

IMPORTANZA DEL MONITORAGGIO NEL TEMPO DELL'ANTIBIOTICO-SENSIBILITÀ' DEI PRINCIPALI PATOGENI DEL SUINO: 20 ANNI DI ESPERIENZA IN FILIERA

MONITORING OF ANTIBIOTIC-SENSITIVITY TROUGHOUT TIME OF THE MOST IMPORTANT SWINE PATHOGENS: 20 YEARS LONG EXPERIENCE OF A PIG PRODUCTION CHAIN

SANDRI G.¹, GIOVANARDI D.², ORTALI G.², DALLA BONA M.¹

¹Soc. Agr. La Pellegrina Spa/Gruppo Veronesi

²Laboratorio Tre Valli/Gruppo Veronesi

Parole chiave: Suino, *Streptococcus suis*, *P.Multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *E.Coli*, diagnosi di Filiera, Antibiotico-sensibilità

Keywords: Swine, *Streptococcus suis*, *P.Multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *E.Coli*, Production chain-associated diagnosis, AB sensitivity.

RIASSUNTO

Gli autori presentano l'andamento della antibiotico- sensibilità nel tempo (2002-2022) di alcuni dei principali patogeni isolati negli ultimi 20 anni nei vari siti delle Filiere produttive del gruppo. Gli esiti del Laboratorio diagnostico Tre Valli- Gruppo Veronesi vengono organizzati in modo da monitorare l'attività dei principali antibiotici nei confronti di un pool di patogeni più frequentemente isolati nelle varie fasi produttive delle varie filiere per fornire ai veterinari che operano in campo indicazioni utili per un trattamento mirato e razionale.

ABSTRACT

The authors present the pattern of antibiotic- sensitivity troughout time (2002-2022) of the most frequently isolated pathogens in the different production-chains during the last 20 years. The reports issued from the officially recognized Laboratorio diagnostico Tre Valli- Veronesi Group are organized so that the antibiotic sensitivity of the most important pathogens, isolated at different stages of various pig flows, are constantly updated to provide useful information to the field veterinarians for a rational and targeted therapy.

INTRODUZIONE

Quello che è oggi il Laboratorio Diagnostico Tre Valli ha soddisfatto la necessità di arrivare a una diagnosi precisa ed integrata delle principali patologie riscontrate nella patologia suina di Filiera già a partire dall'inizio degli anni '80. Da sempre il Laboratorio Tre Valli ha fornito ai veterinari della Filiera produttiva suina de La Pellegrina/Gruppo Veronesi indicazioni preziose riguardo la antibiotico-sensibilità/resistenza dei patogeni isolati. A partire dall'anno 2002 si è deciso di organizzare queste informazioni in modo organico per avere una "visione nel tempo" dell'andamento dell'antibiotico sensibilità/resistenza dei principali patogeni batterici del suino isolati quali *Streptococcus suis*, *E.coli emolitico*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* e altri. Siamo oggi arrivati a 21 anni di monitoraggio con diverse migliaia di isolamenti nel tempo che possono fornire preziose informazioni per un sempre più accurato e consapevole utilizzo degli antibiotici nell'allevamento di filiera.

MATERIALI E METODI

Il test di Kirby – Bauer (Metodo per diffusione) è una prova di sensibilità di un microrganismo

verso numerosi antibiotici su piastre di terreno solido mediante applicazione di antibiotici su terreno solido inoculato con il microorganismo da esaminare. Il terreno usato è il Mueller - Hinton . Successivamente all'isolamento e identificazione di un ceppo batterico mediante l'applicazione delle specifiche metodiche microbiologiche, si provvede alla semina per spatolamento di una sospensione batterica in purezza. Si applicano i dischetti con concentrazione nota di antibiotico in modo regolare sulla superficie. Si incuba overnight a 37 °C per 24 ore e successivamente si leggono i diametri di aloni di inibizione. Il riferimenti sono relativi alle tabelle EUCAST. L'espressione del risultato è in tre classi Sensibile (S) , Resistente (R) e Intermedio (I) sulla base del diametro dell'alone di inibizione. E' importante notare che le dimensioni degli aloni non hanno significato assoluto e non sono confrontabili tra antibiotici diversi essendo legati alle dimensioni della molecola e alle loro capacità di diffusione nel terreno.

