



UNIVERSITÀ DI PARMA

Dipartimento di Scienze Medico-Veterinarie

*Antibiotico-resistenza e  
alimenti: un approccio  
integrato*

Silvia Bonardi  
silvia.bonardi@unipr.it



# Sorveglianza integrata di batteri AMR foodborne (WHO, 2017)

## Surveillance of Antimicrobial Resistance



## Surveillance of Antimicrobial Use



# Elementi di un programma di sorveglianza integrata di batteri AMR trasmessi da alimenti

## 1. Fonte dei campioni

- **Uomo**

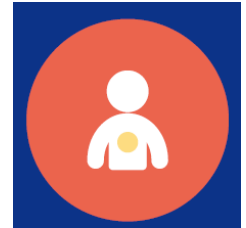
(soggetti ammalati; casi sporadici e focolai foodborne)

- **Alimenti al dettaglio**

(di origine animale)

- **Animali da reddito**

(soggetti ammalati e sani)



# Elementi di un programma di sorveglianza integrata di batteri AMR trasmessi da alimenti

## 2. Batteri target

- **Batteri *foodborne*** più rilevanti (*Salmonella*, *Campylobacter* )
- **Batteri indicatori** (*E. coli*, *Enterococcus* spp.):
  - ✓ riserva di geni di AMR trasferibili a patogeni enterici nel tratto intestinale
- Altri batteri (*Staphylococcus*, *Clostridium*, *Vibrio*) a seconda delle situazioni epidemiologiche

- *Uniformare i piani di campionamento*
- *Utilizzare metodi riconosciuti (CLSI; EUCAST) e testare la sensibilità nei confronti degli stessi antimicrobici*

Secondo WHO (2017)

- Fluorochinoloni
- Polimixine
- Cefalosporine di III e IV generazione



le classi più importanti per la gestione del rischio AMR

Antimicrobial classes	<i>Salmonella, E. coli</i>	<i>Campylobacter</i> <sup>a</sup>	<i>Enterococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>
Aminoglycosides	Gentamicin	Gentamicin Streptomycin	Gentamicin Streptomycin	Gentamicin
Amphenicols	Chloramphenicol		Chloramphenicol	Chloramphenicol
Carbapenems	Imipenem Meropenem			
Cephalosporins II	Cefoxitin			Cefoxitin
Cephalosporins III	Cefatoxime (or Ceftriaxone) Ceftazidime			
Cephalosporins IV	Cefepime <sup>b</sup>			
Glycopeptides			Vancomycin Telcoplanin	Vancomycin
Glycylcyclines	Tigecycline		Tigecycline	
Lincosamides		Clindamycin <sup>ca</sup>		Clindamycin
Lipopeptides			Daptomycin	
Macrolides	Azithromycin	Erythromycin <sup>b</sup>	Erythromycin	Erythromycin
Nitrofurans	Nitrofurantoin <sup>d</sup>		Nitrofurantoin <sup>ca</sup>	
Oxazolidinones				Linezolid
Penicillins	Ampicillin Amoxicillin Temocillin <sup>ca</sup>	Ampicillin	Ampicillin	Penicillin Oxacillin
Polymyxins	Colistin			
Quinolones	Ciprofloxacin Nalidixic acid Pefloxacin <sup>ca</sup>	Ciprofloxacin Nalidixic acid <sup>ca</sup>	Ciprofloxacin	Ciprofloxacin
Rifamycins				Rifampicin
Streptogramins			Quinupristin-dalfopristin	Quinupristin-dalfopristin
Sulfonamides <sup>a</sup>	Sulfisoxazole <sup>a</sup>			Sulfisoxazole
Tetracyclines	Tetracycline	Tetracycline <sup>ca</sup>	Tetracycline	Tetracycline
Trimethoprim <sup>a</sup>	Trimethoprim			Trimethoprim

Classi di antimicrobici da utilizzare nei programmi di sorveglianza Integrata

WHO, 2017

# Monitoraggio di AMR in batteri zoonotici e commensali

- **Direttiva zoonosi 2003/99/ CE**
- **Decisione 2013/652/ EU**
- 2016: sorveglianza di AMR in **polli da carne, tacchini e ovaiole**. I dati sono riportati nel report EFSA pubblicato nel mese di febbraio 2018

**The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2016**

European Food Safety Authority and  
European Centre for Disease Prevention and Control

# Antimicrobici previsti dalla Decisione 2013/652 UE

## *Salmonella* ed *E. coli* indicatore commensale

- Ampicillina
- Cefotaxime, Ceftazidime
- Meropenem
- Ac. Nalidixico, Ciprofloxacina
- Tetraciclina
- Colistina
- Gentamicina
- Trimethoprim
- Sulfametossazolo
- Cloramfenicolo
- Azitromicina
- Tigeciclina

## *Campylobacter jejuni* e *C. coli*

- Eritromicina
- Ciprofloxacina
- Ac. Nalidixico
- Tetraciclina
- Gentamicina
- Streptomicina



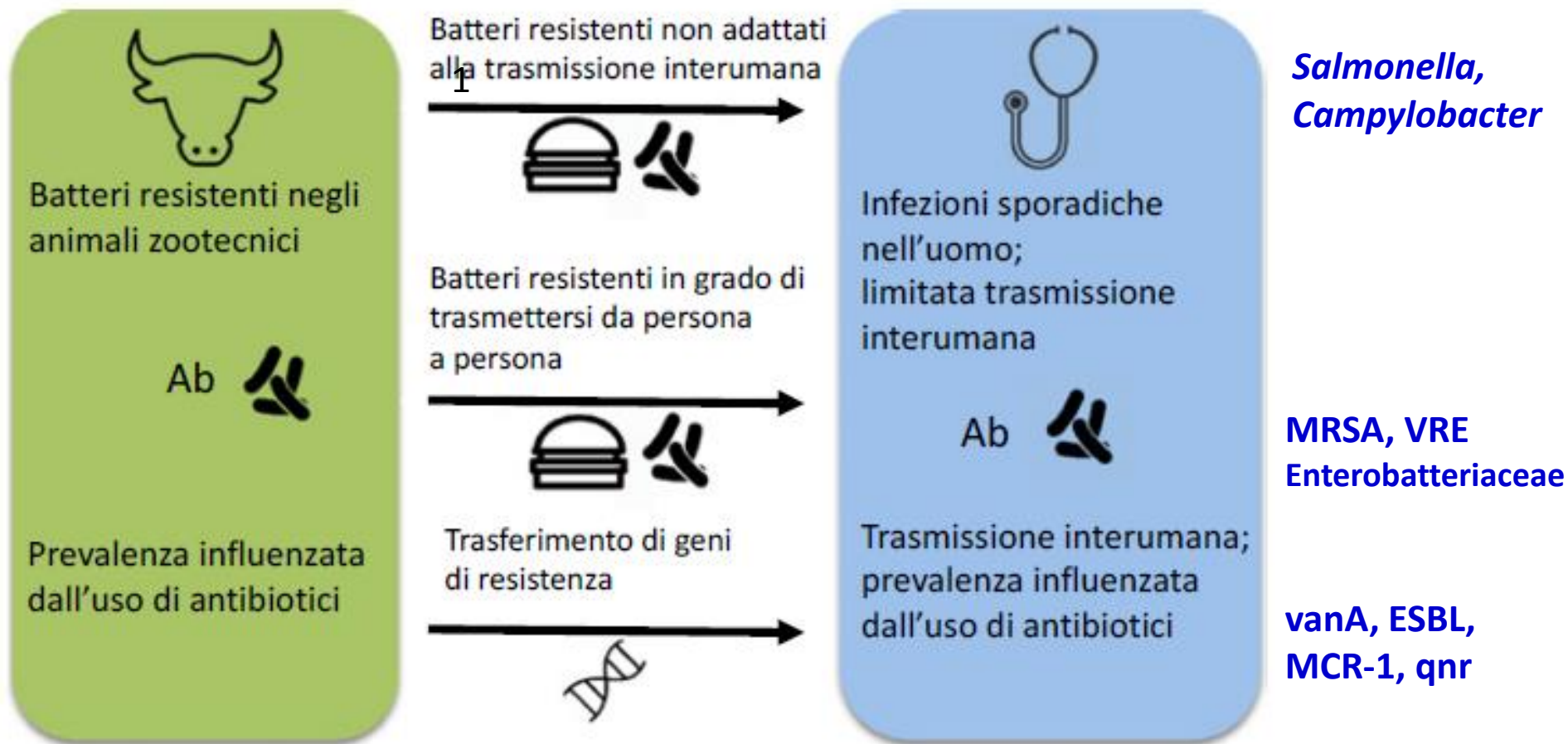
# Definizioni

**MDR:** Multi Drug Resistant - Mancata sensibilità ad almeno 3 classi di antibiotici su 9

## Valori di AMR

- Rara < 0.1%
- Molto bassa 0.1–1.0%,
- Bassa > 1–10.0%
- Moderata > 10.0–20.0%
- Elevata > 20.0–50.0%
- Molto elevata > 50.0–70.0%
- Elevatissima > 70.0%

