

ANTIBIOTICO RESISTENZA IN CEPPI DI *ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE* E *PASTEURELLA MULTOCIDA* ISOLATI NEL SUINO NEL PERIODO 2002-2016 IN ITALIA

ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN *ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE* AND *PASTEURELLA MULTOCIDA* STRAINS ISOLATED DURING THE PERIOD 2002-2016 IN ITALIAN PIGS

PANGALLO G., BONILAURI P., GHERPELLI Y., DOTTORI M., DE LORENZI G., LUPPI A.

IZSLER, Sezione di Reggio Emilia

Parole chiave: Resistenza antibiotica, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*
Keywords: Antimicrobial-resistance, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*

Riassunto

In questo studio è stato valutato il tasso e il trend di resistenza nei confronti di diversi antibiotici di 354 ceppi di *Actinobacillus pleuropneumoniae* e 1058 ceppi di *Pasteurella multocida* isolati da casi di pneumopatie in suini appartenenti ad allevamenti ubicati in Nord Italia, nel periodo 2002-2016. Tutti i ceppi sono stati testati per la loro suscettibilità a 9 antibiotici impiegando il metodo della disco diffusione (Kirby-Bauer): Amoxicillina+Acido Clavulanico (20µg\10µg), Ampicillina (10µg), Cefalexina (30µg), Ceftiofur (30µg), Enrofloxacin (5µg), Florfenicolo (30µg), Lincomicina (2µg), Tetraciclina (30µg) e Trimethoprim-Sulfametossazolo (1,25µg\23,75µg). Con l'impiego di un test chi-quadrato per trend lineare è stato valutato l'eventuale trend in aumento o in diminuzione della resistenza nei confronti di ogni antibiotico nel periodo considerato. I ceppi di *A. pleuropneumoniae* hanno evidenziato, nell'intero periodo dello studio, un trend in aumento della resistenza statisticamente significativo nei confronti del Florfenicolo ($\chi^2 = 8.34$ $P < 0.01$). Al contrario, un trend di diminuzione della resistenza è stato riscontrato nei confronti del Trimethoprim+Sulfametossazolo ($\chi^2 = 5.65$ $P < 0.05$). Per quanto riguarda invece i ceppi di *P. multocida* è stato rilevato un trend di aumento della resistenza nei confronti sia della Lincomicina ($\chi^2 = 20.03$ $P < 0.01$) sia del Florfenicolo ($\chi^2 = 5.67$ $P < 0.05$).

Abstract

This study evaluated the rate and the trend of resistance to various antibiotics of 354 strains of *Actinobacillus pleuropneumoniae* and 1058 strains of *Pasteurella multocida* from diseased pigs, belonging to herds located in Northern Italy, in the period 2002-2016. The strains were analyzed for their susceptibility to 9 antimicrobials by disk diffusion method (Kirby-Bauer): Amoxicillin+Clavulanic acid (20µg\10µg), Ampicillin (10µg), Cephalexin (30µg), Ceftiofur (30µg), Enrofloxacin (5µg), Florfenicol (30µg), Lincomycin (2µg), Tetracycline (30µg) e Trimethoprim-sulfamethoxazole (1,25µg\23,75µg). With the use of a linear trend chi-square test was evaluated the increasing or decreasing trend of resistance to each antibiotic in the period considered. The *A. pleuropneumoniae* bacterial strains showed, over the whole period of the study, a statistically significant increasing trend of resistance to Florfenicol ($\chi^2 = 8.34$ $P < 0.01$). Conversely, a statistically significant decreasing trend of resistance was observed to Trimethoprim + Sulfamethoxazole ($\chi^2 = 5.65$ $P < 0.05$). *P. multocida* strains showed an increasing trend of resistance to Lincomycin ($\chi^2 = 20.03$ $P < 0.01$) and Florfenicol ($\chi^2 = 5.67$ $P < 0.05$).