Al fine di standardizzare il processo nel 2010 è stata implementata una procedura di lettura computerizzata degli aloni e produzione del report di sensibili AST. Si utilizza un' attrezzatura prodotta dal I2A francese (azienda che opera nella applicazione di metodi Artificial Intelligence a strumenti diagnostici denominata SIRSCAN .

La scelta del metodo per diffusione rispetto al metodo per diluizione (MIC) è basato sulla necessità di processare numerosi campioni giornalieri (3500 isolati nel 2022), di produrre raccolte trimestrali per specie e per agente eziologico, utili ai veterinari aziendali per avere una indicazione delle reali tendenze relative alle sensibilità ai presidi terapeutici disponibili. Il software di estrazione degli esiti di laboratorio consente di ottenere i dati nel tempo suddivisi per allevamento/sito, fase di produzione (scrofaia, svezzamento, ingrasso) ma anche per veterinario e/o tecnico.

I dati relativi a percentuale di Sensibile (S), Intermedio (I) e Resistente (R) nei confronti dei vari principi attivi/antibiotici nel tempo sono gestiti ed aggiornati su base annuale con un semplice file Excel.

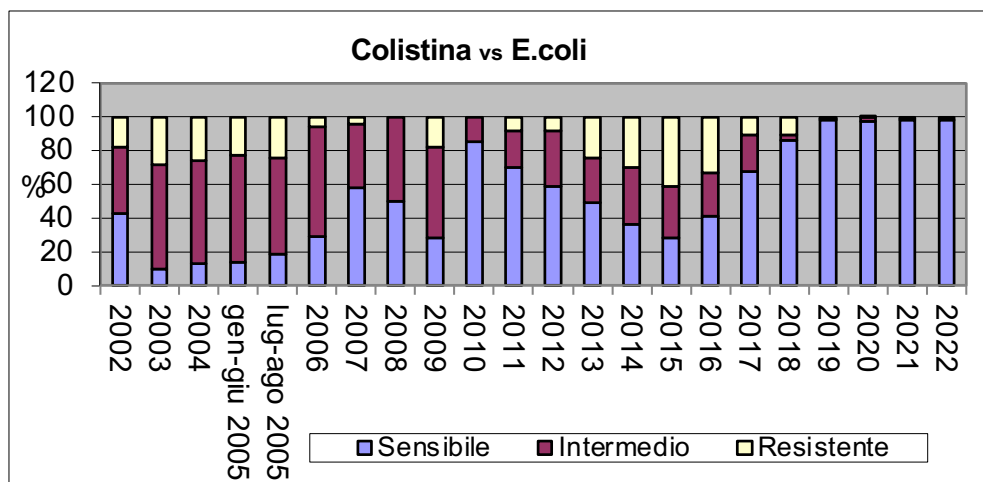
RISULTATI

Negli ultimi anni gli isolamenti per i tre principali patogeni sono stati nell'ordine delle centinaia. Nel solo 2022 sono stati isolati e testati per l'antibiotico-sensibilità ben 438 ceppi di *Streptococcus suis*, 195 ceppi di *E.coli* emolitico (principalmente dal post svezzamento), 153 ceppi di *P. multocida* e 36 ceppi di *A. pleuropneumoniae*. Altri batteri quali *H.parasuis* e *Staph. Hyicus* sono stati isolati occasionalmente e in numero molto più limitato. Per quanto riguarda *Streptococcus suis* si nota come, negli ultimi anni, sia aumentata la percentuale di ceppi che mostrano resistenza (R) verso ampicillina/amoxicillina (rispettivamente 10% e 7%), ma soprattutto si osserva crescita ancor più decisa (dal 19,9% nel 2020 al 38,1% del 2022) dei ceppi con sensibilità intermedia (I). Sempre molto buona la sensibilità degli Streptococchi nei confronti dell'associazione amoxicillina+acido clavulanico (97-98%). Sebbene la raccolta dati sia limitata ad un periodo di tempo più breve è interessante notare come sia buona – sebbene con una certa variabilità – l'attività di florfenicolo vs *Strep. suis* (85%-95% di sensibilità negli ultimi tre anni). Altrettanto stabile/poco variata sembrerebbe la sensibilità di *P. multocida* nei confronti degli antibiotici più utilizzati, con doxiciclina attiva nell'87,5% dei casi (OTC solo 67,3%). Bene amoxicillina e florfenicolo con oltre il 90% medio di attività (S) sempre nei confronti di *P.multocida*. Sempre buona ma leggermente in calo come attività la tilmicosina (Sensibilità media 79,8% negli ultimi tre anni). Per questo antibiotico (a causa della sua modalità di azione) è tipica l'assenza di ceppi di *Pasteurella* a sensibilità Intermedia. Sebbene il principio attivo sia stato inserito solo a partire dal 2019 nel panel di antibiotici disponibili risulta discreta (80% S) l'attività di Gamitromicina vs *Pasteurella* sebbene nell'ultimo anno ben 21% degli isolati sono risultati Resistenti. Tanti