# Rischi per la salute conseguenti all'uso di antibiotici (Ab) in zootecnia



# Quale pericolo per l'uomo tramite il consumo di alimenti?

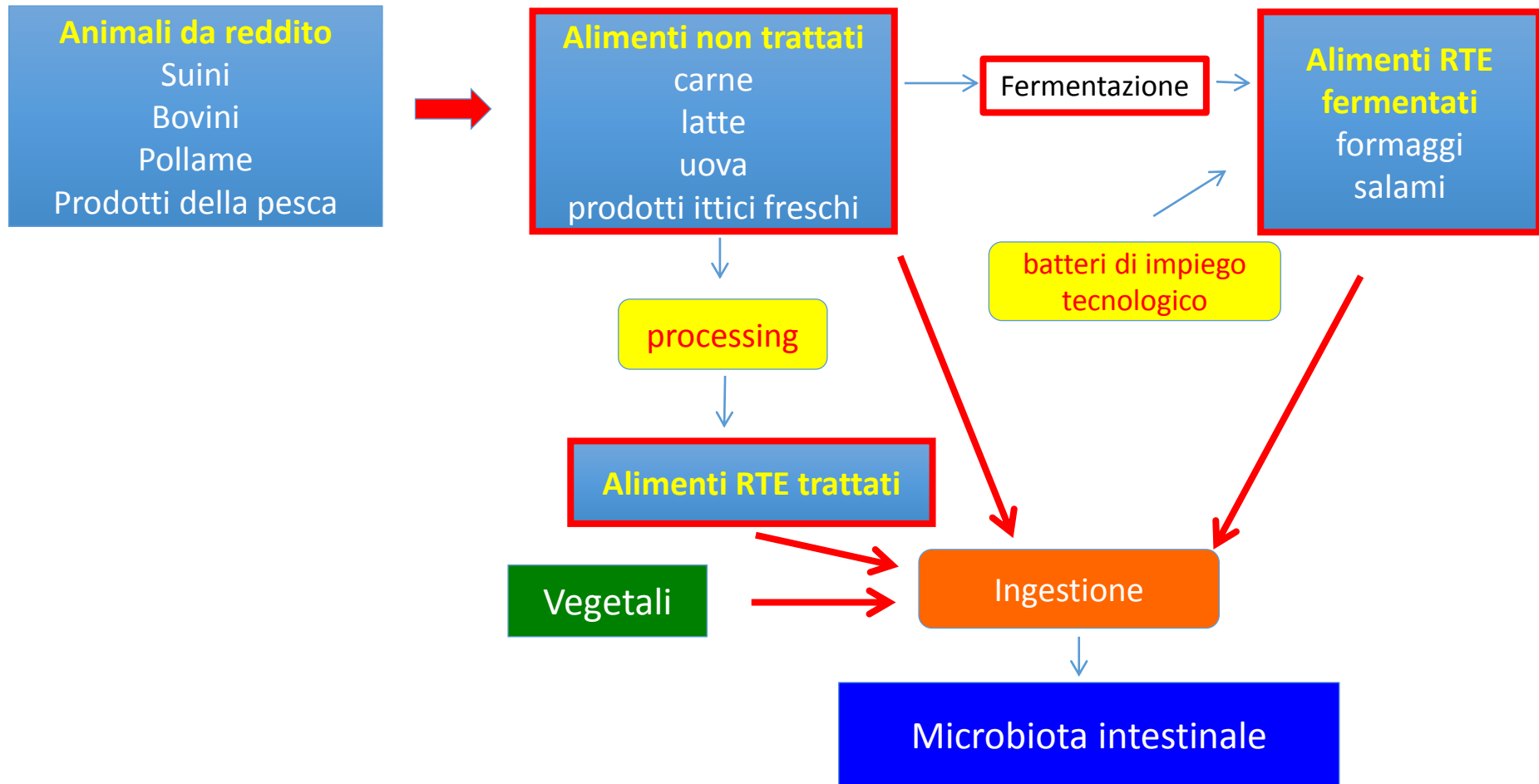
Perché un **batterio con un serbatoio animale** possa causare infezione nell'uomo tramite il consumo di carni è necessario che:

1. Sopravviva nella filiera alimentare
2. Sia infettante per l'uomo

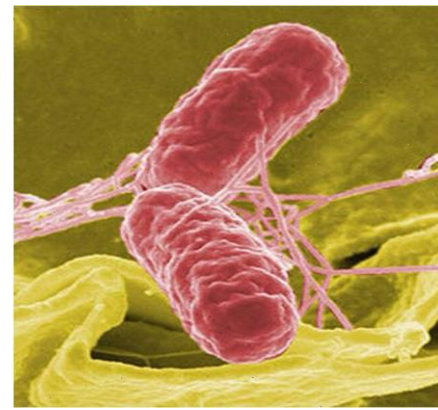
**Salmonella**: molto resistente

EFSA, ECDC, EMA 2017

# Flusso di batteri/geni AMR nella catena alimentare



# *Salmonella* (serovar non tifoidi)



**Salmonellosi:** la seconda zoonosi segnalata in EU,  
con **94.530 casi** notificati nel 2016  
(20,4 casi/100.00 abitanti)

Trend stabile dal 2012 al 2016

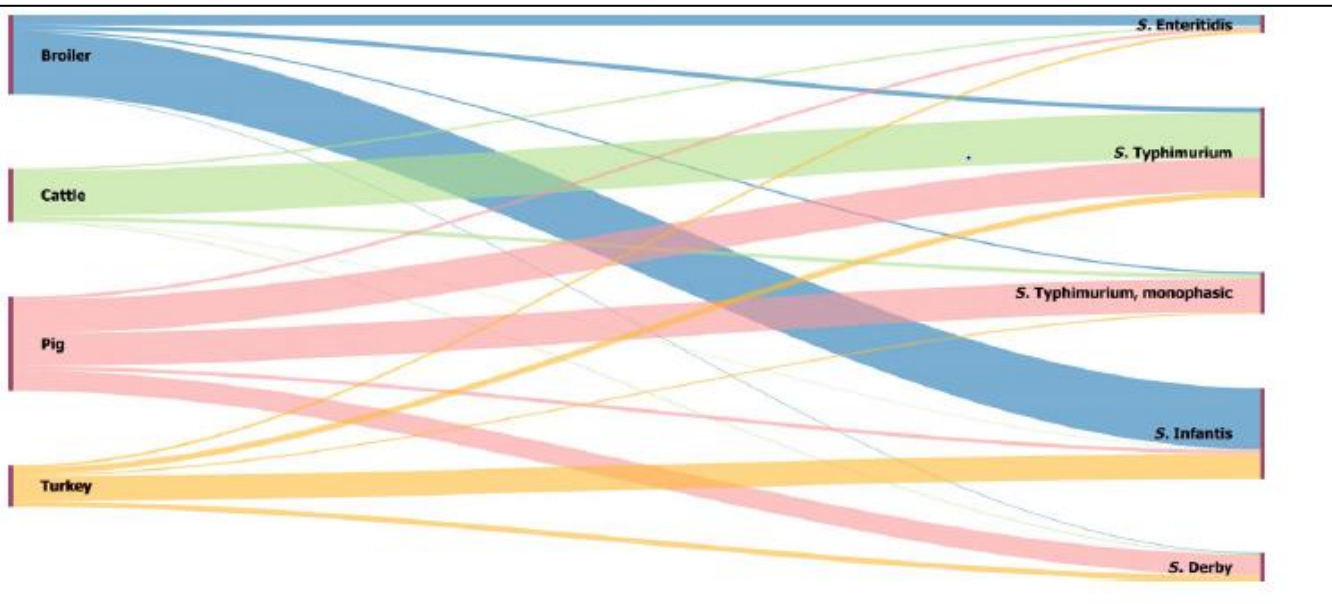
EFSA ed ECDC, 2017

# Monitoraggio AMR in *Salmonella*

- **Decisione 2013/652 EU**: si testano isolati di *Salmonella* da ottenuti da
- Branchi di: ovaiole, polli da carne e tacchini da ingrasso (Programmi Nazionali di Controllo Dir. CE 2160/2003)
- Carcasse di polli da carne e tacchini da ingrasso (Reg. CE 2073/2005)
- Carcasse bovini < 1 anno (Reg. CE 2073/2005)
- Nell'anno **2016** sono stati monitorati **ovaiole, polli da carne e tacchini**.

# Top-five *Salmonella* serovar nell'uomo - EU 2016

1. Enteritidis Ovaiole, broiler; carne di pollo
2. Typhimurium Suini, bovini e loro carni
3. Typhimurium monofasica Suini; carne suina
- 4. Infantis** Filiera del pollo e del tacchino
5. Derby Suini; carne suina; pollame; bovini



