

VALUTAZIONE DELL'ANTIBIOTICO-RESISTENZA IN BATTERI ENTEROPATOGENI DA UOMO E SUINO

MIRELLA PONTELLO

Università degli Studi di Milano

Dipartimento di Sanità Pubblica – Microbiologia - Virologia

Il tema che mi è stato affidato è caratterizzato da un grande complessità in considerazione di una serie di elementi in gioco, riconducibili a tre categorie: ¹⁾ la diversità delle specie batteriche, commensali o patogene per l'uomo e/o per l'animale; ²⁾ la diversità dei composti antimicrobici utilizzati/utilizzabili in medicina umana e/o zootecnia e in medicina veterinaria; ³⁾ la diversità dei meccanismi di resistenza, sia naturali che conseguenti a mutazioni o ad acquisizione di materiale genetico. Tale complessità, documentata da un'ampia letteratura scientifica (Tabella 1), viene qui descritta esaminando i seguenti punti:

1. premesse: i termini del problema
2. definizioni e meccanismi
3. la prevalenza e la diffusione delle resistenze
4. associazione tra uso degli antimicrobici in zootecnia e comparsa delle resistenze
5. le criticità e le contestazioni
6. uno studio italiano
7. note conclusive

1. Premesse: i termini del problema

L'introduzione di composti antimicrobici in medicina umana e in veterinaria ha rappresentato uno delle più significative conquiste del XX secolo, tuttavia molto rapidamente è emerso il problema delle resistenze derivanti dalla pressione selettiva esercitata con l'uso ed abuso dei diversi composti nei due ambiti: quello clinico per la cura e la profilassi delle infezioni nell'uomo e quello agricolo-zootecnico per il trattamento degli animali (1, 6, 24, 25). Si deve anche considerare che molti composti usati per il trattamento degli animali sono strettamente correlati a quelli impiegati in medicina umana: β -lattamici (penicillina e cefalosporine), sulfamidici con o senza trimetoprim, tetracicline, macrolidi, lincosamine e streptogramine, chinolonici e fluorochinolonic. In termini quantitativi il consumo di antimicrobici (termine preferibile rispetto al "vecchio" termine "antibiotici") è rilevante (12, 25, 34, 35, 41); tra i tanti citiamo solo alcuni dati

- nell'Unione Europea nel 1997 sono state impiegate 5400 tonnellate di composti antimicrobici in medicina umana e 3949 tonnellate per la salute degli animali (terapia - prevenzione – controllo) e 1599 tonnellate come promotori di crescita; da questi dati si calcola un consumo pari a 54 mg/kg negli uomini e 241 mg/kg negli animali¹;
- nell'unione Europea, dopo il bando dell'uso degli antibiotici quali promotori di crescita (1999) si è osservato un incremento del consumo a scopo terapeutico:

¹ tetraciclina 66%, macrolidi 12%, β -lattamici 9%, aminoglicosidici 4%, sulfamidici 2%, fluorochinolonici 1%

da 383 t nel 1999 a 437 t nel 2000; soprattutto per il trattamento dei suini il composto coinvolto in questo incremento (+116%) è la tetraciclina, seguita da macrolidi e lincosamine (+88%) e dagli aminoglicosidici (+ 68%).

- negli USA si stima che 80% della produzione di composti antimicrobici sia utilizzato in agricoltura.

In ambito zootecnico gli antimicrobici sono impiegati per i seguenti diversi scopi (1, 25, 35):

- terapia: trattamento delle infezioni in animali clinicamente malati;
- metaflassi: trattamento di animali clinicamente sani appartenenti ad un allevamento dove sono presenti animali malati;
- prevenzione/proflassi: trattamento di animali sani ma esposti al rischio per prevenire l'insorgenza di malattie (periodi di stress);
- controllo: somministrazione di antibiotici ad animali sani in allevamenti in cui la morbosità/mortalità eccede la norma;
- promozione della crescita: addizionamento continuo di anti-microbici nei mangimi per migliorare la crescita (+ 4-5% del peso).

All'utilizzo così esteso di composti antimicrobici è stata attribuita la comparsa di stipiti batterici resistenti agli antimicrobici, isolati dagli allevamenti, da ambienti contaminati da liquami provenienti da allevamenti come pure dagli alimenti di origine animale e da soggetti addetti al settore agricolo (8, 37). Parimenti è emersa la grave diffusione di stipiti resistenti in ambiente ospedaliero (specie patogene ed opportuniste). D'altronde si può ricordare che già nel 1946 Alexander Fleming, scopritore del primo antibiotico, la penicillina, aveva previsto il problema: "*There is probably no chemotherapeutic drug to which in suitable circumstances the bacteria cannot react by some way acquiring "fastness"* [resistance] e, attraverso una ricchissima letteratura, si può arrivare alla recente affermazione di Alekshun and Levy (2007) "*The means that microbes use to evade antibiotics certainly predate and outnumber the therapeutic interventions themselves.*" (3). Tutto questo ha innestato, a partire dagli anni '60, la discussione sull'uso di composti ad azione antimicrobica in medicina umana e in agricoltura ed ha portato ad un grande impegno del mondo scientifico per studiare il fenomeno della resistenza e, quindi, per mettere a punto strategie atte a limitarne la diffusione, strategie sostenute anche da decisioni di carattere normativo (12, 38, 39, 40).

2. Definizioni e meccanismi

Che cosa si intende per resistenza? La Tabella 2 riporta alcune definizioni del termine resistenza o stipite resistente: come si può notare le definizioni hanno, per certi aspetti, carattere relativo, in funzione dell'efficacia dei composti antimicrobici alle concentrazioni che sono raggiungibili in terapia umana.

I meccanismi che sono alla base delle resistenze possono essere di tipo intrinseco od acquisito (2, 3, 13, 24, 27, 29, 37) ; in questo secondo caso le resistenze, emergenti più facilmente in situazioni di pressione selettiva, sono attribuibili o a mutazioni o al trasferimento orizzontale (da una cellula ad un'altra) di determinanti di resistenza mediante trasferimento, coniugazione, trasduzione; si definisce, invece, traslocazione il passaggio dei caratteri di resistenza da un sito ad un altro nella stessa cellula (per esempio da un plasmide al cromosoma batterico) (figura 2). La diffusione del fenomeno nel mondo microbico è reso ancor più complesso dalla varietà e mobilità degli elementi portatori delle basi genetiche della resistenze stesse, qui di seguito brevemente descritti:

- **plasmidi:** contengono geni codificanti per la resistenza ed altri caratteri, si replicano indipendentemente dal cromosoma; in una cellula batterica possono essere presenti più plasmidi;
- **transposoni:** elementi genetici mobili che possono essere inseriti in plasmidi o integrati nel cromosoma della cellula ospite; codificano per i fattori necessari alla loro self-translocazione (enzima transposasi);
- **transposoni coniugativi:** in grado di facilitare la loro self-translocazione attraverso l'azione di elementi denominati IS (*Insertion Sequences*) ed il trasferimento di plasmidi da un microrganismo a un altro;
- **integroni:** contengono collezioni di geni (*gene cassettes*) e sono classificati in base alla sequenza di proteine integrasi cui si deve la funzione di ricombinazione. Queste complesse configurazioni vengono anche denominate “*antimicrobial resistance islands*” (es. multidrug antibiotic resistance di *S. Typhimurium* DT104);
- **super-integroni:** contengono centinaia di *gene cassettes* (circa 3% del genoma della cellula ospite).

I meccanismi d'azione (25) dell'antimicrobico ed i meccanismi di resistenza per le principali classi di composti sono riferiti nella tabella 4. Considerando solo il genere *Salmonella* sono stati riconosciuti – come riferito da Michael (26) in una recente revisione - diversi geni, anche a diversa locazione (plasmidica, cromosomica, ecc.), per la stessa resistenza:

- alla tetraciclina: 5 geni
- al cloramfenicolo: 8 geni
- all' aminoglicosidico-adeniltransferasi: 16 geni
- all' aminoglicosidico-acetiltransferasi: 5 geni
- all'aminoglicosidico-fosfotransferasi: 3geni
- al trimetroprim: 13 geni
- ai sulfamidici: 3 geni.

3. La prevalenza e la diffusione delle resistenze attraverso la catena alimentare

In molti Paesi sono stati attivati dei sistemi di sorveglianza che consentono di monitorare la diffusione delle resistenze attraverso la filiera alimentare, la prevalenza dei diversi pattern di resistenza (mono e soprattutto multi-resistenze) ed i relativi trends nei diversi settori (Figura 1, Tabella 3) (11, 18, 23, 34).