INTRODUZIONE

Actinobacillus pleuropneumoniae (APP) e *Pasteurella multocida* (PM) sono tra gli agenti eziologici più importanti in ambito suinicolo, responsabili di consistenti perdite economiche, dovute all'aumento della mortalità, all'uso di trattamenti terapeutici e alla diminuzione delle performance produttive. Entrambi i batteri sono Gram negativi, anaerobi facoltativi e dalla morfologia coccobacillare. Gli isolati di APP sono suddivisi in biotipo 1 e biotipo 2, in base alla loro dipendenza dal NAD per la crescita (rispettivamente NAD-dipendente e NAD- non dipendente) e in 15 sierotipi diversi (1-12,15 per APP biotipo 1; 13, 14 per APP biotipo 2), in base alle caratteristiche dei polisaccaridi capsulari e dell'LPS (Blackall et al., 2002; Kamp et al., 1987; Nielsen 1985a, b, 1986b; Nielsen et al., 1997; Nielsen and O'Connor, 1984; Rosendal and Boyd, 1982). I ceppi di APP sono produttori di 4 tossine differenti chiamate "APX". APX I è fortemente emolitica e citotossica, APX II è debolmente emolitica e citotossica, APX III non è emolitica ma fortemente citotossica e APX IV che sembrerebbe svolgere funzioni di completamento dell'espressione della virulenza del patogeno (Frey et al. 1994; Jansen et al., 1995), sebbene il suo ruolo non sia stato ancora completamente chiarito. Nel suino, APP è causa di pleuropolmonite fibrino-necrotico-emorragica, anche se la gravità della malattia è determinata oltre a fattori legati all'ospite e all'ambiente, alla virulenza del ceppo coinvolto. A questo proposito non sono infrequenti forme sub-cliniche della malattia che si traducono in casi caratterizzati da bassa o assente mortalità con frequente cronicizzazione delle lesioni pleuropolmonari, rilevabili sottoforma di pleuriti fibrose o croniche, a localizzazione dorso-caudale, in animali regolarmente macellati. PM si comporta come patogeno secondario, come complicante di precedenti infezioni de *Mycoplasma hyopneumoniae* o forme virali sostenute da PRRSV o virus influenzali. Gli isolati di *P. multocida* possono essere raggruppati in 5 sierotipi (A, B, D, E, F) fra i quali l'A e il D sono quelli più frequentemente isolati dai suini con forme respiratorie, mentre il sierotipo D è responsabile della rinite atrofica (Carter 1955; Rimler and Rhoades, 1987). Attualmente gli strumenti di controllo di queste patologie sono, quando disponibili come nel caso di *A. pleuropneumoniae*, l'impiego di vaccini e la somministrazione di farmaci antibiotici. Da diversi anni viene rivolta sempre più attenzione al fenomeno dell'antibiotico resistenza (European Commission, 2011; World Health Organization, 2014), un fenomeno naturale favorito dall'abuso o dal non corretto utilizzo dell'antibiotico (European Commission, 2011; Van Boeckel et al., 2015). Le terapie di massa a scopo terapeutico e profilattico\metafilattico sono il principale fattore di rischio per l'insorgenza di fenomeni di antibiotico resistenza, a causa del possibile sottodosaggio a cui sono sottoposti gli animali (mancato rispetto della posologia e dei tempi terapeutici) sia per cause accidentali sia volontarie. La resistenza antimicrobica è spesso associata alla continua pressione esercitata dagli antibiotici a cui è esposta la popolazione batterica, la quale determina la selezione di ceppi batterici resistenti alle molecole impiegate (Dayao et al., 2015). Nella maggior parte degli studi eseguiti su ceppi di APP e PM in Europa è stato osservato che la maggior parte degli isolati era sensibile nei confronti dei fluorochinoloni, ceftiofur, florfenicolo, amoxicillina + acido clavulanico e trimethoprim+sulfametossazolo, mentre elevati livelli di resistenza sono stati riportati nei confronti delle tetracicline (Jong et al., 2014). Nel presente studio si riportano i dati relativi alla sensibilità di 354 ceppi di APP e 1058 ceppi di PM, nei confronti di 9 molecole antibiotiche, isolati da casi di pleuropolmonite e broncopolmonite catarral-purulenta nel periodo 2002-2016, al fine di valutarne la situazione attuale e monitorare il trend degli ultimi 15 anni, finalizzati all'indirizzo terapeutico.