invece i ceppi di *P.multocida* Resistenti verso l'associazione Sulfamidico + Trimethoprim (57% R e solo 42% S negli ultimi 5 anni).

Completamente diverso il quadro della sensibilità di *E.coli* emolitico nei confronti dei principali antibiotici normalmente attivi nei confronti dei Gram-negativi. Si nota chiaramente come per la totalità dei p.a. testati ci sia una grande variabilità di Sensibilità nel tempo con percentuali che raramente raggiungono il 50%. Per il gruppo Gentamicina-Apramicina-Neomicina-Spectinomicina la percentuale di isolati Sensibili negli ultimi 5 anni è variata tra il 32% (Gentamicina) e il 51% (Apramicina). Altrettanta variabilità si nota nei rapporti percentuali tra S/R/I con la sola gentamicina che quasi mai presenta sensibilità Intermedia passando quindi da S a R a seconda degli isolati.

Molta variabilità si nota per quanto riguarda la “famiglia” dei chinoloni con Enrofloxacin al 23% di R mentre generalmente Marbofloxacin si ferma al 9% di R. Molto numerosa la percentuale dei ceppi con sensibilità Intermedia per Enrofloxacin; circa il 50% negli ultimi 5 anni. Stesso quadro di grande variabilità in termini di S/R/I per l'associazione Amoxicillina+Ac.clavulanico con la percentuale di ceppi Resistenti in lieve ma costante aumento negli ultimi 5 anni. Grande la percentuale dei ceppi a sensibilità Intermedia (29% negli ultimi 5 anni) per cui i ceppi pienamente Sensibili sono solo il 51%. Tipico il pattern di attività dell'associazione Sulfamidico+Trimethoprim con la totalità dei ceppi che si mostra o Sensibile (43%) o Resistente (56%). Non è una prova di una relazione “causa-effetto” ma l'attività di colistina nei confronti degli *E. coli* testati sembrerebbe essere aumentata da quando ne è stato praticamente sospeso l'utilizzo.



Tab.1 : percentuali di attività di Colistina nei confronti di *E.coli* emolitico

Sono relativamente pochi i ceppi di *Act. Pleuropneumoniae* isolati ma questi ancora mantengono una buona sensibilità nei confronti degli antibiotici beta-lattamici con Sensibilità media al 67,2% per ampicillina/amoxicillina e al 96,8% per l'associazione amoxicillina+acido clavulanico (nessun APP ha mai mostrato alcuna Resistenza per questa associazione).

Molto buona anche l'attività di florfenicolo con percentuale di Sensibilità media del 90,3% negli ultimi cinque anni con rarissimi ceppi Resistenti. Scarsa e con tanta variabilità l'attività di ossitetraciclina (solo 53,4% gli isolati pienamente Sensibili negli ultimi cinque anni) mentre doxiciclina – sempre con grande variabilità da anno ad anno – sembra mostrare un certo aumento di attività (S) con solo 7% dei ceppi completamente Resistenti. 76% la

percentuale di APP pienamente Sensibili a tilmicosina mentre risulta essere molto variabile l'attività dei chinoloni col 65,6% di ceppi Sensibili e molti Intermedi; tra le molecole di questa famiglia molto buona l'attività di marbofloxacina verso la quale nell'ultimo anno (2022) tutti gli isolati sono risultati pienamente Sensibili. Per quanto riguarda i p.a. disponibili in forma iniettabile (spesso necessaria per trattare casi acuti) ceftiofur mostrerebbe una certa perdita di attività (S) negli anni (66,7% S – 22,2 I – 11,1% R nel 2022) mentre gamitromicina – testata solo a partire dal 2019 – mostra una attività molto variabile (69,5% S – 19,4 I – 11,1% R nel 2022).