Per quanto riguarda le modalità del passaggio dei caratteri di resistenza dal serbatoio animale all'uomo si distinguono due diversi casi (8, 14, 15, 16, 41) (figura 3 e 3 bis):

- la possibilità che stipiti batterici resistenti presenti in *food animals* possano portare alla presenza di stipiti resistenti commensali nell'intestino umano, che tuttavia non causano infezione ma persistono nel tempo e si trasmettono da uomo a uomo; occasionalmente batteri commensali resistenti possono determinare infezioni opportunistiche;
- la possibilità che ciò avvenga attraverso l'aumento della frequenza di stipiti zoonotici resistenti (*Salmonella e Campylobacter*), che tuttavia solo raramente sono trasmessi da uomo a uomo: in questo caso la prevalenza delle resistenze è direttamente correlata alla prevalenza delle resistenze negli animali (*animals food*).

4. L'impatto sulla salute umana

Definire l'impatto sulla salute umana implica la risposta a due domande:ⁱ⁾ quanto è dimostrata l'associazione eⁱⁱ⁾ quali sono le conseguenze clinicamente rilevabili? (4, 5, 6, 8)

ⁱ⁾ Il passaggio delle resistenze dall'animale all'uomo, condizionato dalla pressione selettiva esercitata con il trattamento degli animali per vari scopi e coinvolgente sia specie patogene per l'uomo che specie abitualmente commensali, è senz'altro plausibile, ma quali osservazioni lo hanno documentato? in quale misura può essere considerato un fenomeno dimostrato nella realtà? In letteratura (5, 29) l'associazione tra l'uso di agenti antimicrobici in *food animals* e le resistenze nei batteri isolati dall'uomo è stata documentata attraverso diverse strade:

- a. attraverso indagini sugli eventi epidemici (17, 28)
- b. attraverso indagini epidemiologiche sulle infezioni sporadiche (5)
- c. con studi sul campo (5)
- d. attraverso case-reports (17)
- e. evidenziando associazioni ecologiche e temporali (5)
- f. utilizzando subtipizzazioni molecolari che consentono di paragonare stipiti di fonte umana e non (14).

In questa sede, per essere sintetici, possiamo solo riferire nella Tabella 5 alcuni esempi per ciascuno di queste strade.

ⁱⁱ⁾ L'assunzione di antimicrobici, per qualsiasi motivo, provoca effetti di tipo competitivo e selettivo sulla microflora intestinale (Tabella 6) (19); più esattamente si considera:

- effetto competitivo quello derivante dalla diminuita resistenza alla colonizzazione da parte di stipiti sia resistenti che sensibili quando il farmaco è preso prima dell'esposizione al patogeno
- effetto selettivo quello che si osserva quando il farmaco è somministrato durante l'esposizione all'agente patogeno: in questo caso si avrà un effetto preventivo solo se il patogeno è sensibile a quel composto, la flora "normale" verrà inibita, mentre il patogeno resistente sarà in grado di provocare infezione anche con bassa carica infettante.

Le conseguenze clinicamente rilevabili della diffusione di stipiti resistenti sono sia di tipo quantitativo sia qualitativo (5, 8, 9, 18, 20, 21, 22, 29, 35): infatti, da una parte è documentata l'insorgenza di un eccesso di casi, cioè la comparsa di infezioni che altrimenti non si sarebbero verificate se lo stipite non fosse stato resistente, dall'altra si verifica una maggiore gravità delle infezioni, in termini di maggiore durata della fase clinica, incremento del tasso di ricovero e maggiore rischio di fallimento del trattamento, associato ad una limitata scelta degli agenti terapeutici; queste conseguenze sono state in particolare correlate alle infezioni di origine alimentare, sostenute da ceppi resistenti in pazienti trattati con antibiotici per qualsiasi altra ragione.

Per quanto riguarda l'eccesso di casi correlato al contagio con ceppi resistenti, Barza et al. (9) attraverso una metanalisi hanno valutato l'incremento di rischio di trasmissione per le persone in trattamento antibiotico per qualsiasi motivo, definendo la "frazione attribuibile" (*attributable fraction*), calcolata come proporzione delle infezioni che non sarebbero insorte se lo stipite non fosse stato resistente (o se la persona non avesse assunto antibiotici per motivi non correlati): su 6 studi selezionati dagli autori l'OR cumulativo, per i soggetti in trattamento con un antibiotico verso il quale il patogeno sia resistente, è risultato pari a 3,7 (95% CI 2,7-5,0). In termini di *risk assessment* è stato anche stimato

che ogni anno negli USA si verificherebbero almeno 29.379 casi di infezioni da *Salmonella* spp., con 342 ricoveri e 12 morti per ceppi resistenti derivanti da *food animals*; per le infezioni da *Campylobacter* la resistenza negli animali contribuirebbe a 17.668 casi e 95 ospedalizzazioni.

La seconda conseguenza clinica riguarda l'evoluzione dell'infezione, sia in termini di maggiore durata e gravità sia di possibile insuccesso della terapia; dei numerosi dati pubblicati in letteratura ne citiamo alcuni, a titolo esemplificativo, attestanti:

- la maggiore durata della malattia:

- in diversi studi (Tabella 7) è stato osservato un significativo incremento della durata della fase clinica dell'infezione sostenuta da stipti di *Campylobacter* spp. resistenti ai fluoro-chinolonic (29);
- in uno studio prospettico in Danimarca nel 2004 (15) la durata media della malattia è risultata maggiore per gli 86 pazienti con infezione da *C. jejuni* resistente ai chinolonic (mediana 13.2 giorni rispetto ai 381 pazienti con infezione da ceppi sensibili ai chinolonic (mediana 10.3 days, $p = 0.001$); non è invece stata osservata un'associazione tra il trattamento con composti fluoro-chinolonic prima della raccolta del campione di feci e la presenza di infezione da ceppo resistente di *C. jejuni*

- la maggiore severità dell'infezione (cioè tasso di ospedalizzazione, esito sfavorevole, insuccesso terapeutico):

- uno studio a cura dei CDC (1989-90) su 758 casi sporadici di salmonellosi (5) ha evidenziato che pazienti con infezioni dovute a stipti resistenti hanno maggiore probabilità di essere ricoverati in ospedale rispetto a quelli infetti da stipti sensibili ($P = .006$);
- lo studio del *National Antimicrobial Resistance Monitoring System*, USA (NARMS) (36) ha messo in evidenza che l'ospedalizzazione per infezione setticemica si verifica più frequentemente nei soggetti infetti con stipti resistenti ad almeno uno degli antimicrobici clinicamente importanti rispetto ai soggetti con infezioni sostenute da germi sensibili (OR aggiustato, 3.1; 95% CI, 1.4–6.6); una analoga e significativa differenza - ancora secondo i dati del NARMS (USA 1996-2001) - risulta per le infezioni invasive, sistemiche, da sierotipi di *Salmonella* non tifoidei [OR], 1.6; 95% confidence interval [CI], 1.2–2.1); la figura 6 e la tabella 8 descrivono con maggiore dettaglio lo studio NARMS;
- uno studio svolto in Danimarca, (1996-2000), analizzando i dati riportati sui registri dei sistemi di sorveglianza e aggiustando i dati per sesso, età, patologie concomitanti (*comorbidity*), ha documentato che su 1323 pazienti infetti da *Salmonella* sierotipo Typhimurium, l'infezione da stipti resistenti ai fluo-chinolonic è associata al rischio di forme invasive o esito letale 3,15 volte maggiore (95% CI 1.39–7.10) rispetto ai casi di infezione da ceppi pan-suscettibili (frequenza delle forme invasive o morte: 8,86% v.so 4,42%) . Lo stesso studio documenta che pazienti infetti da stipte di *Campylobacter* resistente ai chinolonic hanno un rischio 6 volte maggiore di andare incontro ad un evento avverso ("*adverse event*" definito come: "*invasive illness or death, within 90 days of the date of receipt of samples*") rispetto ai soggetti infetti con ceppi suscettibili ai chinolonic e all'eritromicina (21, 22);
- il rapporto della prima epidemia nella popolazione generale ("*community outbreak*") in Danimarca dovuta a *Salmonella* DT 104 (1998) riferisce che lo stipte isolato dai 25 casi confermati era resistente all'acido nalidixico e aveva una ridotta suscettibilità

ai fluoro-chinolonici, undici pazienti sono stati ricoverati in ospedale e per due casi l'esito è stato letale; con l'epidemiologia molecolare è stata dimostrato la sorgente di infezione era un allevamento di suini e le indagini hanno suggerito una ridotta efficacia clinica del trattamento con fluorochinolonici (28);

- l'eccesso di mortalità associata all'infezione da stipiti di *Salmonella* Typhimurium resistenti all'ampicillina, al cloramfenicolo, alla streptomycina, ai sulfonamidici, e alla tetraciclina è evidenziata da un altro studio danese: i pazienti infetti da stipiti con questo spettro di poliresistenza hanno 4.8 volte (95% CI 2.2 to 10.2) maggiore probabilità di morire mentre l'infezione da stipiti resistenti ai chinolonici è associata ad un rischio di mortalità 10.3 più grande di quella osservata nella popolazione generale (20).