EFSA ed ECDC, 2017

## Top-five *Salmonella* serovar nelle carcasse di pollo - EU 2016

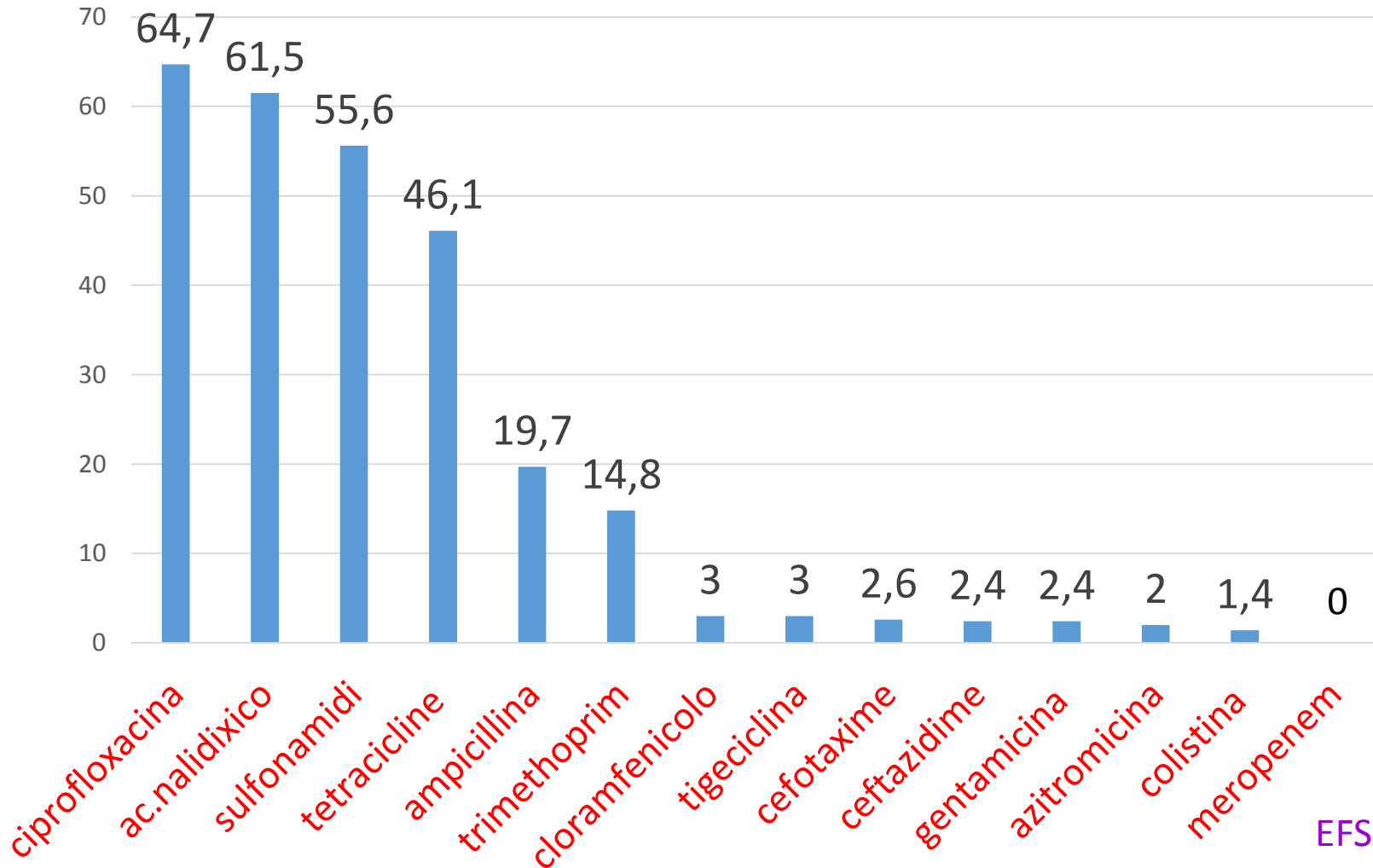
Serovar	Prevalence on carcasses	AMR rate	N° of reporting states
<b>Infantis</b>	54.7%	<b>72.6%</b>	14
<b>Enteritidis</b>	9.4%	1.4%	6
<b>Kentucky</b>	4.5%	<b>45.5%</b>	6
<b>Give</b>	3.6%	-	1
<b>Typhimurium</b>	3.2%	-	9

S. Infantis: R elevatissime a ciprofloxacina e ac. nalidixico (90%)



# AMR in *Salmonella* - carcasse di pollo

763 isolati di *Salmonella* da 19 Paesi Membri (Italia esclusa)



EFSA, 2018

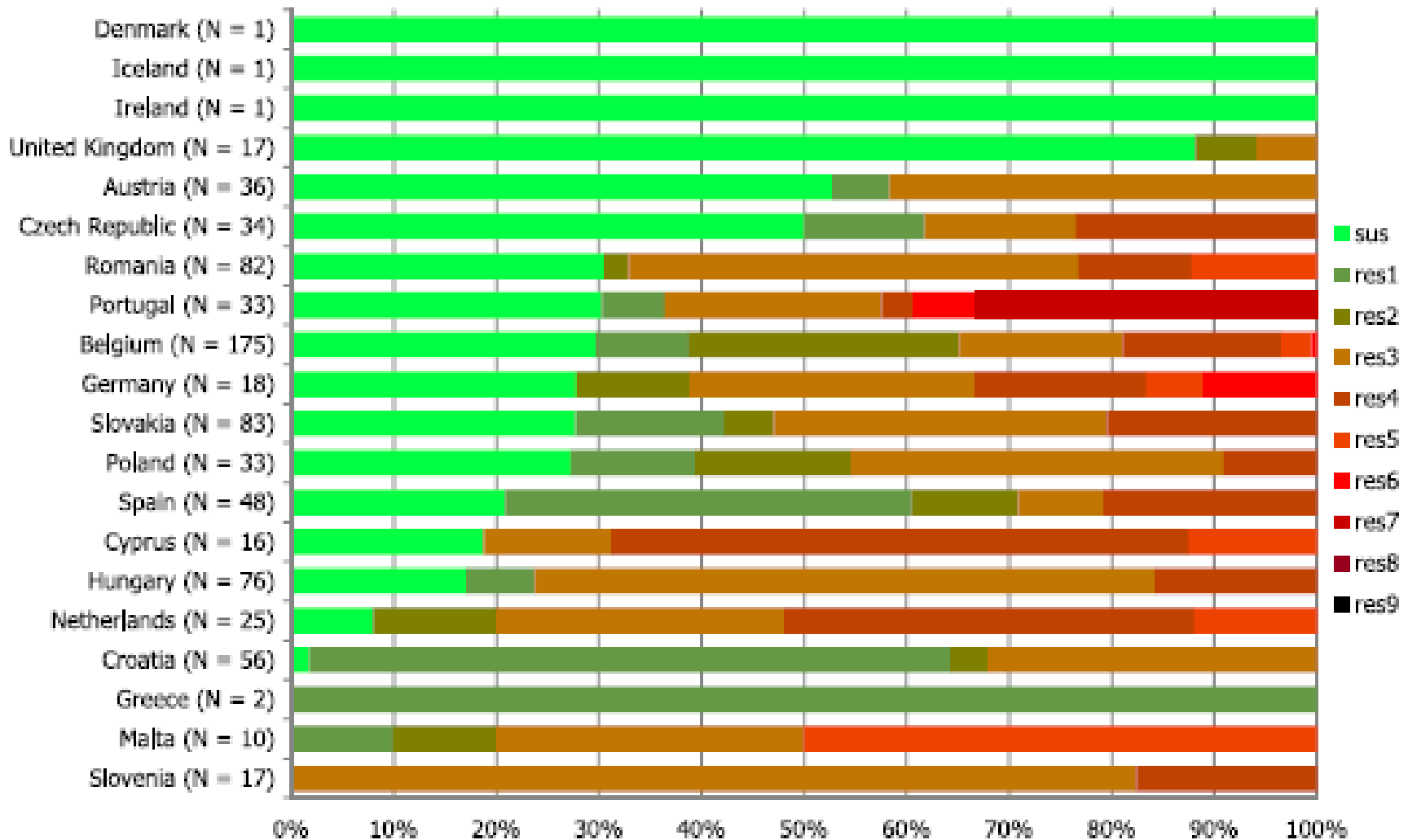
Antibiotico-resistenza e alimenti: un approccio integrato

Pisa, 14.12.2018 - Silvia Bonardi

UNIVERSITÀ  
DI PARMA



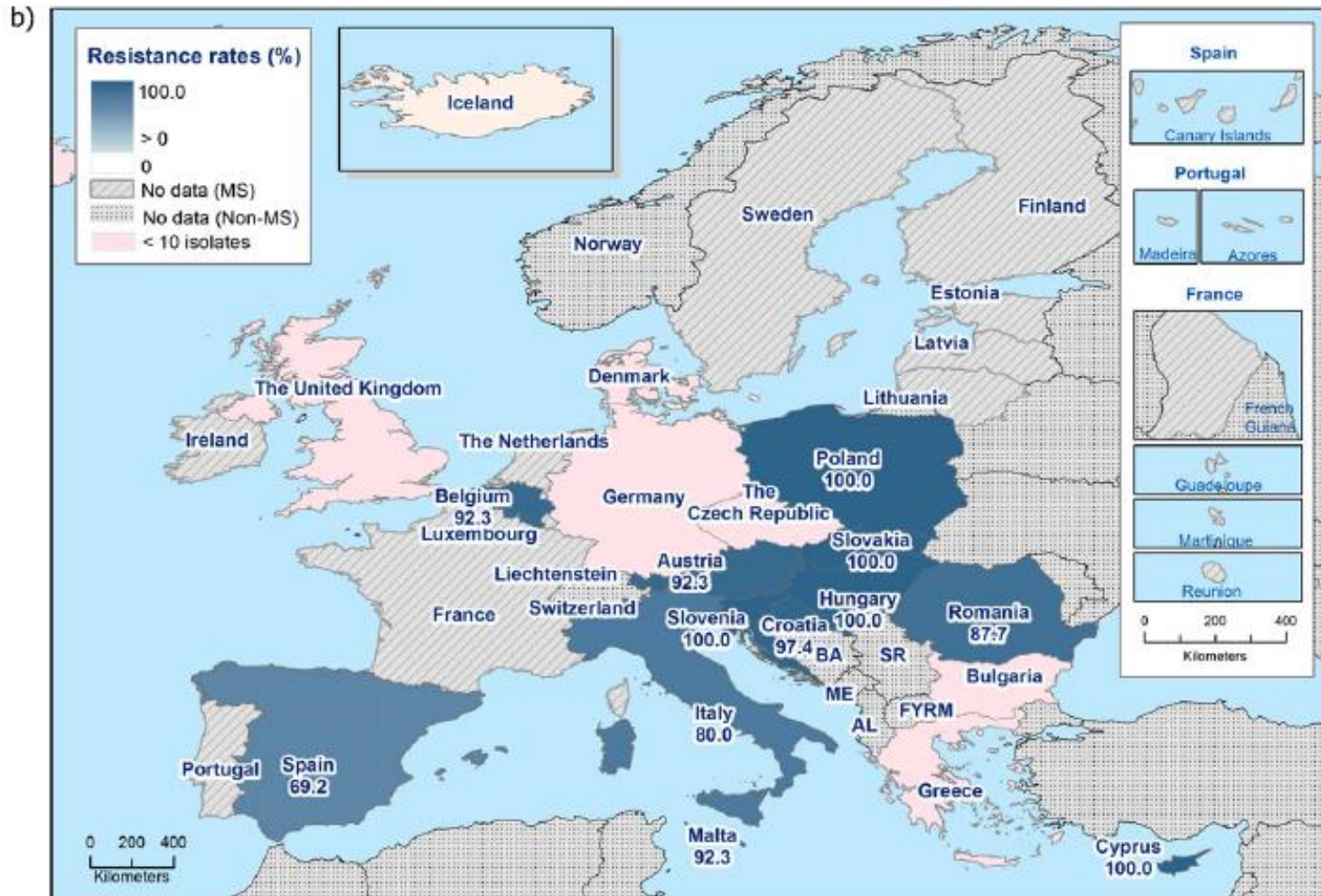
# MDR in *Salmonella* - carcasse di pollo



