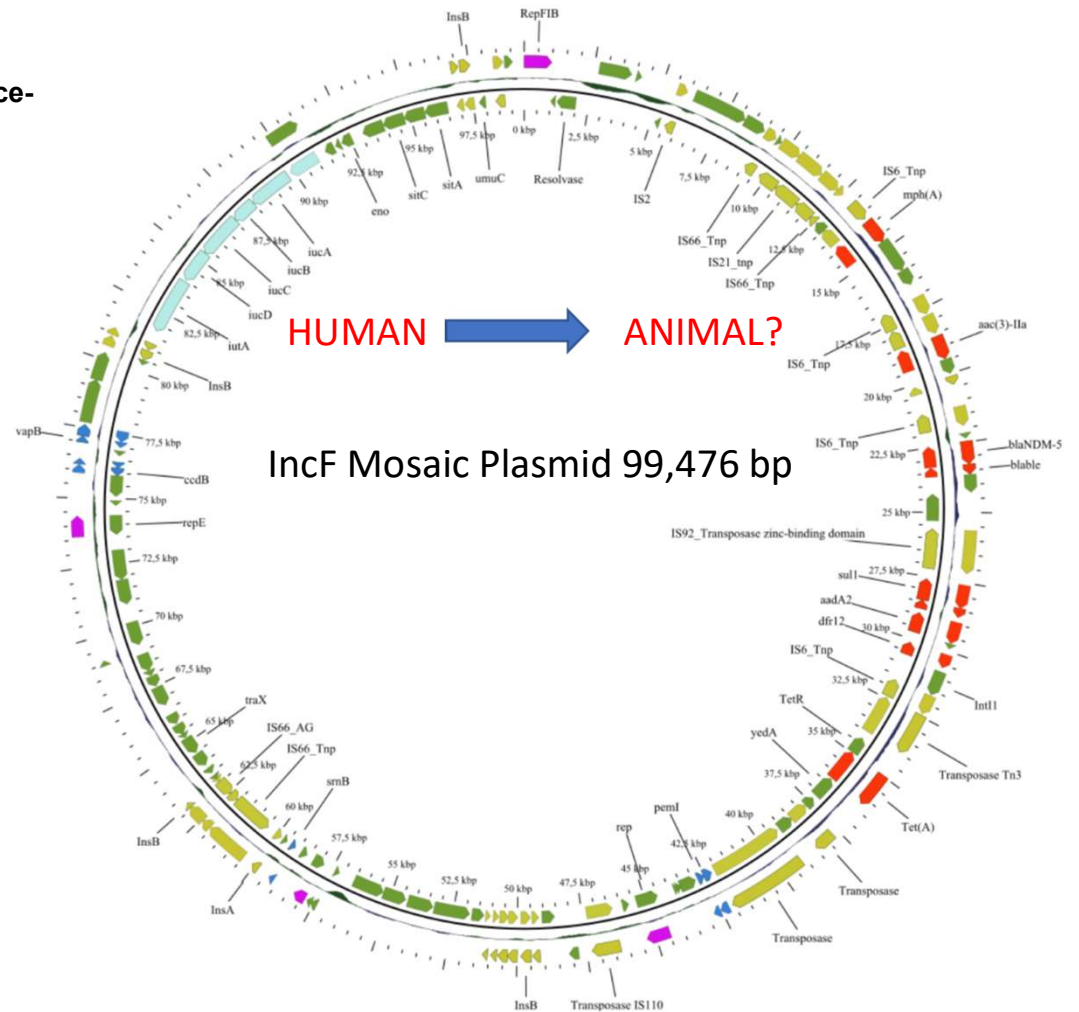
Verde: IS o transposoni

Blue: sistemi T/AT; pemI/K, ccdA/B, vapC/B, srmB/C

Fucsia: origine di replicazione

Turchese: aerobactin operon.

The bla_{NDM-5}-producing *E. coli* Sequence Type (ST)167 high-risk clone is emerging worldwide in human clinical cases, while its presence in companion animals is sporadic and has never been described in Italy. Using a combined Oxford Nanopore (ONT) long-reads and Illumina short-reads sequencing approach, an *E. coli* ST167 isolated from a hospitalized dog, was in-depth characterized by WGS and the plasmid containing bla_{NDM-5} was fully reconstructed. The complete sequence of the pMOL008 mosaic plasmid (F36:F31:A4:B1; pMOL008) harbouring bla_{NDM-5}, was resolved and characterized. Moreover, a (pro)phage and IncFII, containing bla_{CMY-2} and ermB, and IncI2 plasmid types were also identified. pMOL008 was identical to bla_{NDM-5}-containing plasmids from *E. coli* ST167 isolated from Italian human clinical cases and from a Swiss dog and colonized humans. bla_{NDM-5} was located in a class 1 integron together with aadA2, aac(3)-IIa, mph(A), sul1, tet(A) and dfrA12. The risk of spill-over and spill-back transmission of carbapenem-resistance genes, related-plasmids and strains between humans and dogs, represents a Public Health threat and highlights the importance of the One Health approach for the AMR detection.



https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/event/2020/10th-specific-meeting-antimicrobial-resistance-data-reporting-scientific-network-zoonoses-monitoring_0.pdf

- Importance of **applying a global One Health approach, integrating human and animal surveillance systems and comparing genomic data from different sources and different geographic areas**, to help control the spread of major zoonotic pathogens, especially when MDR or potentially MDR, such as *S. Infantis*.
- **Importance of Insights into: phylogeny, virulence, fitness, host-adapted features, MDR**
 - **In clones**
 - **In plasmids**
 - and other mobile genetic elements across and beyond Europe,

and into predictors of their success in animal productions, are considered of further help in the surveillance of zoonotic disease agents

Alba P., Franco A, Battisti A.

6.5. Molecular epidemiology of *Salmonella Infantis* in Europe: insights into the success of the bacterial host and its parasitic pESI-like megaplasmid
EFSA 10^o Scientific Network Zoonoses Monitoring Data – AMR 2020

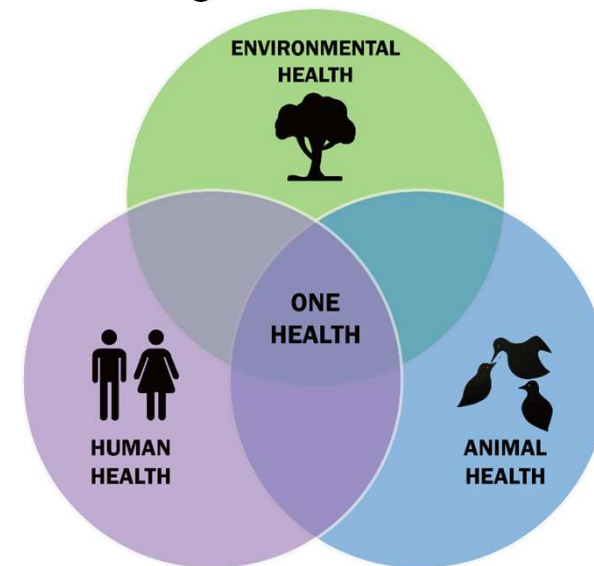


Photo: Thddbik, CC BY-SA 4.0
<<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>>, via Wikimedia Commons

Vi invitiamo tutti al Prossimo Workshop Annuale del CRN-AR e NRL-AR, che si terrà probabilmente a Novembre 2021!
In Videoconferenza



Grazie per l'attenzione!

Un grazie particolare a tutti i miei collaboratori,

UOC D. O. Diagnostica Generale, CRN-AR e NRL-AR