MATERIALI E METODI

Ceppi batterici

Nel presente studio sono stati inclusi 354 ceppi di *A. pleuropneumoniae* (biotipo 1 e 2) e 1058 ceppi di *P.multocida* isolati durante la routinaria attività diagnostica dell'Istituto

Zooprofilattico della Lombardia ed Emilia-Romagna (IZSLER), sezione di Reggio Emilia, nel periodo 2002-2016. I ceppi batterici in esame sono stati isolati da polmoni prelevati da suini appartenenti ad allevamenti del Nord Italia, i quali presentavano lesioni riferibili a pleuropolmoniti fibrino-necrotico-emorragiche e bronco-polmoniti catarrali e catarral-purulente. Queste matrici sono state utilizzate per l'esame batteriologico attraverso la semina su 3 differenti terreni: agar siero, agar Gassner e agar sangue addizionato con Nicotinamide adenina dinucleotide (NAD). La successiva incubazione è avvenuta a 37°C per 48 ore, in aerobiosi per le piastre di agar siero e di agar Gassner e in termostato a CO₂ per l'agar sangue addizionato con NAD. La crescita delle colonie è stata valutata a 24 e 48 ore post semina. La crescita dei patogeni oggetto del presente lavoro è stata confermata con l'impiego di metodi biochimici e sierologici standardizzati. Non sono stati inclusi, per ogni anno considerato, più di due ceppi provenienti dallo stesso allevamento. Le molecole antibiotiche sono state suddivise arbitrariamente in tre categorie sulla base della loro attività antimicrobica media durante tutto il periodo considerato: gruppo I (percentuale di ceppi resistenti ≤ 30%), gruppo II (percentuale di ceppi resistenti compresa tra 31% e 60%) e gruppo III (percentuale di ceppi resistenti ≥ 61%).

Resistenza agli antibiotici

I ceppi di APP e PM inclusi nello studio sono stati testati per valutarne la resistenza nei confronti di 9 molecole antibiotiche: Amoxicillina+Acido Clavulanico (20µg\10µg), Ampicillina (10µg), Cefalexina (30µg), Ceftiofur (30µg), Enrofloxacin (5µg), Florfenicolo (30µg), Lincomicina (2µg), Tetraciclina (30µg) e Trimethoprim-Sulfametossazolo (1,25µg\23,75µg). L'antibiogramma, tramite disco diffusione (metodo Kirby Bauer) è stato eseguito seguendo gli standard forniti dal Clinical Laboratory Standard Institute e valutato secondo le chiavi interpretative internazionalmente riconosciute (Clinical Laboratory Standard Institute, 2008; NCCLS, 2003; NCCLS, 2004 e CASFM 2010). Per ogni antibiotico utilizzato, gli antibiogrammi hanno fornito un risultato qualitativo espresso come "S", "I", "R" (rispettivamente sensibile, intermedio, resistente), a seconda della risposta batterica all'azione delle varie molecole antimicrobiche. I controlli di qualità dei test di suscettibilità sono stati eseguiti utilizzando due ceppi ATCC: *E.coli* ATCC 25922 e *S.aureus* ATCC 25923.

Analisi statistica

Ai fini statistici i ceppi intermedi sono stati raggruppati con quelli resistenti e considerati quindi non sensibili. Il tasso di resistenza dei ceppi batterici inclusi nello studio nei confronti di ciascun antibiotico è stato calcolato, per ogni anno, eseguendo il rapporto tra i ceppi risultati non sensibili (intermedi + resistenti) e il numero di ceppi testati nei confronti di un dato antibiotico. Con l'impiego di un test chi-quadrato per trend lineare (regressione lineare utilizzando minimi quadrati ponderati), software Intercooled Stata 7, è stato valutato l'eventuale trend in aumento o in diminuzione della resistenza nei confronti di ogni antibiotico nel periodo considerato. Le differenze sono state considerate statisticamente significative con $P < 0.05$.