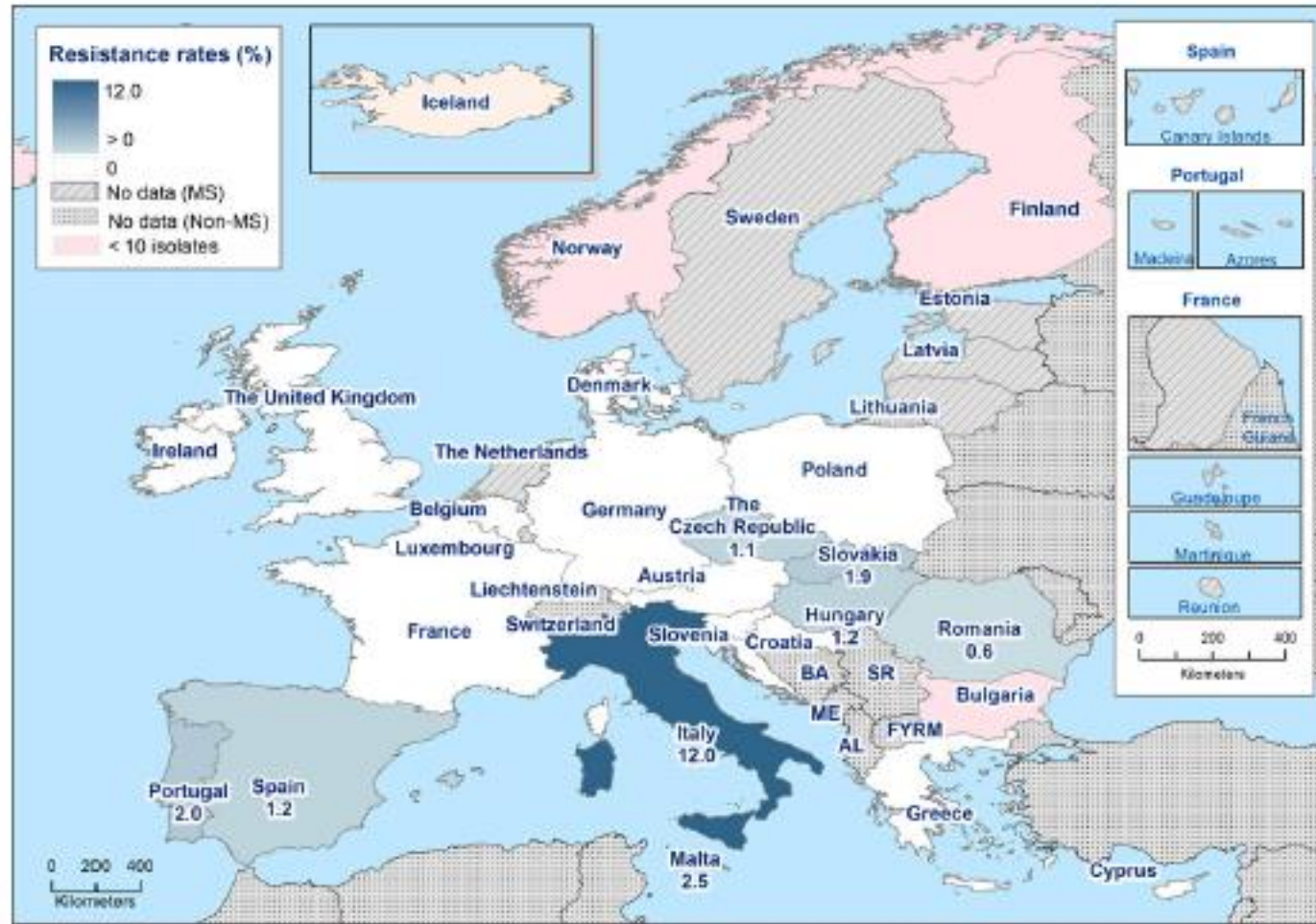
**MDR: 50,3%** degli isolati da 20 paesi (da 0 a 100% nei MS)

Completamente sensibili: 27.1%

# Distribuzione geografica di R a ciprofloxacina in *Salmonella* da polli da carne (2016 EU)



# Distribuzione geografica di R combinate a cefotaxime e ciprofloxacina in *Salmonella* da polli da carne (2016 EU)



Ovunque prevalenze molto basse, con l'eccezione dell'Italia (12%)

# S. Infantis: clone multiresistente di origine italiana?

- S. Infantis : 4° posto con 1.596 casi di salmonellosi umana in EU
- In Italia il 75-90% degli isolati dal pollame al macello: S. Infantis
- Italia 2011-2016: stipiti MDR con geni ESBL in **broiler**,

## carne di pollo e carne suina

- Cefotaxime **bla** CTX-M-1
- Ciprofloxacina
- Ac. Nalidixico
- Tetraciclina
- Sulfametossazolo
- Trimethoprim

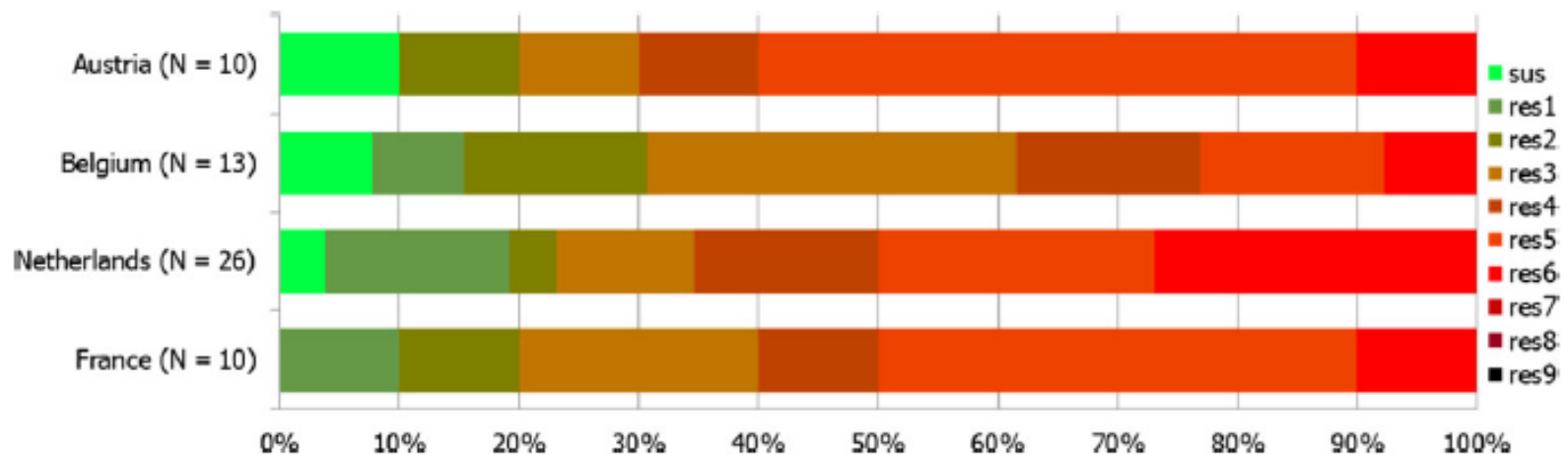
The Italian 'broiler chicken' clone  
megaplasmiide **pESI** di ~ 300 kbp

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

Alessia Franco<sup>1</sup>, Pimlapas Leekitcharoenphon<sup>2</sup>, Fabiola Feltrin<sup>1</sup>, Patricia Alba<sup>1</sup>, Gessica Cordaro<sup>1</sup>, Manuela Iurescia<sup>1</sup>, Rita Tolli<sup>1</sup>, Mario D'Incau<sup>3</sup>, Monica Staffolani<sup>4</sup>, Elisabetta Di Giannatale<sup>5</sup>, Rene S. Hendriksen<sup>2</sup>, Antonio Battisti<sup>1\*</sup>