Accanto ai dati pubblicati sulla letteratura scientifica non mancano autorevoli prese di posizione delle autorità internazionali, che testimoniano un sostanziale accordo sull'esistenza di un nesso tra l'uso degli antimicrobici nei food-animals e l'emergenza e la diffusione di batteri resistenti, in particolar modo d'agenti trasmissibili all'uomo quali *Salmonella* e *Campylobacter* (38, 39, 40). Riportiamo alcune affermazioni a cura di WHO *Consultations* e della *Codex Alimentarius Commission*:

- # Berlin meeting 1997 - WHO Consultation on the Medical Impact of Anti-microbial Use in Food Animals: "There is direct evidence that anti-microbial use in animals selects for anti-microbial-resistant non-typhoid *Salmonella* serotypes. These bacteria have been transmitted to humans in food or through direct contact with animals"
- # Geneva meeting 1998 "Use of Quinolones in food Animals and potential impact on Human Health": "the use of fluoroquinolones in food animals has led to the emergence of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* and of *Salmonella* with reduced susceptibility to fluoroquinolones"
- # Codex Committee on Food Hygiene 2001: "This use is the principle contributing factor to the emergence and dissemination of anti-microbial resistance among bacterial pathogens and commensals that have food animal reservoirs"
- # Codex Codex Committee on Residues of Veterinary Drugs in Foods, 2001-13th session: "Animals serve as reservoirs for food borne pathogens, including *Salmonella* and *Campylobacter*. Antibiotic resistant food borne pathogens may be present in and on animals as a result of drug use in animals. These resistant food borne pathogens may contaminate a carcass at slaughter and can be transmitted to humans through consumption and handling of contaminated food. In industrialized countries, the food borne pathogens, *Salmonella* and *Campylobacter*, are infrequently transferred from person to person. In these countries, epidemiological data have demonstrated that a significant source of antibiotic resistant food borne infections in humans is the acquisition of resistant bacteria originating from animals that is transferred on food."

Da queste considerazioni, con l'obiettivo di impedire/ridurre l'impatto dell'uso degli antimicrobici in zootecnia sono state anche fissate delle norme:

- # il WHO / 1997-1999 raccomanda di interrompere l'uso di antimicrobici come fattori di crescita se corrispondono o se rappresentano composti appartenenti a classi di antimicrobici utili in patologia umana;
- # l'Unione Europea / 2001 bandisce l'uso - come promotori di crescita - dei seguenti antibiotici: avoparcina, tilosina, spiramicina, bacitracina, virginiamicina;
- # in ambito zootecnico i Paesi Membri UE dal 2006 devono interrompere l'uso degli antimicrobici come promotori di crescita.

A queste decisioni corrispondono delle conseguenze anche di segno contrastante (11, 12); esemplifichiamo:

conseguenze favorevoli

- Svezia: già sospeso l'uso dal 1986: risultati competitivi a livello di produzione e conseguente riduzione della prevalenza delle resistenze in stipti isolati da animali, alimenti, uomo;
- Danimarca: non effetti sfavorevoli per i profitti degli allevatori e per lo stato di salute dei polli (*broiler chickens*);

viceversa:

- in Europa non diminuisce, anzi aumenta la prevalenza della resistenza alla vancomicina negli enterococchi isolati da infezioni nell'uomo (negli USA alta prevalenza di VRE in assenza di uso dell'avoparcina negli animali);
- in Europa si osserva l'aumento dell'uso terapeutico degli antimicrobici nei *food animals* (da 383 tonnellate nel 1999 a 437 nel 2000);
- in Danimarca: per un maggiore impiego terapeutico, si registra un aumento della resistenza a tetraciclina e sulfamidici sia in ceppi di origine suina che in quelli isolati dall'uomo;
- In Danimarca è anche riferito un aumento nei suini della morbosità e mortalità per infezioni enteriche, ecc. con conseguente aumento dell'uso terapeutico di antibiotici (+ 116% per Te, + 8% per macrolidi, + 68% per aminoglicosidici a dispetto dei tentativi di migliorare le condizioni igieniche degli allevamenti.

5. Le criticità e le contestazioni

Tutto quanto sopra riportato può suggerire l'idea di una ormai ben documentata documentazione a sostegno della responsabilità del mondo zootecnico nel travasare – quasi meccanicamente – le resistenze dall'animale all'uomo; tuttavia, trattandosi di un fenomeno biologico così complesso e condizionato da una così ampia serie di variabili, il mondo scientifico non appare oggi del tutto concorde sulla questione. Alcuni Autori (7, 33) ridimensionano o contestano il pur vario pannello delle prove a favore del ruolo che il trattamento antimicrobico degli animali avrebbe nell'insorgenza delle resistenze nell'uomo: l'impatto dell'uso di antimicrobici in veterinaria si verificherebbe in una fase precoce e complessivamente sarebbe sovrastimato, mentre non si terrebbero in dovuta considerazione altri elementi come l'uso di composti antimicrobici per gli animali di affezione²; Smith et al. (33), attraverso al costruzione di modelli matematici (Figura 6, curve A, B, C) hanno concluso che

- A. *Animal Antimicrobial Use (AAU) does not change the equilibrium prevalence dramatically, but it does cause AR to invade 3 years sooner. The cumulative excess prevalence is the area between these two curves. The medical consequences*

²“Our analysis suggests that animal antibiotic use hastens the appearance of antibiotic resistant bacteria in humans. Our model indicates that the greatest impact occurs very early in the emergency of resistance, when antibiotic resistant bacteria are, possibly below detection limits of current surveillance methods” (a); “We suggest that the role of food-producing animals in the origin and transmission of antimicrobial resistance and foodborne pathogens has been overestimated and overemphasized in the scientific literature; consequently, non foodborne transmission, including pet-associated human cases has been underemphasized.”^(b)

of AAU are contrasted with a 50% increase in the rate of MAU (= Medical Antibiotic Use dashed line). Increasing MAU use makes resistance invade earlier and reach a higher equilibrium.

- B. The equilibrium prevalence is very sensitive to changes in the rate of MAU (ρ , solid line) relative to changes in the rate of exposure caused by AAU (λ , dashed line)
- C. The cumulative excess prevalence caused by AAU declines dramatically if exposure resulting from AAU is delayed. The longer AAU is delayed, the lower the impact. The units are scaled to the maximum impact. Each point, t , represents a numerical simulation identical to the top panel in every way except one. For each point, $\lambda = 0$ before t .

Riferiamo brevemente, con alcune sottolineature, le posizioni critiche più significative:

Smith et al. (33) ritengono che le misure restrittive nell'uso degli antimicrobici siano più efficaci quando il fenomeno della resistenza sia raro:

*“One solution might be to regulate animal antibiotic use (AAU) before antibiotic resistance (AR) becomes a problem in medicine and then allow prudent AAU once clinically significant resistance has already developed. This solution represents the opposite conclusion from a proposed regulatory concept in which drug use would be allowed until AR exceeds a threshold. This threshold concept may be an ineffective tool for managing commensal AR bacteria because once resistant bacteria are detected, much of the damage has been done. Thresholds may be useful for organisms such as *Campylobacter* and *Salmonella* but not AR in enterococci. In commensal bacteria with the potential for epidemic spread, small increases in prevalence when AR is extremely rare can initiate epidemics which may have large consequences. We are skeptical that a threshold in humans could be set low enough to effectively prevent the adverse effects of AAU.”*

Barber e coll.(7), di cui riportiamo parte dell'abstract:

“Antimicrobial resistance is an issue of increasing global concern. Several investigators have suggested that antibiotic use in food-producing animals is a major contributor to the increasing incidence of antimicrobial-resistant organisms causing illness in humans (...) We suggest that the role of food-producing animals in the origin and transmission of antimicrobial resistance and “foodborne” pathogens has been overestimated and overemphasized in the scientific literature; consequently, nonfoodborne transmission, including pet-associated human cases, has been underemphasized. Much evidence exists for the potential contribution to infectious disease that may be of human or pet origin (that may contact humans through food but not be of a food origin).”

Phillips et al. (31):

“Resistance is equally likely to diminish in prevalence when antibiotic use is decreased or discontinued, since although individual strains may retain resistance genes, they are often replaced by susceptible strains when the selective pressure is removed. There is now evidence that both of these phenomena have occurred in enterococci in Europe in relation to the use and discontinuation of use of growth-promoting antibiotics There is evidence from the USA and from Norway that some resistance may persist long after the use of an antibiotic has been discontinued. The persistence of virginiamycin resistance after its ban has been attributed to the use of penicillin selecting for associated resistance to virginiamycin....”

most of the studies of the food chain ignore the fact that there are potential sources of resistant enterococci and Enterobacteriaceae other than farm animals given antibiotics ...