RISULTATI

Il tasso di resistenza dei ceppi di APP e PM, isolati tra il 2002 e il 2016, nei confronti di ogni antimicrobico impiegato nello studio sono riportati, rispettivamente, in tabella 1 e 2. Seguendo i criteri sopraccitati, i ceppi di APP sono stati suddivisi in tre gruppi: al gruppo I (resistenze ≤ 30%) appartengono l'Amoxicillina+Acido Clavulanico, la Cefalexina, il Ceftiofur, l'Enrofloxacin e il Florfenicolo; al gruppo II (percentuale di ceppi resistenti compresa tra 31% e 60%) il Trimethoprim+Sulfametossazolo, le Tetraciclina e l'Ampicillina; al gruppo III (percentuale di ceppi resistenti ≥ 61%) la Lincomicina. Seguendo gli stessi criteri anche per i ceppi di PM è stato osservato che tutti gli antibiotici ricadono nel gruppo

I ad eccezione delle Tetracicline (gruppo II) e della Lincomicina (gruppo III). L'analisi statistica dei dati riportati in tabella 1 e 2, evidenzia nell'intero periodo considerato, per i ceppi di *APP*, un trend di diminuzione della resistenza nei confronti di Trimethoprim+Sulfametossazolo ($\chi^2 = 5.65$ $P < 0.05$). Al contrario, un trend di aumento della resistenza è stato riscontrato nei confronti del Florfenicolo ($\chi^2 = 8.34$ $P < 0.01$) (Fig.1). Per quanto riguarda invece i ceppi di *PM* si rileva un trend di aumento della resistenza nei confronti sia della Lincomicina ($\chi^2 = 20.03$ $P < 0.01$) sia del Florfenicolo ($\chi^2 = 5.67$ $P < 0.05$) (Fig. 2).

Fig.1: Trend di resistenza dei ceppi di *Actinobacillus pleuropneumoniae* al Florfenicolo e al Trimethoprim+Sulfametossazolo nel periodo 2002-2016

Fig.1: Trend of resistance of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains for Florfenicol and Trimethoprim+Sulfamethoxazole in the period 2002-2016)

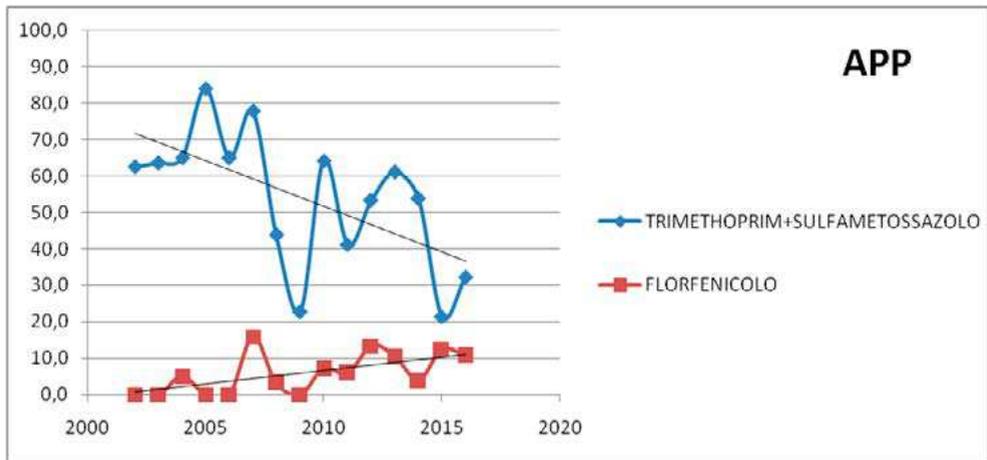
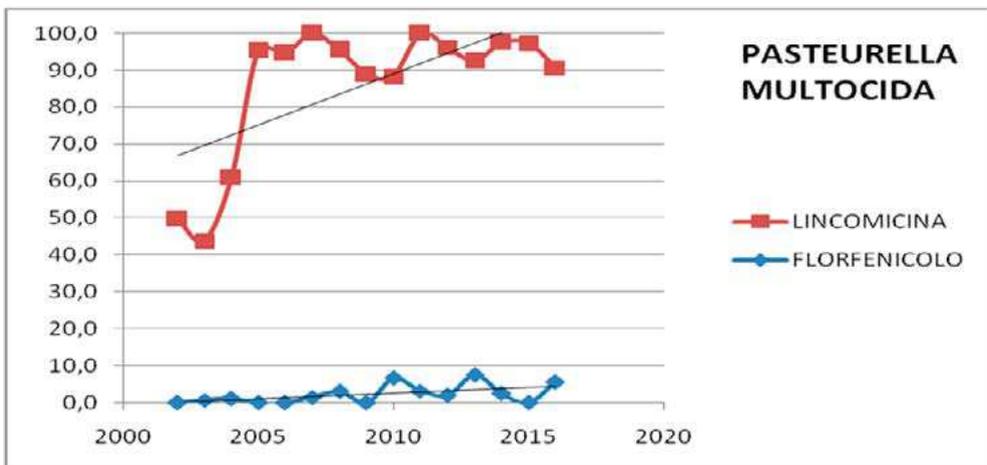