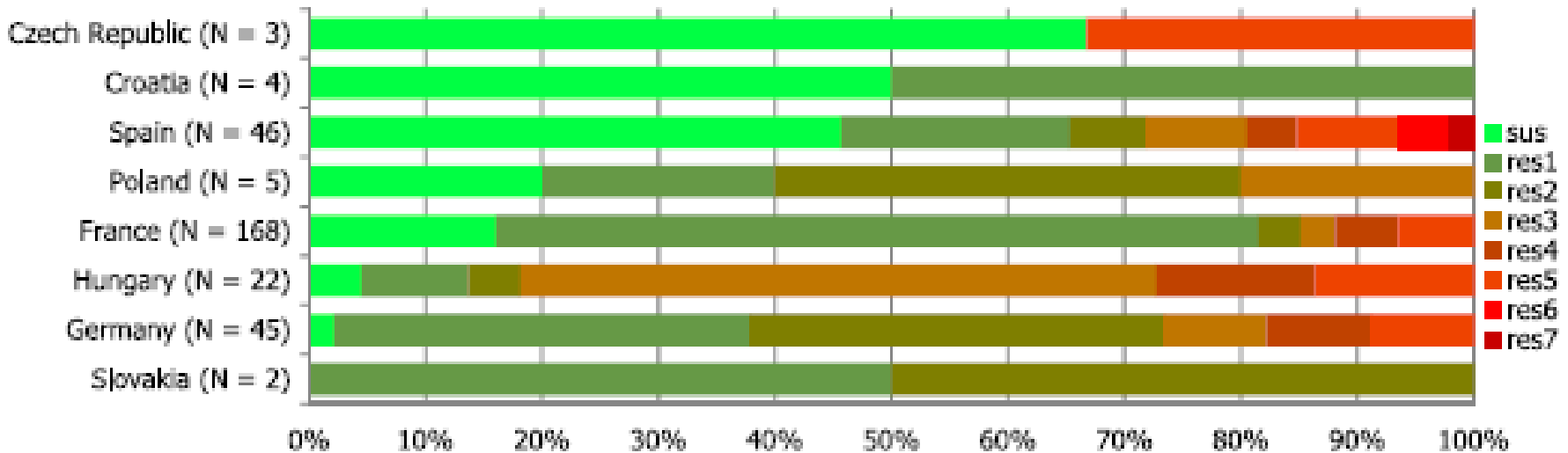
## S. Kentucky: un serovar AMR emergente?

- 7° posto per 531 casi di salmonellosi umana (EU 2016)
- R elevate alla ciprofloxacina e ampicillina
- R a cefalosporine di III generazione (ESBL)
- MDR: 76% dei ceppi segnalati dai MS



- Si isola dalle **carcasse di pollo e di tacchino**, con ceppi MDR

# AMR in *Salmonella* – carcasse di tacchino



8 paesi membri – valori di MIC di 295 ceppi di *Salmonella*  
Valori AMR più bassi che nella carne di pollo

Valori più elevati per

- Tetraciclina 59.3%
- Ciprofloxacina 43.7%
- Acido nalidixico 40%

# *Campylobacter jejuni* e *C. coli*



**Campilobatterosi:** dal 2005 la zoonosi *foodborne* più segnalata in EU, nonostante la comune sottostima dei casi

Haagsma et al., 2013;  
Havelaar et al., 2013;  
Gibbons et al., 2014

Nel 2016: **246.307 casi** notificati in EU  
(66,3 casi/100.00 abitanti)

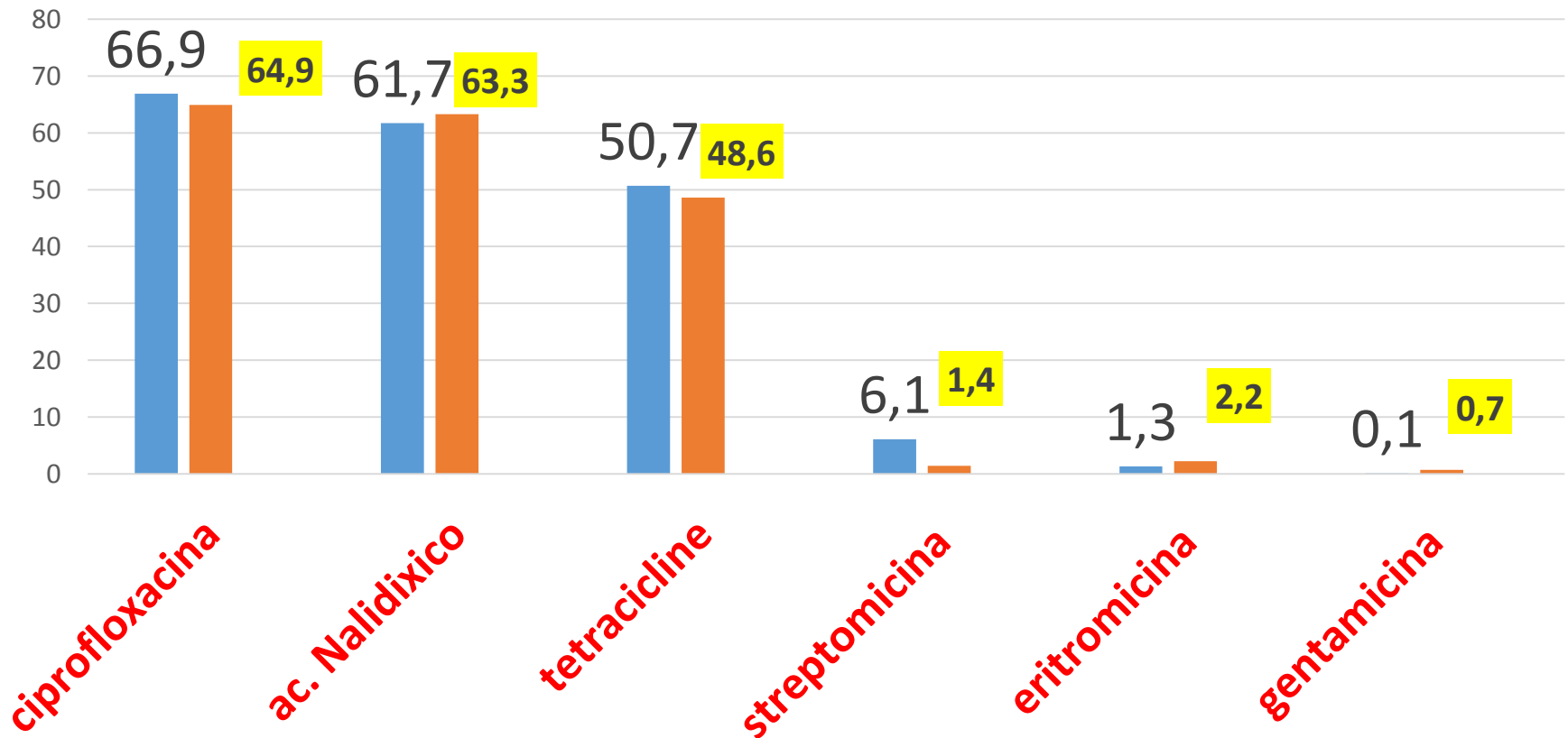
EFSA ed ECDC, 2017



# Monitoraggio AMR in *Campylobacter jejuni* in EU

- **Decisione 2013/652 EU**: isolati di *C. jejuni* ottenuti da campioni di intestino cieco prelevati dopo la macellazione da
  - Polli e tacchini da carne
  - Suini da ingrasso e bovini < 1 anno
- Nell'anno **2016** sono stati monitorati **polli da carne e tacchini**, ma non le carcasse.
- Le analisi su **carne di pollo** eseguite su base volontaria (Belgio, Lussemburgo, Germania) hanno evidenziato valori di AMR comparabili con quelle delle fonti animali

## Valori di AMR in *C. jejuni* in polli da carne e carne di pollo



In giallo sono evidenziati i valori di AMR ottenuti da carne di pollo

## R ai macrolidi in *Campylobacter* spp.

- R in genere legate a mutazioni dell'RNA ribosomiale



Bassa frequenza di R in molti paesi [Wang et al., 2015](#)

- In Cina, nel 2014, si è identificato il gene rRNA metilasi *erm(B)* localizzato in isole cromosomiche di patogenicità o in plasmidi.