Wild animals, especially rodents, and birds, especially gulls, can acquire these environmental contaminants ... Vegetables may also be contaminated from sewage, especially in countries in which human faeces is used as a fertilizer. ... Fish farming involves the use of antibiotics ... are widely used to prevent bacterial diseases in plants: tetracyclines and aminoglycosides are used to protect fruit trees from fire blight ... Genetic engineering in plants involves the use of a variety of antibiotics including vancomycin. ...

We are aware of no rigorous epidemiological studies of such potential reservoirs, and the assumption that they make negligible contributions to human enteric pathogen resistance is unfounded.”

“The simple (and it is now simple) demonstration that two genes are indistinguishable, or even truly identical, tells us nothing of the source of infection or its route of transmission or the dynamics of carriage without a study of temporal and spatial relationships. In many reported studies, such considerations are totally absent ...”

e ancora Philipps et al. (31), considerano specificamente il caso delle resistenze in *Salmonella*, *Campylobacter*, Enterococchi, *E.coli*:

- Salmonella: *“Clearly, resistance may be selected in salmonellae in animals given antibiotics, but this does not necessarily mean that the resistance arose in animals ...*

It is neither necessary nor sufficient for an epidemiologically successful Salmonella to be antibiotic-resistant, although they may have an advantage when antibiotics to which they are resistant are being used for other purposes”...

- Campylobacter:

“Most early studies that defined chicken as a risk factor did not consider restaurant dining and commercial food preparation as an explanation or as a confounder. ... clear that chicken prepared and eaten at home has a statistically negative association with campylobacter risk, ... Once venue is taken into account, chicken is no longer a risk factor ... Even if types are identical, they could have been acquired by both from a third unidentified source. ... fluoroquinolone resistance has been encountered in human isolates in countries in which fluoroquinolones are not approved for use in food animals, such as Sweden, Finland and Canada. Finally, it has been observed in Sweden that animal isolates may be fluoroquinolone-resistant in the absence of animal use of the fluoroquinolones...”

“The case for erythromycin resistance being selected in animals is even more difficult to assess since macrolides have been used for therapy and growth promotion in animals and in human therapy over decades. Macrolide use in human medicine is generally increasing ... Human campylobacter infection is usually confined to the intestine, and antibiotic therapy is usually not needed. As with salmonellosis, ..., the risk to human health from campylobacters that might have acquired their resistance in animals is probably very small. ... banning of growth promoters, including macrolides, is likely to have little effect on resistance in campylobacters from humans, and no effect on human medicine.”

- Enterococchi:
10 factors militate against the assumption that the risk to humans arising from resistant animal enterococci is real”
di questi 10 fattori ne segnaliamo solo uno:
“A very important consideration is the degree of host-animal specificity among enterococci. Under experimental conditions, it has proved impossible to establish animal strains in humans who have swallowed large inocula of VRE (Vancomycin Resistant Enterococci) and conversely to establish strains of human origin in animals, although, in experiments, animal strains may pass through the human intestine, multiply to a limited extent, and exceptionally be excreted for periods of up to 2 weeks. ... Using amplified length polymorphism analysis, they found that clinical isolates from hospitalized patients from several European centres resembled those from cats and dogs and some veal calves (subtype C), but, to their surprise, differed from faecal isolates from non-hospitalized human subjects, whose isolates resembled those of pigs (subtype A). Turkeys and chickens and their farmers had subtype B whereas most veal calves and their farmers had subtype D.”
- E.coli:
“colonization with animal E. coli is transient and animals are not an important source of resistant coliforms.
 ...
“These susceptibility patterns support the hypothesis that resistance in E. coli is more likely to be driven by human antibiotic use, although an animal origin for at least some clinical isolates cannot be excluded (leaving aside the case of O157). It is intriguing that antibiotic-resistant E. coli has been isolated in rural areas from wild rodents in the UK.
- # e per finire, in tema di effetti del bando dell'uso degli antimicrobici in Europa, citiamo il parere critico di Casewell et al. (12):
“Following the ban on all growth-promoting antibiotics in Sweden in 1986, and the ban on avoparcin and virginiamycin in Denmark in 1995 and 1998, the European Union (EU) banned the use of avoparcin in 1997 and the four remaining antibiotics used for growth promotion in 1999, on the basis of the ‘Precautionary Principle’. These four antibiotics were bacitracin (a polypeptide), spiramycin and tylosin (macrolides), and virginiamycin (a streptogramin combination). ... Experience in Sweden had already shown that the bans might have adverse consequences for animal health and welfare, and economic consequences for farmers. There were also suggestions that human health is unlikely to benefit and that it might even be adversely affected ...”
Consequences for human infection
“The only attributable effect on humans has been some diminution in vancomycin resistance in enterococci isolated (VRE) from human faecal carriers... However, despite the growth promoter ban and the reduction of carriage of resistant enterococci in animal and human faeces, there has been no diminution in the prevalence of resistant enterococcal infection in humans ”

8. Uno studio italiano

Sottolineando che tutto ciò che è stato riportato nei paragrafi precedenti non esaurisce la ricchezza della letteratura sul tema che abbiamo affrontato e prima di tirare le con-

clusioni, citiamo anche una dato “nostro”, di recente pubblicato (32). Si tratta di uno studio condotto in collaborazione con l’IZS di Brescia, che ci ha permesso di studiare i caratteri di resistenza in stipti di *Salmonella* spp. isolati dalle filiere avicola (2% di campioni positivi) e suinicola (5,5%); gli stipti appartenenti a diversi sierotipi-pulso tipi sono risultati poliresistenti nel 76% dei casi (13/23 e 73/90 ceppi rispettivamente nelle due filiere). Sugli stipti multiresistenti (MDR) si è indagata la trasferibilità - ottenuta nel 25,6% dei casi - e le basi genetiche delle resistenze: 73,3% degli stipti MDR veicolano plasmidi; in 14 casi sono presenti integroni di classe 1. Abbiamo confrontato i dati osservati con quelli della letteratura, evidenziando similitudini e differenze (Tabella 9).

9. Note conclusive

La complessità del fenomeno che abbiamo cercato di illustrare è rappresentata in figura 7 (25, 26). Gli elementi in gioco sono numerosi e s’intersecano a vicenda, ma possiamo stabilire qualche punto fermo:

- negli animali come nell’uomo l’uso degli antimicrobici causa un incremento delle resistenze sia in microrganismi patogeni sia nella flora endogena;
- più è alto il numero di stipti resistenti nell’intestino e maggiore sarà la probabilità di trasferimento a stipti patogeni;
- la prevalenza osservata negli stipti patogeni è solo la punta dell’iceberg;
- la letteratura non ci permette di quantificare esattamente il contributo dell’uso degli antimicrobici in zootecnia al problema delle resistenze in medicina umana, ma certamente un legame esiste;
- dovendo affrontare il grave problema delle multiresistenze in ambito clinico, con limitata disponibilità di composti attivi, ogni fonte di resistenza deve essere efficacemente controllata;
- conseguentemente un basso livello di prevalenza delle resistenze nella flora intestinale degli *food animals* deve essere considerata un distintivo marcatore di qualità e sicurezza (e questo può salvaguardare anche l’efficacia delle terapie antimicrobiche in veterinaria);
ed alcune indicazioni per poter contenere il consumo di farmaci antimicrobici in zootecnia e, quindi, la diffusione delle resistenze:
- miglioramento dei metodi di allevamento,
- eradicazione delle malattie infettive,
- eventuale uso di vaccini,
- se l’uso degli antimicrobici è necessario, preferire quelli a limitato spettro di azione,
- non usare antimicrobici come promotori di crescita, favorendo mezzi alternativi (pre- e probiotici).

Accanto a questo non si può trascurare il ruolo delle attività di sorveglianza: sono utili per monitorare ciò che accade sul campo, ma non è detto che l’osservazione dei fenomeni sia sufficientemente tempestiva; inoltre, è necessario definire criteri di campionamento, che tengano conto della complessità dei fattori in campo. La sorveglianza non può limitarsi a raccogliere dati ed a calcolare la prevalenza delle resistenze, ma deve comprendere anche un’intelligente capacità di valutarle ed interpretare i fenomeni osservati, senza eccedere in allarmismi, ma anche pesando gli elementi di rischio.