Fig.2: Trend di resistenza dei ceppi di *Pasteurella multocida* al Florfenicolo e alla Lincomicina nel periodo 2002-2016

Fig.2: Trend of resistance of *Pasteurella multocida* strains for Florfenicol and Lincomycin in the period 2002-2016



Tab.1: Percentuale di ceppi di *Actinobacillus pleuropneumoniae* risultati resistenti ai diversi antibiotici oggetto di studio nel periodo 2002-2016

Tab.1: Percentage of resistance of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains to the antibiotics included in the study in the period 2002-2016

<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>																
% RESISTENZA PER ANNO																
MOLECOLE ANTIBIOTICHE	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	P
AMOXICILLINA + AC.CLAVULANICO	5,0	15,9	0,0	12,0	0,0	26,3	16,7	22,7	28,6	6,7	8,3	16,7	12,5	7,7	4,2	N.S.
AMPICILLINA	66,7	75,0	55,0	44,0	55,0	68,4	61,3	81,8	64,3	64,7	33,3	63,2	76,9	60,0	50,0	N.S.
CEFALOSPORINE 1° GEN. (CEFALEXINA)	43,9	18,2	15,0	28,0	15,0	38,9	56,3	22,7	50,0	11,8	21,4	5,3	33,3	20,0	25,9	N.S.
CEFALOSPORINE 3° GEN. (CEFTIOFUR)	18,4	22,7	0,0	28,0	10,0	26,3	34,4	18,2	42,9	11,8	20,0	10,5	15,4	8,3	19,2	N.S.
ENROFLOXACIN	23,8	15,9	5,0	24,0	10,0	31,6	40,6	13,6	35,7	11,8	40,0	21,1	34,6	6,3	35,7	N.S.
FLORFENICOLO	0,0	0,0	5,0	0,0	0,0	15,8	3,1	0,0	7,1	5,9	13,3	10,5	3,8	12,5	10,7	<0,05
LINCOMICINA	92,1	90,9	95,0	96,0	100,0	100,0	96,9	94,7	100,0	100,0	100,0	94,7	100,0	100,0	100,0	N.S.
TETRACICLINA	75,6	75,0	25,0	44,0	60,0	57,9	75,0	63,6	64,3	52,9	66,7	36,8	57,7	37,5	50,0	N.S.
TRIMETHOPRIM + SULFAMETOSSAZOLO	62,5	63,6	65,0	84,0	65,0	77,8	43,8	22,7	64,3	41,2	53,3	61,1	53,8	21,4	32,1	<0,05
CAMPIONI ESAMINATI	40	44	20	25	20	19	32	22	14	17	15	19	25	14	28	-