[Qin et al., 2014](#)

[Wang et al., 2015](#)

- La R trasferibile ai macrolidi potrebbe causare un aumento considerevole di ceppi di *Campylobacter* resistenti

## AMR in batteri indicatori: *Escherichia coli*

***E. coli commensali***: indicatori rappresentativi della AMR nei Gram-negativi

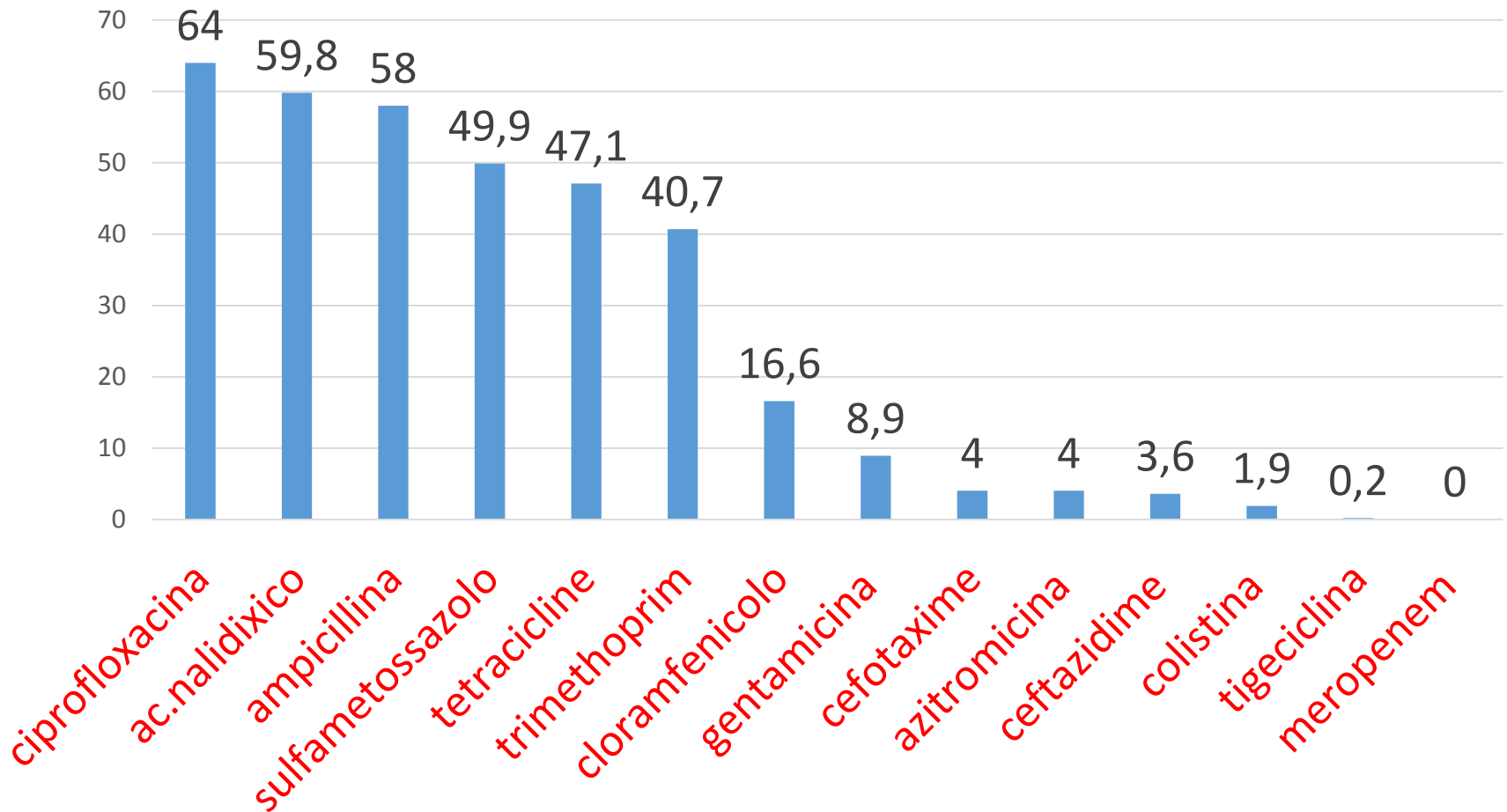
1. Presenti nelle feci animali
2. Possono avere rilevanza in medicina umana
3. Possono acquisire plasmidi coniugativi che albergano geni di resistenza trasferibili ad altri batteri enterici

*Riserva di geni* che possono *diffondere orizzontalmente ad altri batteri presenti nella catena alimentare*

## AMR in *E. coli* indicatore

- Dati utili per studiare la *relazione tra la AMR e la pressione selettiva sulla popolazione intestinale di batteri* legata all'uso di Ab.
- *E. coli* indicatore è anche utile in rappresentanza delle Enterobacteriaceae per *monitorare le resistenze ESBL*
- Dal 2014, il monitoraggio della AMR in *E. coli* indicatore da animali da reddito (polli, tacchini, suini, bovini) **obbligatorio** in EU

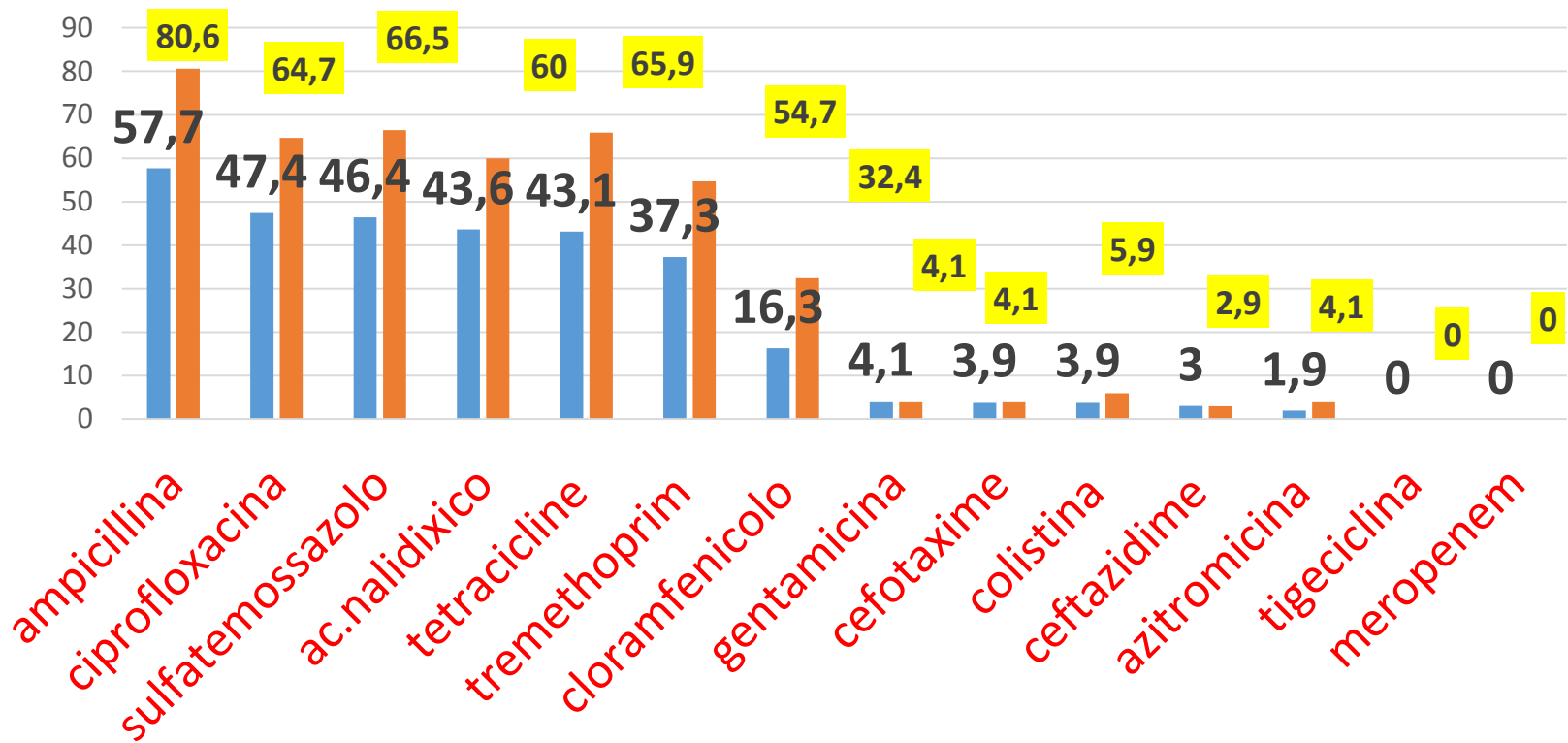
# AMR in *E. coli* indicatore da polli da carne