Bibliografia

1. Aarestrup F.M. (2005) "Veterinary drug usage and antimicrobial resistance in bacteria of animal origin". *Basic & Clinical Pharmacology*; 96: 271-281
2. Alcaine SD, Warnick LD and Wiedmann M. (2007) "Antimicrobial resistance in non typhoidal *Salmonella*". *J Food Prot*; 70: 780-790
3. Alekshun M.N. and Levy S.B. (2007) "Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance". *Cell* 23: 1037-1050
4. Angulo F.J., Johnson K.R., Tauxe R.V., Cohen M.L. (2000) "Origins and consequences of antimicrobial-resistant non typhoidal *Salmonella*: implications for the use of fluoroquinolones in food animals" *Microb Drug Resist.* 6: 77-83.
5. Angulo F.J, Nargund VN and Chiller TC. (2004) "Evidence of an association between use of antimicrobial agents in food animals and anti-microbial resistance among bacteria isolated from humans and the human consequences of such resistance". *J Vet Med B*; 51: 374-379
6. Angulo F.J Baker NL, Olsen SJ Anderson A and Barrett TJ. (2004) "Antimicrobial use in agriculture: controlling the transfer of antimicrobial resistance to humans". *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*; 25: 78-85
7. Barber D.A., Miller G.Y., and McNamara P.E. (2003) "Models of antimicrobial resistance and foodborne illness examining assumptions and practical applications" *JFP* 66: 700-709
8. Barza M. (2002) "Potential mechanisms of increased disease in humans from antimicrobial resistance in food animals". *Clin Inf Dis*; 34 (suppl 3): S123-S125
9. Barza M and Travers K. (2002) "Excess infections due to antimicrobial resistance: the "attributable fraction"". *Clin Inf Dis*; 34 (suppl 3) S126-S130
10. Butaye P, Miachael G.B., Schwarz S., Barrett T.J., Brisabois A., White D.G. (2006) "The clonal spread of multi-drug resistant non-typhi *Salmonella* serotypes" *Microbes and Infections* 8: 1891-1897
11. Bywater R., Deluyker H., Deroover E., de Jong A., Marion H., McConville M., Rowan T., Shryock T., Shuster D., Thomas V., Vallé M. and Walters J. (2004) "A European survey of antimicrobial susceptibility among zoonotic and commensal acteria isolated from food-producing animals". *J Antimicrobial Chemotherapy*; 54: 744-754
12. Casewell M., Friis C., Marco E., McMullin P and Phillips I. (2003) "The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health". *J Antimicrobial Chemotherapy*; 52: 159-161
13. Cerniglia C.E. and Kotarski S. (2005) "Approaches in the safety evaluations of veterinary antimicrobial agents in food to determine the effects on the human intestinal microflora". *J Vet Pharmacol Therap*; 28: 3-20
14. Chiu C.H., Wu T.L., Su L.H., Chu C., Chia J.H., Kuo A.J., Chien M.S. and Lin T.Y. (2002) "The emergence in Taiwan of fluoroquinolone resistance in *Salmonella enterica serotype Choleraesuis*". *NEJM*; 346: 413-419
15. Engberg J., Neimann J., Nielsen M.E., Aarestrup F.M. and Fussing V. (2004) "Quinolone-resistant *Campylobacter* infections in Denmark: risk factors and clinical consequences". *EID*; 10: 1056-1063

16. FDA (2006) National Antimicrobial Resistance Monitoring System – Enteric Bacteria (NARMS): 2003 Executive report . U.S. Department of Health and Human Services, US food and Drug Administration , Rockville, MD
17. Fey P.D., Safranek T.J., Rupp M.E., Dunne E.F., Ribot E., Iwen P.C., Bradford P.A., Angulo F.J. and Hinrichs S.H. (2000) “Ceftriaxone-resistant *Salmonella* infection acquired by a child from cattle”. *NEJM*; **342**: 1242-1249
18. Foley S.L. and Lynne A.M. (2008) Food animal-associated *Salmonella* challenges: pathogenicity and antimicrobial resistance. *J. Anim. Sci.* **86** (E. Suppl): E173-E187
19. Garau J., Xercavins M., Rodriguez-Carballeira M., Gomez-Vera J.R., Col I., Vidal D., Llovet T., and Ruiz-Bremón A. (1999) “Emergence and dissemination of quinolone-resistant *Escherichia coli* in the community”. *Antimicrob. Agents Chemother* **43**: 2736-2741
20. Helms M., Vastrup P., Gerner-Smidt P. and Mølbak K. (2002) “Excess mortality associated with antimicrobial drug-resistant *Salmonella* Typhimurium”. *EID*; **8**: 490-495
21. Helms M., Somonsen J., Olsen K.E.P. and Mølbak K. (2005) “Adverse health events associated with antimicrobial drug resistance in *Campylobacter* species: a registry-based cohort study”. *JID*; **191**: 1050- 1055
22. Helms M., Simonsen J. and Mølbak K. (2004) “Quinolone Resistance is Associated with Increased Risk of Invasive Illness or Death during Infection with *Salmonella* Serotype Typhimurium” *JID*; **190**:1652–1654
23. Hendriksen R. S, Mevius D.J , Schroeter A., Teale C., Jouy E, Butaye P, Franco A, Utinane A, Amado A, Moreno M, Greko C., Stärk K.DC., Berghold C., Myllyniemi A.-L., Hoszowski A., Sunde M. and Aarestrup F.M. (2008) “Occurrence of antimicrobial resistance among bacterial pathogens and indicator bacteria in pigs in different European countries from year 2002 – 2004: the ARBAO-II study”. *Acta Vet. Scand.* **50**: 19
24. Khachatourians G.G. (1998) “Agricultural use of antibiotics and the evolution an transfer of antibiotic-resistant bacteria”. *CMAJ.* **59** :1129-36
25. Mateu E. and Martin M. (2001) “Why is anti-microbial resistance a veterinary problem as well?” *J Vet Med B*; **48**: 569-581
26. Michael G.B., Butaye P, Cloeckaert A., Schwarz S. (2006) “Gene and mutations conferring antimicrobial resistance in *Salmonella*: an update”. *Microbes and infection*; **8**: 1898-1914
27. Miriagou V., Carattoli A., Fannin g S. (2006) “Antimicrobial resistance islands :resistance gene lusters in *Salmonella* chromosome and plasmids”. *Microbes and infection*; **8**: 1923-1930
28. Mølbak K., Baggesen D.L., Aarestrup F. M., Ebbesen J. M., Engberg J., Frydendahl K., Gerner-Smidt P, Petersen A. M. and Wegener H.C. (1999) “An Outbreak of Multidrug-Resistant, Quinolone-Resistant *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium DT104” *NEJM* **341**:1420-1425
29. Mølbak K. (2004) “Spread of resistant bacteria and resistance genes from animals to humans. The public health consequences”. *J.Vet.Med. B*; **51**: 364-369
30. NCCLS. (2002) “Performance standards for antimicrobial susceptibility testing”. Twelfth Informational supplement M100-S12.NCCLS. Wayne, Pa

31. Phillips I., Casewell M., Cox T., De Groot B., Friis C., Jones R., Nightingale C., Preston R. and Waddell J. (2004) "Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data". *J Antimicrobial Chemotherapy*; 53: 28-52
32. Romani C., Aleo A. , Pellissier N., Viganò A. e Pontello M. (2008) "Characterization of multi-drug resistance in *Salmonella* strains isolated from animals". *Ann. Ist. Super. San* 44: 292-300
33. Smith D.L., Harris A.D., Johnson J.A., Silbergeld E.K., Morris J.G. (2002) "Animal antibiotic use has an early but important impact on the emergence of antibiotic resistance in human commensal bacteria.". *Proc. Nat. Am. Sc.* 99:6434-6451
34. Ungemach F.R. (2000) "Figures on quantities of antibacterials used for different purposes in the EU countries and interpretation". *Acta Vet Scand* 93: 89-97
35. Van de Bogaard AE and Stobberingh EE. (1999) "Antibiotic usage in animals. Impact of bacterial resistance and public health". *Drugs*; 58: 590-607
36. Varma J.K., Mólbak K., Barrett T.J, Beebe J .L., Jones T.F, Rabatsky-Ehr T, Smith K.E., Vugia D.J., Chang H-G. and Angulo F.J. (2005) "Antimicrobial resistant non typhoidal *Salmonella* is associated with excess bloodstream infections and hospitalizations. *JID*; 191: 554-561
37. White D.G., Zhao S., Simjee S., Wagner D.D., McDermott P.F. (2002) "Antimicrobial resistance of foodborne pathogens". *Microbes and Infections* 4: 405-412
38. World Health Organization (WHO), 1997. The medical impact of the use of antimicrobials in food animals. Report of a WHO Meeting, Berlin, Germany, 13-17 October 1997. WHO, Geneva, Switzerland
39. World Health Organization (WHO), 1998. Use of quinolones in Food animals and potential impact on human health. Report of a WHO Meeting, Geneva, Switzerland , 2-5 June 1998. WHO, Geneva, Switzerland
40. World Health Organization (WHO), 2000. WHO global principles for the containment of antimicrobial resistance in animals intended for food. Report of a WHO Consultation, 5-9 June, Geneva, Switzerland, Geneva, Switzerland, 2-5 June 2000. WHO, Geneva, Switzerland
41. Witte W. (1998) "Medical consequences of antibiotic use in agriculture". *Science* 279: 996-997

Tabella 1. PUB MED Risultati ricerca per key words.. Limiti: ultimi 5 anni, ricerca parola nel titolo e abstract