DISCUSSIONE

E' difficile e non sarebbe corretto trarre conclusioni definitive dai dati raccolti ma risulta abbastanza evidente come *E.coli* presenti un profilo di antibiotico sensibilità estremamente variabile per cui – specialmente nei casi clinici più gravi - risulta importante conferire materiale al Laboratorio per avere indicazioni di terapia più “accurate/aggiornate”.

La maggior resistenza di *E. coli* emolitico registrata dal 2013 al 2016 per colistina è anche favorito, oltre dall'utilizzo di questo p.a., dalla diffusione del gene mobilizzato della resistenza a questo antibiotico che conferisce una resistenza mediata dal plasmide alla colistina. In un certo senso preoccupa anche il pattern di antibiotico sensibilità che *Streptococcus suis* sta mostrando negli ultimi anni: sebbene i ceppi completamente Resistenti nei confronti di ampicillina/amoxicillina siano ancora pochi sono in deciso aumento gli isolati con sensibilità Intermedia nei confronti di questa che è la famiglia di antibiotici più utilizzata in campo. Per quanto riguarda *S. suis*, la resistenza alle b-lattamine sembra essere, nella maggior parte dei casi, conseguenza di mutazioni a carico dei geni che codificano per le penicilin-binding proteins (PBPs) che ridurrebbero l'affinità delle PBPs per questi composti.

CONCLUSIONI

Nell'ottica dell'utilizzo consapevole degli antibiotici per ridurre il fenomeno della antibiotico-resistenza, l'attività diagnostica del Laboratorio è fondamentale per fornire al veterinario indicazioni relative alla scelta del principio attivo da utilizzare. Purtroppo, per vari motivi (necessità di intervento immediato, indisponibilità di materiale idoneo da inviare o semplicemente per motivi logistici), non sempre è possibile avere questo tipo di informazione in tempo utile. Ecco che allora risulta particolarmente importante il concetto di “*diagnosi di filiera*” e la disponibilità di una “serie storica” di dati dai quali potere attingere per impostare, in tempo utile e con cognizione di causa, una terapia razionale.

E' in questo modo che i veterinari della filiera produttiva da oltre venti anni possono attingere ai dati di antibiotico sensibilità dei patogeni isolati nelle varie filiere produttive.

BIBLIOGRAFIA

1. <https://www.izsvenezie.it/temi/altri-temi/antibiotico-resistenza-sensibilita/report-pubblico/>
2. <https://www.alimenti-salute.it/content/linee-guida-uso-antibiotici-nell'allevamento-suino>
3. Tarakdjian, J., Capello, K., Pasqualin, D., Santini, A., Cunial, G., Scollo, A., Martino, G. D. (2020). *Animals*, 10(3), 417. Antimicrobial use on Italian Pig Farms and its Relationship with Husbandry Practices.
4. Zhou Y, Fu H, Yang H, Wu J, Chen Z, Jiang H, Liu M, Liu Q, Huang L, Gao J, Chen C. *Microbiome*. 2022 Mar 4;10(1):39. doi: 10.1186/s40168-022-01241-y.
5. Extensive metagenomic analysis of the porcine gut resistome to identify indicators reflecting antimicrobial resistance.

6. Bunner CA, Norby B, Bartlett PC, Erskine RJ, Downes FP, Kaneene JB.
7. Prevalence and pattern of antimicrobial susceptibility in *Escherichia coli* isolated from pigs reared under antimicrobial-free and conventional production methods. *J Am Vet Med Assoc.* 2007 Jul 15;231(2):275-83. doi: 10.2460/javma.231.2.275. PMID: 17630898.
8. Holmer et al.
9. Antibiotic resistance in porcine pathogenic bacteria and relation to antibiotic usage
10. *BMC Veterinary Research* (2019) 15:449<https://doi.org/10.1186/s12917-019-2162-8>
11. Uruén, C., García, C., Fraile, L. et al. How *Streptococcus suis* escapes antibiotic treatments. *Vet Res* 53, 91 (2022). <https://doi.org/10.1186/s13567-022-01111-3>