Tigeciclina: Cipro , Polonia e Francia

EFSA, 2018

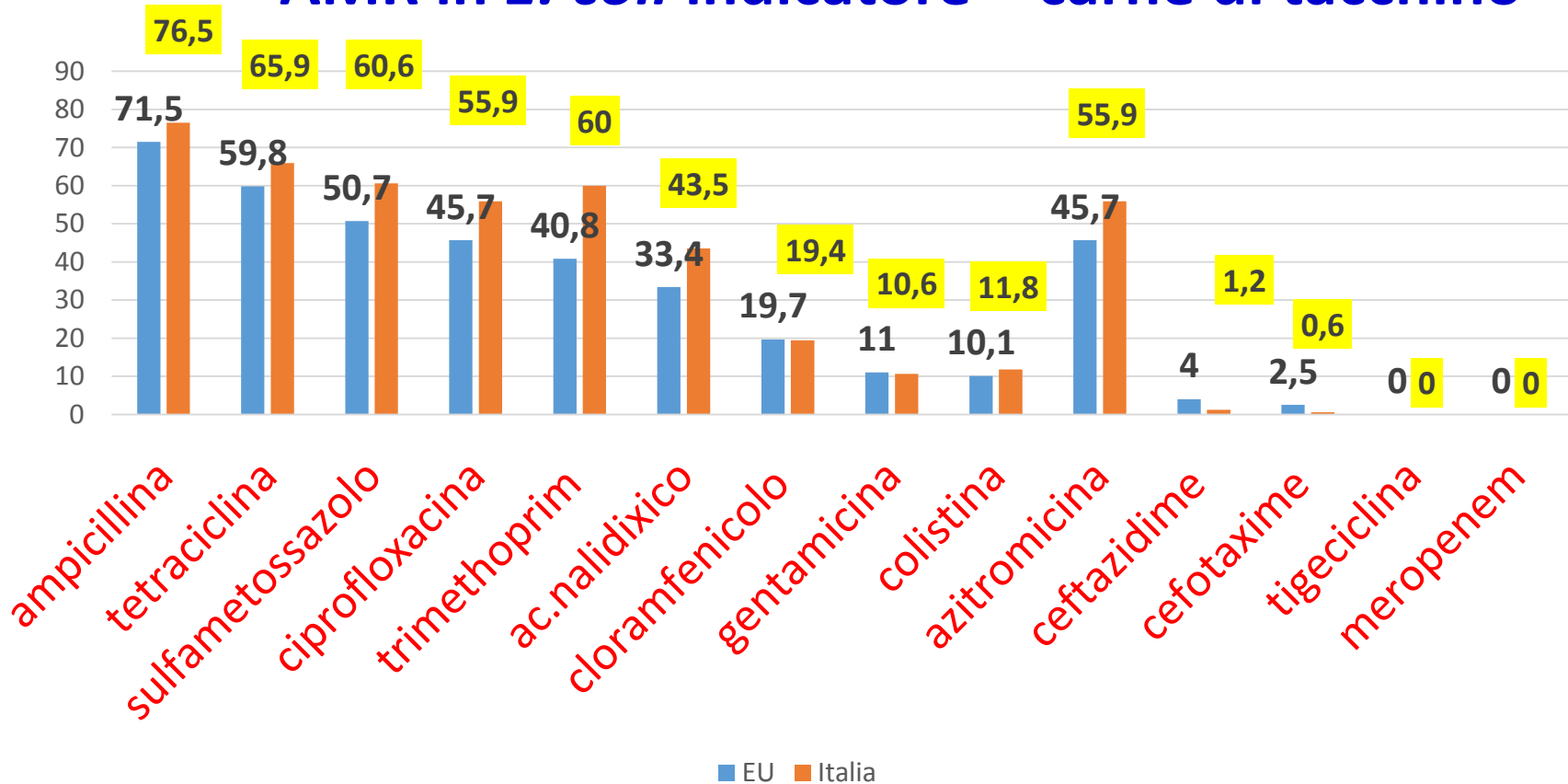
## AMR in *E. coli* indicatore – carne di pollo



466 isolati di *Salmonella*- 3 paesi membri (Italia, Germania, Olanda)

I valori riportati dall'Italia (170 isolati) sono evidenziati in giallo.

## AMR in *E. coli* indicatore – carne di tacchino



473 isolati di *Salmonella*- 3 paesi membri (Italia, Germania, Olanda)

I valori riportati dall'Italia (170 isolati) sono evidenziati in giallo.



# R alla colistina in *E. coli* indicatore commensale

- 2015: **gene *mcr-1*** in ceppi di *E. coli* da uomo e animali in Cina (Liu et al., 2015)
- Altre varianti isolate in diversi paesi, EU compresa (Kempf et al., 2016; Schwarz e Johnson, 2016)
- Elementi genetici trasmissibili aumentano la potenzialità di diffusione di R alla colistina ad altre specie

*J Antimicrob Chemother* 2016

doi:10.1093/jac/dkw240

Advance Access publication 20 June 2016

**Detection of an *mcr-1*-encoding plasmid mediating colistin resistance in *Salmonella enterica* from retail meat in Portugal**

Rui Figueiredo<sup>1-3</sup>, Roderick M. Card<sup>3</sup>, Javier Nunez<sup>4</sup>, Constança Pomba<sup>5</sup>, Nuno Mendonça<sup>2</sup>, Muna F. Anjum<sup>3</sup> and Gabriela Jorge Da Silva<sup>1,2\*</sup>

- Nel 2016: R alla colistina in *E. coli* da carne di pollo (3,9%) e di tacchino (10,1%)
- In Italia: valori superiori

# Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

- **LA-MRSA** (Livestock-associated): originati da una fonte animale, sono in grado di infettare l'uomo e di trasmettersi da persona a persona
- Ceppi clonali molto diffusi: **ST398** in Olanda; **CC97** in Danimarca; **ST130** in Europa
- **MRSA CC97** è di origine bovina


Danimarca: MRSA CC97 0,3% -1,7%  
dei ceppi umani (2007-2011)  
con trend in aumento

## Livestock Origin for a Human Pandemic Clone of Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*

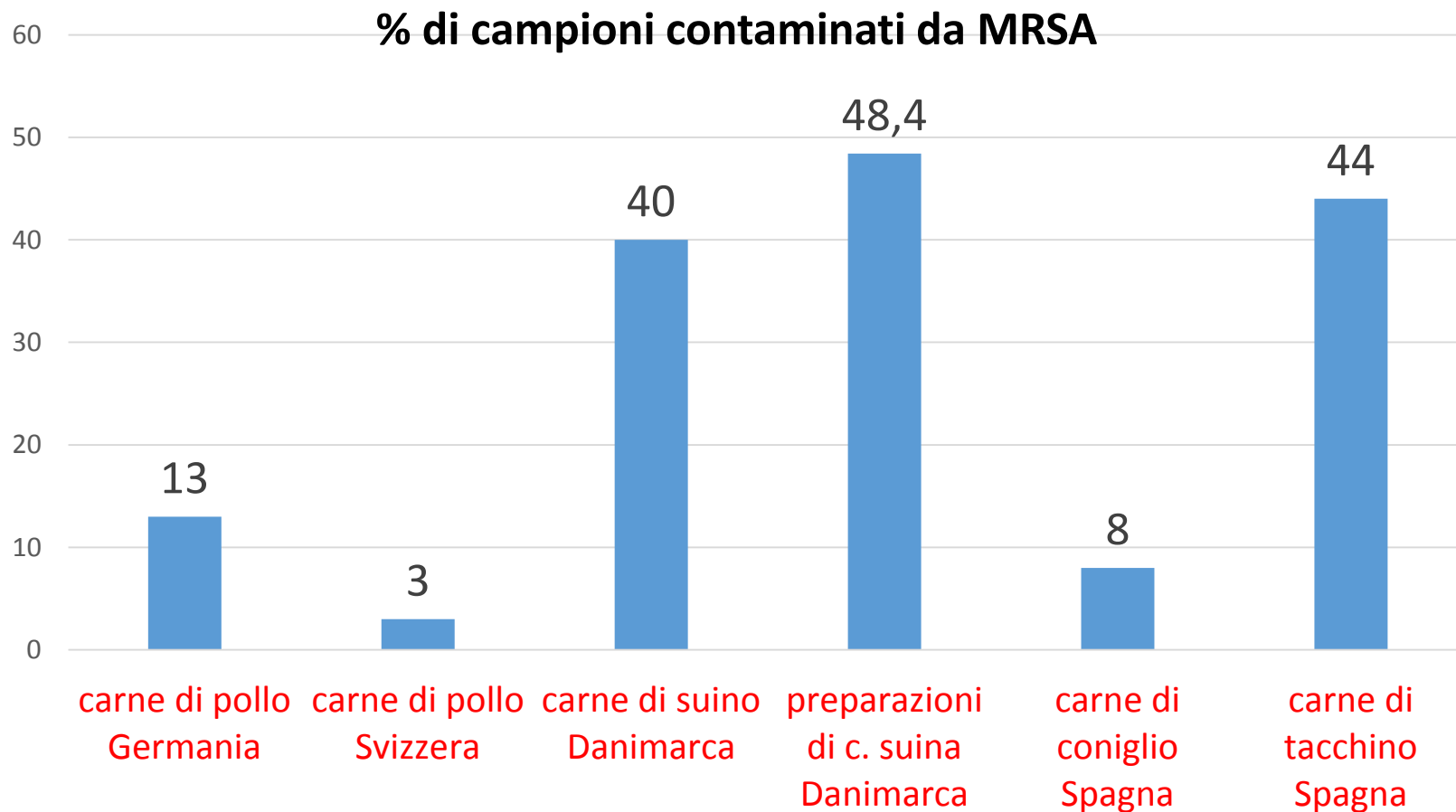
Laura E. Spoor,<sup>a</sup> Paul R. McAdam,<sup>a</sup> Lucy A. Weinert,<sup>b</sup> Andrew Rambaut,<sup>c</sup> Henrik Hasman,<sup>d</sup> Frank M. Aarestrup,<sup>d</sup> Angela M. Kearns,<sup>e</sup> Anders R. Larsen,<sup>f</sup> Robert L. Skov,<sup>f</sup> J. Ross Fitzgerald<sup>a</sup>

The Roslin Institute and Edinburgh Infectious Diseases, University of Edinburgh, Easter Bush, Midlothian, United Kingdom; University of Cambridge, Department of Veterinary Medicine, Cambridge, United Kingdom; Institute of Evolutionary Biology, Ashworth Laboratories, University of Edinburgh, Edinburgh, United Kingdom; National Food Institute, Technical University of Denmark (DTU), Lyngby, Denmark; Microbiology Services, Colindale, Health Protection Agency, London, United Kingdom; Department of Antimicrobial Surveillance and Research, Statens Serum Institute, Copenhagen, Denmark

July/August 2013 Volume 4 Issue 4 e00356-13

 mBio [mbio.asm.org](http://mbio.asm.org)

# MRSA in carni fresche e preparazioni di carni in UE 2016



## Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Raw Milk: Prevalence, SCCmec Typing, Enterotoxin Characterization, and Antimicrobial Resistance Patterns