Combinazioni di parole chiave	Numero riferimenti
<i>antimicrobial resistance OR Multidrug resistance) + food animals</i>	773
<i>antimicrobial resistance OR Multidrug resistance) + foodborne diseases</i>	33
<i>antimicrobial resistance OR Multidrug resistance) + Salmonella</i>	892
<i>antimicrobial resistance OR Multidrug resistance) + Salmonella Typhimurium</i>	347
<i>antimicrobial resistance OR Multidrug resistance) + Campylobacter</i>	228
<i>antimicrobial resistance OR Multidrug resistance) + swine</i>	331

Tabella 2. Definizioni dei termini “resistenza” o “stipite resistente” *

Definizioni	Fonti
Resistant isolates: <i>isolates that are not inhibited by usually achievable systemic concentration of the agent with normal dosage schedules and/or fall in the range where specific antimicrobial resistance mechanisms are likely and clinical efficacy has not be reliable in treatment study.</i>	NCCLS
Resistance: <i>The result of microbes changing in ways that reduce or eliminate the effectiveness of drugs, chemicals, or other agents to cure or prevent infections” o anche “Antimicrobial resistance is the ability of microbes, such as bacteria, viruses, parasites or fungi to grow in the presence of a chemical (drug) that would normally kill it or limit its growth.”</i>	MedicineNet
Antimicrobial resistance <i>is the ability of microbes, such as bacteria, viruses, parasites, or fungi, to grow in the presence of a chemical (drug) that would normally kill it or limit its growth”</i>	National Institute of Health
Antimicrobial Resistance: <i>two definitions</i> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Functional definition: organisms become resistant to antibiotics, leading to treatment failures.</i> • <i>Laboratory definition: organisms have elevated minimum inhibitory concentrations (MIC).</i> • <i>Definitions do not always match.</i> 	CDC
Multi-Drug-Resistant-Organisms (MDRO): <i>microorganisms, predominantly bacteria, that are resistant to one or more classes of antimicrobial agents</i>	CDC Infection Control in Healthcare Settings

*** Siti consultati:**

- a. <http://www.clsi.org/>
- b. <http://www.medicinenet.com>
- c. <http://www.nih.gov/>
- d. <http://www.cdc.gov>
- e. <http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/>

Tabella 3. resistenze in stipti di *E.coli* isolati da suini sani (colonne a) e da suini malati (colonne b) (23).

antibiotico	Danimarca		Francia		Spagna	
	a	b	a	b	a	b
ampicillina	33,2	45,8	22,0	53,2	69,9	72,2
amoxicillina'+ac clav.	1,0	0,6	-	2,0	0,0	1,8
apramicina	3,4	13,6	4,0	3,3	4,9	13,0
ceftiofur	0,0	0,0	-	0,6	0,5	3,6
cloramfenicolo	9,1	41,8	14,0	-	30,6	40,8
ciprofloxacina	0,0	2,9	1,0	5,5	3,3	14,2
florfenicolo	0,0	0,0	1,0	0,9	2,2	7,1
gentamicina	3,4	12,0	0,0	5,5	7,7	19,5
ac. nalidixico	3,4	32,0	3,0	-	20,8	33,7
neomicina	15,8	35,0	5,0	10,9	11,5	20,1
streptomcina	47,6	77,4	62,0	-	66,1	74,0
sulfonamide	46,6	82,0	-	-	73,2	76,3
tetraciclina	43,8	91,0	86,0	82,6	95,6	87,0
trimetoprim	-	-	44,0	-	66,7	66,9
trimetoprim+sulf.	49,0	48,6	-	55,0	72,3	-

Tabella 4. Meccanismi di azione e di resistenza ai principali composti antimicrobici (25)

Famiglia d'antibiotici	Meccanismo d'azione	Meccanismo di resistenza	Tipo di resistenza
β -lattamici e cefalosporine	Inibizione della formazione della parete batterica	β -lattamasi diminuzione permeabilità di membrana Alterazione del target	Acquisizione di DNA Mutazione
Aminoglicosidi	Inibizione della sintesi delle proteine (legame con ribosoma 30S)	Mutilazione del target ribosomale Modificazione enzimi	Acquisizione di DNA Mutazione
Macrolidi	Inibizione delle sintesi di proteine (legame con ribosoma 50S)	Metilazione 23S RNA	Acquisizione di DNA Mutazione
Tetracicline	nibizione della sintesi delle proteine (legame con ribosoma 30S)	Azione sul meccanismo di efflusso Alterazione unione Alterazione del target	Acquisizione di DNA Mutazione
Sulfamidici	Inibizione competitiva dell'acido para-aminobenzoico (PABA)	Riduzione up-take Alterazioni enzimi metabolici Incremento produzione PABA	Acquisizione di DNA Mutazione
Chinolonici	Impedimento dell'avvolgimento a spirale del DNA	Mutazioni dei geni target <i>gyrA</i> e <i>parC</i> Azione sul meccanismo di efflusso	Mutazione
Rifamicina	Inibizione RNA-polimerasi	Alterazione RNA-polimerasi	Mutazione
Glicopeptidi	Inibizione della sintesi della parete cellulare	Alterazione del target	Acquisizione di DNA Mutazione
Polimixina	Distruzione della membrana cellulare	Aumento permeabilità	Mutazione

Tabella 5. tipi di studi e relativi esempi a sostegno dell'associazione tra uso degli antimicrobici in zootecnica ed emergenza di resistenze negli stipti isolati dall'uomo.(5)

Tipo di studio	Esempi in letteratura
a. indagini su eventi epidemici	<ul style="list-style-type: none"> • 1987 - epidemia da <i>Salmonella</i> resistente alla tetraciclina associata all'uso dell'antibiotico nei mangimi ("<i>top-dressing of cattle feed with tetracycline</i>") • 1987 - epidemia da <i>Salmonella</i> cloramfenicolo resistente correlata ad un allevamento di animali da latte dove era stato illegalmente utilizzato l'antibiotico • 1987 - una review di epidemie da <i>Salmonella</i> indica che le epidemie da ceppi resistenti hanno maggior probabilità di essere associate ad alimenti di origine animale rispetto alle epidemie da stipti sensibili • 2001 - <i>Salmonella</i> Typhimurium DT 104 resistente all'acido nalidixico associata ad un allevamento bovino dove erano stati usati i fluorochinoloni.
b. indagini su infezioni sporadiche	<ul style="list-style-type: none"> • 2004 Studio caso-controllo negli USA in soggetti infetti con <i>Campylobacter</i> resistente ai fluorochinoloni avevano maggiore probabilità di aver consumato pollo o tacchino • 2003 e 2004 - due studi caso controllo: è più probabile che i casi sporadici di infezione da <i>Salmonella</i> (S.Typhimurium DT104 e S.Newport) resistente abbiano visitato o vivano in ambiente rurale a contatto con gli animali rispetto ai soggetti infetti da ceppi sensibili
a. studi sul campo (fields study)	<ul style="list-style-type: none"> • aumento della resistenza alla tetraciclina in ceppi isolati da feci di pollame entro una settimana dall'introduzione della tetraciclina nei mangimi e quindi anche nei ceppi di <i>E.coli</i> isolati dalle feci dei soggetti addetti all'allevamento e loro familiari • l'uso della nurseotricina - una streptotricina non usata in terapia né umana né animale - come promotore della crescita in suini nella Germania Orientale provoca la comparsa di resistenza in diverse specie batteriche: coliformi, ma anche patogeni quali <i>Salmonella</i> e <i>Shigella</i>, isolati dagli animali e dall'uomo
c. case-report ^	<ul style="list-style-type: none"> • Isolamento da un bambino, figlio di un veterinario, di un ceppo di <i>Salmonella</i> sierotipo Typhimurium resistente a 13 composti tra cui il ceftriaxone, non distinguibile da un ceppo isolato da un animale; dall'allevamento, trattato a scopo terapeutico con ceftriaxone, sono stati isolati anche stipti sensibili al ceftriaxone, alla PFGE simili a quelli resistenti
d. associazioni ecologiche e temporali	<ul style="list-style-type: none"> • correlazione tra quantità di composti antimicrobici usati in <i>food animals</i> e comparsa di resistenze in selezionate specie batteriche (cfr Danimarca - DANMAP, 2002) • associazione temporale tra l'approvazione dell'uso di un dato composto antimicrobico e comparsa delle resistenze in una data area (USA: <i>Campylobacter</i> e resistenza ai fluorochinoloni) • confronto ecologico tra paesi nei quali è consentito l'uso di composti diversi (USA-Europa vs Australia per resistenza ai fluorochinoloni in (<i>Campylobacter</i>))
e. sub-tipizzazioni molecolari	<ul style="list-style-type: none"> • L'uso come promotore della avoparcina, approvato nel 1974 e bandito in Europa nel 1997, è associato all'emergenza di Enterococchi resistenti alla vancomicina (VRE): è documentata la stretta somiglianza dei ceppi VRE isolati da suini, pollame, soggetti sani ed ospedalizzati. Inoltre sono riconosciute due varianti codificanti per la vancomicina resistenza e veicolate dal transposone Tn 1546: <ul style="list-style-type: none"> o variante G: solo in ceppi da pollame e dall'uomo o variante T: solo in ceppi da suini e dall'uomo, <u>ma non</u> da soggetti di fede mussulmana. • Negli USA e in Europa, è provata l'associazione tra uso della gentamicina in <i>food animals</i> (pollame, tacchini e suini) e resistenza negli enterococchi isolati dall'uomo. • in Taiwan è documentata - anche con sequenziamento - la correlazione tra stipti di <i>S. Choleraesuis</i> di origine umana e suina resistenti ai fluochinoloni.