ALESSANDRA RIVA,<sup>1</sup> ELISA BORGHI,<sup>1\*</sup> DANIELA CIRASOLA,<sup>1</sup> SILVIA COLMEGNA,<sup>2</sup> FRANCESCA BORGIO,<sup>1</sup> ETTORE AMATO,<sup>1</sup> MIRELLA MARIA PONTELLO,<sup>1</sup> AND GIULIA MORACE<sup>1</sup>

- 2012, provincia di Milano
- **1,7%** (5/282) campioni di **latte di massa**
- **1,9%** (2/101) campioni di **latte crudo** (*distributori automatici*)
- Dei 7 ceppi di MRSA, uno era positivo per le tossine SEA, SED, SEE ed uno per SED
- MDR: aminoglicosidi, penicilline, tetracicline e SxT

# Monitoraggio di *Salmonella* ed *E. coli* produttori di geni ESBL (Extended-Spectrum $\beta$ -Lactamase), AmpC e carbapenemasi

- Decisione 2013/652: Stesse specie animali (polli da carne, tacchini, suini, bovini < 1 anno) e carni fresche di pollo, tacchino, suino e bovino
- I batteri che producono enzimi ESBL e AmpC sono resistenti a diversi  $\beta$ -lattamici, comprese le cefalosporine di III generazione (CIA) - WHO, 2016

## ESBL

- Classe A (famiglie TEM, SHV, CTX-M)
- Classe C: AmpC
- Classe D: famiglia OXA

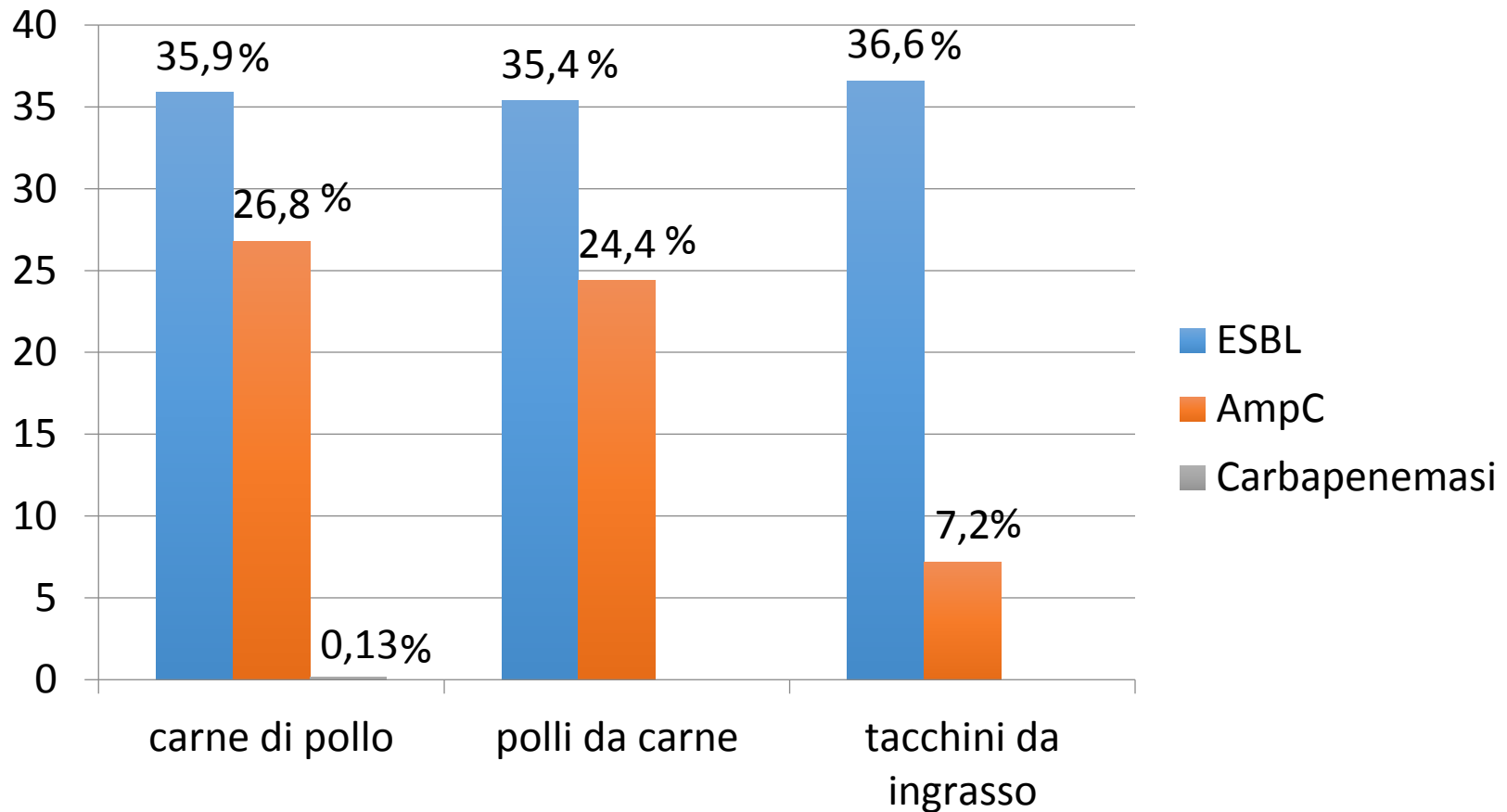
# Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE)

- Carbapenemi (**doripenem, ertapenem, imipenem, meropenem**): Ab di scelta in infezioni umane sostenute da Gram-negativi multi-resistenti
- Non consentiti negli animali da reddito (**WHO, 2015**)

## Carbapenemasi

- Classe A: **KPC, GES**
- Classe B: **VIM, NDM, IMP**
- Classe D: **OXA 48-like, OXA 181**
- Le R segnalate in letteratura sono spesso legate all'impiego negli animali di altri  $\beta$ -lattamici (ad es. penicilline e cefalosporine di terza generazione)

# Prevalenza di *E. coli* produttori di geni ESBL, AmpC e carbapenemasi \* – EU 2016



\* Identificazione presuntiva, cioè fenotipica (non genotipica)

# Suini e batteri CPE (Europa)

Germania (dal 2011 al 2015)

- *bla*<sub>VIM-1</sub> ***E. coli***
- *bla*<sub>VIM-1</sub> ***Salmonella* Infantis**

Italia

2016: *bla*<sub>OXA-181</sub> ***E. coli***

2017: *bla*<sub>VIM</sub> ***P. aeruginosa***



Fischer *et al.*, 2012; 2013  
EFSA and ECDC, 2015

Pulss *et al.*, 2017

Bonardi, not published data



# Bovini e batteri CPE

Cina (2015) – feci bovine e **latte** di vacche mastitiche trattate con cefalosporine di III gen.

- $bla_{\text{NDM-5}}$ ,  $bla_{\text{OXA-1}}$  *K. pneumoniae* multiresistente

He et al., 2017



Algeria (2015) – **latte vaccino** e tettarelle

- $bla_{\text{NDM-5}}$  *E. coli*

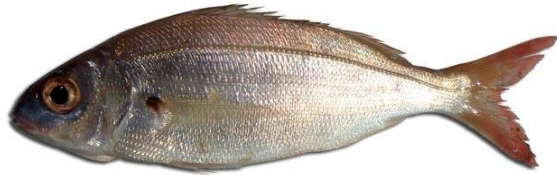
Yaici et al., 2016

Italia (2017) – feci bovine

- $bla_{\text{KPC}}$  *K. pneumoniae*

Bonardi, not published data

# CPE in prodotti della pesca



## *Pagellus acarne*

- 2012 - Algeria, Mar Mediterraneo
- *bla*<sub>OXA23</sub> – *A. baumannii*
- Primo isolamento di batteri produttori di carbapenemasi da pesci pescati in mare (Mar MEDITERRANEO)

Brahmi et al., 2016



- Germania- **vongole** provenienti dall'Italia
- *bla*<sub>VIM-1</sub> *E. coli*
- Coinvolgimento della catena alimentare (e dell'**ITALIA**) nella diffusione di batteri resistenti ai carbapenemi


Roshanski et al., 2017

# Da ultimo....

International Journal of Antimicrobial Agents 52 (2018) 702–705


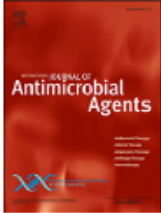
---

Contents lists available at [ScienceDirect](#)

  
**ELSEVIER**

International Journal of Antimicrobial Agents

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



Short Communication

Assessing antimicrobial resistance gene load in vegan, vegetarian and omnivore human gut microbiota

Carmen Losasso<sup>a,1,\*</sup>, Andrea Di Cesare<sup>b,1</sup>, Eleonora Mastroianni<sup>a</sup>, Ilaria Patuzzi<sup>a,c</sup>,  
Veronica Cibirin<sup>a</sup>, Ester M. Eckert<sup>d</sup>, Diego Fontaneto<sup>d</sup>, Angiola Vanzo<sup>e</sup>, Antonia Ricci<sup>a</sup>,  
Gianluca Corno<sup>d</sup>

- Geni per la resistenza a sulfamidici (***sul2***) e streptomina (***strB***) più frequenti nel microbiota di onnivori e vegetariani
- Ipotesi: ***carni e alimenti di origine animale potrebbero fungere da carrier di geni di AMR per l'uomo tramite la catena alimentare***



UNIVERSITÀ DI PARMA

Dipartimento di Scienze Medico-Veterinarie

Grazie per la vostra  
attenzione

[silvia.bonardi@unipr.it](mailto:silvia.bonardi@unipr.it)