^ Sono i numerosi gli esempi di casi riguardanti allevatori, loro familiari, ecc. che sono risultati esposti all'infezione con ceppi resistenti attraverso il consumo d'alimenti d'origine animale.

Tabella 6: Effetti competitivi e selettivi dell'esposizione agli antimicrobici sul rischio di infezione (9)

susceptibilità del patogeno agli antimicrobici	rischio di infezione in caso di trattamento con l'antibiotico	
	prima dell'esposizione al patogeno	durante l'esposizione al patogeno
sensibile	incremento della vulnerabilità all'infezione da parte del patogeno (effetto competitivo)	infezione prevenuta
resistente	incremento della vulnerabilità all'infezione da parte del patogeno (effetto competitivo)	infezione facilitata (effetto selettivo)

Tabella 7. Studi che documentano un incremento della durata della diarrea in pazienti con infezione da *stipite di Campylobacter* resistente ai chinolonici e trattati con fluoro-chinolonici (Molbak 2004).

Referenza	Resistenti		Sensibili		p-value
	Numero di pazienti	Durata della diarrea (giorni)	Numero di pazienti	Durata della diarrea (giorni)	
Smith et al.(1999)	69	10	115	7	0.03
McVlellan et al.(2002) ^a	17	8	111	6	0.08
Neimann et al.(2004)	5	14	31	9	0.13
Enberg et al.(2004) ^b	86	13	381	10	0.001

^a Differenza anche nei pazienti non trattati

^b Questa differenza è stata osservata per tutti i pazienti indipendentemente dalla gestione o viaggi all'estero

Tabella 8. analisi multivariata dei pazienti con infezione sistemica da *Salmonella*: frequenza di isolamento di *Salmonella* da emocoltura (dati NARMS n = 7370) e ospedalizzazione pazienti rilevati da Food-Net tra quelli presenti in NARMS (n = 1415) (36)

Pattern di antibiotico- resistenza	OR (95%CI)	
	Infezioni ematogenea, analisi NARMS	Ricoveri con infezioni ematogne ^b , analisi FoodNet/NARMS
Pansuscettibili	riferimento	riferimento
>=1 agente	1.2 (1.0-2.1)	1.7 (0.9-3.1)
Importanti clinicamente	1.6 (1.2-2.1)	3.1(1.4-6.6)
R-type CSSuT	2.1.(1.3-3.3)	4.6 (1.3-16.7)

Note: CI, intervallo di confidenza; OR odds ratio

^a paragonato a infezione intestinale

^b paragonato con non ricoverato

^c resistente ad almeno ampicillina, ceftriazone, ciprofloxacina, gentamicina o trimethoprim-sulfametazolo

^d resistente almeno a ampicicllina, cloranfenicolo, streptomina, sulfametazolo e tetraciclina

Tabella 9. Antibiotico-resistenza in stiptipi di Salmonella : review dei dati della Letteratura; nell'ultima riga sono riportati i risultati del nostro studio italiano (32)

Area geografica	Fonte di isolamento	Sierotipo di <i>Salmonella</i> ¹	Prevalenza di stiptipi resistenti ²	Resistenze o spettri di resistenza più frequenti	Reference
England and Wales	animali ambiente foraggio	Tm (28,053) Dublin (6,548) Other (74,524)	Tm: 42,6-92,4% Dublin: 0,3-1,8% Other: 11,8-45,5% 3	Tm : Am, Te, S, Su	Jones(2002)
Spain	animali	Tm (104) Other (370)	61,7% 81,5%	Am, S, Te Su, Te	Usera(2002)
USA	alimenti importati	Wetlevreden (24) Other (165)	tutti i sierotipi: 8%	Te (4,3%)	Zhao (2003)
Europe	animali	Tm (108) Other (163)	4	Am (16,1-54,7%) Te (34,9-100%) 3	Bywater (2004)
USA	suini	Tm	4	AmKmSsSuTe (44,6%) AmCmSsSuTe (36,2%)	Gebreyes (2002)
USA	suini	Tm (24) Altri 6 sierotipi (17)	tutti i sierotipi MDR 98%	All the serotypes: Su (95%); Te (88%) Tm DT104: AmCSSuTe (100%)	White (2003)
USA	alimenti importati	Wetlevreden (41) Other (167)	tutti i sierotipi: 11%	Te (9%)	Zhao (2006)
UK	uomo animali	35 sierotipi (397)	tutti i sierotipi: 45%	Am (22,9%) C (21,4%)	Randall (2004)
France	uomo	Tm (320)	78,5%	Te (71%); Su (68%); Amx (64,7%); S (64,5%); Sp (59%); C (59%); AmSSpSuCTe (48,8%)	Weill (2006)
Ireland	uomo, alimenti, animali	Tm (67)	88% poli-resistenti	ACSSuT (77,6%)	Gorman (2004)
Holland	uomo, animali	≥25 sierotipi (237) 5	tutti i sierotipi: 46% resistenti; 29%poli-resistenti	Su (29%); Am (21%); Te and S (17%)	Vo Antt (2006)
Portugal	uomo, alimenti, ambiente	Tutti I sierotipi (1183)	Nä; Te; S; Su; Am: 17-31%	nessuno	Antunes (2006)
Italy ⁶	uomo, animali	Tm	4	AmCSSpSuT (75,9%)	Carattoli (2002)
Italy (Lombardia)	animali	21sierotipi (113) Tm e variante (54)	tutti i sierotipi: 85,0% (MDR 76,1%) Tm e variante monofastica: 100% (MDR 94,7%)	AmSSuTe (19,7%)	Nostro studio

0. Tm: abbreviazione per S. Typhimurium

1. tra parentesi il numero di ceppi, se indicato

2. la prevalenza di stiptipi resistenti (mono- and poli-resistenti) è riferita a tutti i sierotipi analizzati o, quando possibile, ai sierotipi maggiori. The observed range in the period 1988-1999 is indicated: for S. Typhimurium the minimum value in 1992 and maximum in 1995; for S. Dublin the minimum value in 1990 and 1996, and the maximum in 1997; for other serotypes the minimum value in 1988 and maximum in 1995

3. l'incidenza complessiva o/o la prevalenza per sierotipo non è riportata dall'European review (Bywater) la prevalenza è associata al tipo di animale e al Paese (per Am il valore massimo in Francia e minimo in Olanda; per l'entusiasmo valore in Spagna e minimo nel Regno Unito)

4. il totale dei sierotipi non è calcolabile; gli Autori riportano che gli stiptipi resistenti appartenevano a 25 sierotipi

5. gli stiptipi sono stati selezionati partendo dalla collezione dell'Istituto Superiore di Sanità -Roma⁷ e dell' "Istituto Zooprofilattico Sperimentale- Padova"

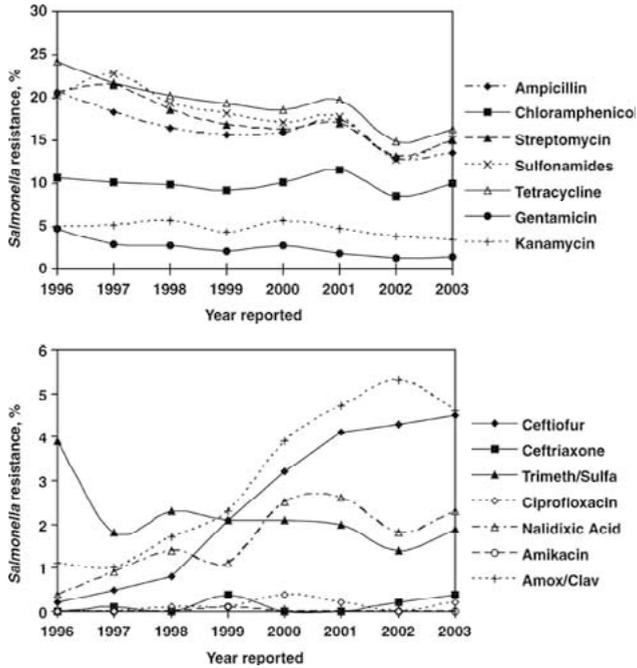


Figura 1. Trends 1996-2005 dell'antibioticoresistenza in stipiti di *Salmonella* isolati da fonti veterinarie (National Antimicrobial Resistance Monitoring System) (18)

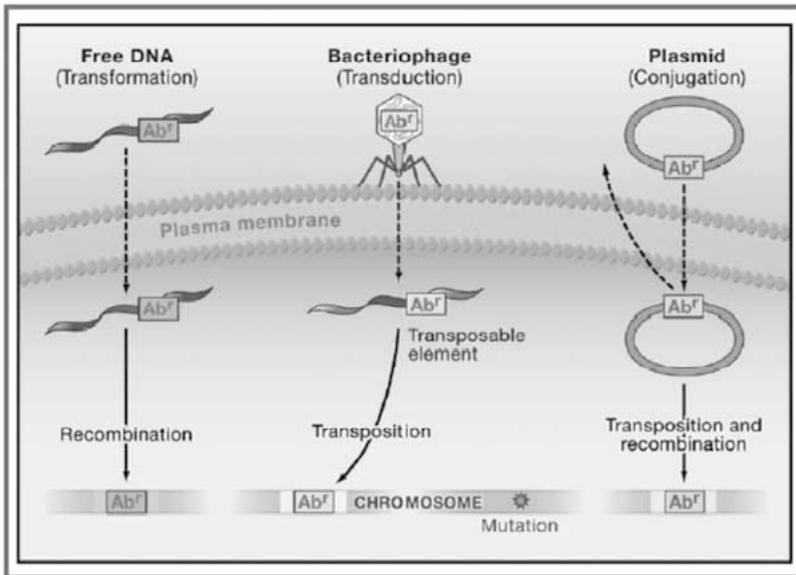


Figura 2a. I tre principali meccanismi di trasferimento orizzontale dei caratteri di resistenza (3).

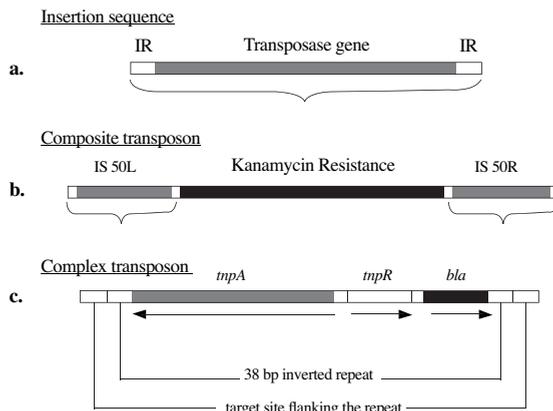


Figura 2b. Illustrazione schematica delle sequenze di inserzione (a), di un transposone composto (b) di un transposone complesso(c) (27)

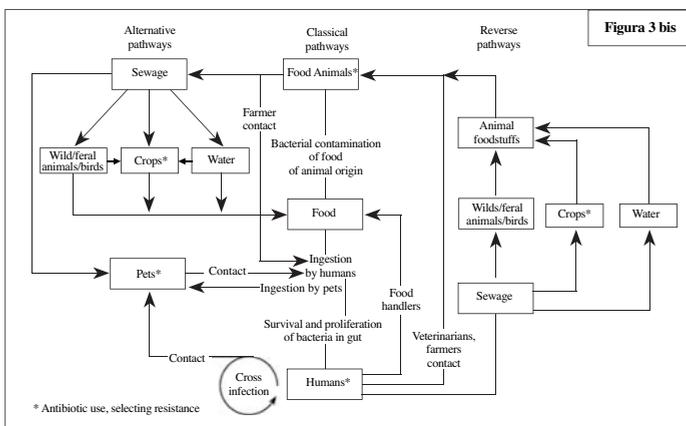
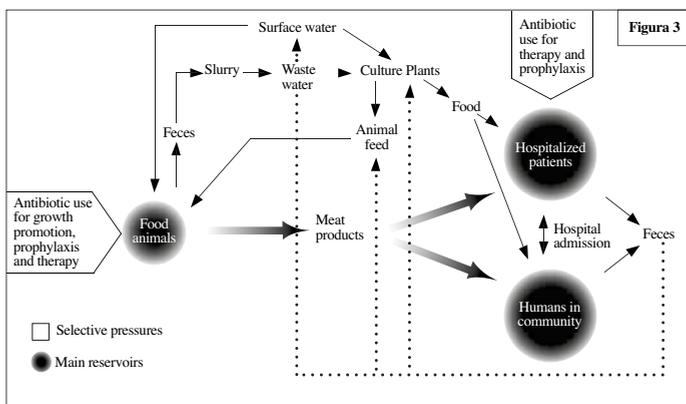


Figura 3 e 3 bis. passaggio delle resistenze dagli animali all'uomo: da Witte W, 1998 (figura3) e da Phillips, I. et al. 2004 (Figura 3 bis) (31,41)

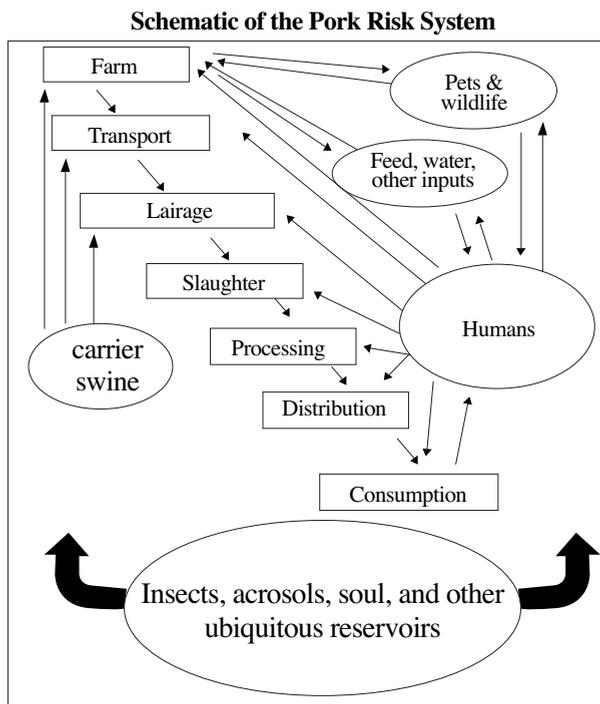


Figura 4. salmonellosi: sistema di rischio (7)

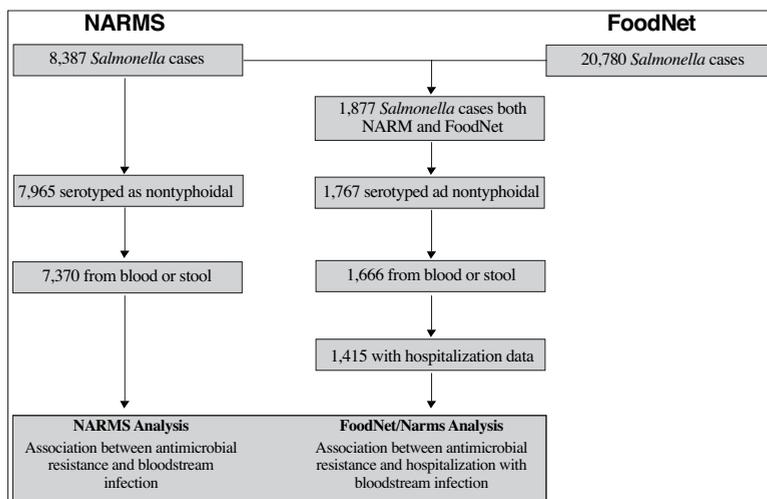


Figura 5. Pazienti con infezione da *Salmonella* confermata mediante esame culturale e inclusi nell'analisi dei dati a cura del National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS) e del Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet), 1996–2001 (36).

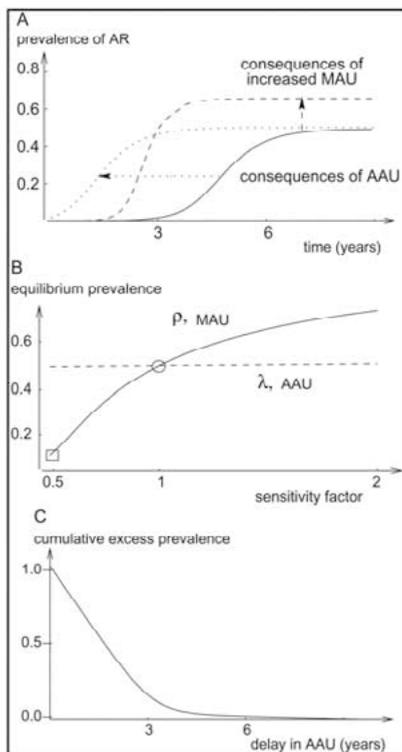


Figura 6. il modello matematico di Smith et al. (33) (AAU = Animal Antibiotic Use
MAU = Medical Antibiotic Use)



Figura 7. la complessità dei fattori in gioco in tema di antibiotico- resistenze (24, modificata)