Tab.2: Percentuale di ceppi di *Pasteurella multocida* risultati resistenti ai diversi antibiotici oggetto di studio nel periodo 2002-2016

Tab.2: Percentage of resistance of *Pasteurella multocida* strains to the antibiotics included in the study in the period 2002-2016

<i>Pasteurella multocida</i>																
% RESISTENZE PER ANNO																
MOLECOLE ANTIBIOTICHE	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	R ²
AMOXICILLINA + AC.CLAVULANICO	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	3,1	4,6	2,2	1,7	7,1	0,0	2,8	0,0	0,0	3,0	N.S.
AMPICILLINA	12,4	22,6	14,4	14,3	13,3	12,1	26,9	23,9	18,3	16,1	3,9	15,0	17,9	11,4	15,3	N.S.
CEFALOSPORINE 1° GEN. (CEFALEXINA)	8,3	8,2	3,3	1,2	3,1	4,5	3,0	2,2	1,7	9,7	0,0	2,6	7,9	0,0	6,6	N.S.
CEFALOSPORINE 3° GEN. (CEFTIOFUR)	0,9	1,4	2,2	1,2	1,0	1,5	1,5	2,2	1,7	6,5	1,9	2,5	2,5	0,0	3,1	N.S.
ENROFLOXACIN	3,4	6,2	4,4	1,2	2,0	4,5	4,5	0,0	10,0	9,7	9,4	7,7	9,8	2,6	5,6	N.S.
FLORFENICOLO	0,0	0,7	1,1	0,0	0,0	1,5	3,0	0,0	6,7	3,2	1,9	7,5	2,5	0,0	5,6	<0,05
LINCOMICINA	50,0	43,8	61,1	95,2	94,7	100,0	95,5	88,9	88,3	100,0	96,2	92,5	97,4	97,3	90,6	<0,05
TETRACICLINA	68,3	61,4	51,1	63,1	71,4	62,1	59,7	56,5	78,3	67,7	64,2	62,5	65,9	34,2	47,9	N.S.
TRIMETHOPRIM + SULFAMETOSSAZOLO	23,2	31,5	26,7	27,4	18,4	27,3	38,8	21,7	26,7	32,3	18,9	21,1	38,5	21,6	23,9	N.S.
CAMPIONI ESAMINATI	138	146	90	84	97	66	67	46	60	31	52	39	39	34	69	-

DISCUSSIONE

La valutazione dei risultati ottenuti mostra come l'Amoxicillina+Acido Clavulanico, la Cefalexina, il Ceftiofur, il Florfenicolo e l'Enrofloxacin siano risultate le molecole antibiotiche caratterizzate dall'efficacia maggiore nei confronti di *APP*. Relativamente a questo gruppo è preoccupante il livello di resistenza registrato nel 2016 (35,7%) per Enrofloxacin, antibiotico considerato d'importanza critica tra gli antibiotici utilizzati in ambito suinicolo. Tale dato è in accordo con i risultati ottenuti da altri Autori che riportano l'emergenza di ceppi di *APP* resistenti a Enrofloxacin isolati in Danimarca, in Polonia e UK (Archambault et al., 2012). I livelli di resistenza riscontrati per Enrofloxacin sono mediamente più elevati rispetto a quanto riportato in un precedente lavoro eseguito sempre su ceppi di *APP* isolati da suini con pleuropolmonite in Italia (Vanni et al., 2011). Tale variabilità è probabilmente legata a fattori quali il campionamento e le caratteristiche dei trattamenti antibiotici eseguiti sui singoli animali o nel gruppo dove si è manifestata la patologia e da cui è stato ottenuto l'isolato batterico. In un recente studio è stata dimostrata una variabilità nella risposta agli antibiotici per ceppi di *APP* appartenenti allo stesso biotipo e sierotipo (considerati appartenenti allo stesso clone) e isolati da suini provenienti dallo stesso allevamento. Esisterebbero inoltre fattori legati all'ospite, che in condizioni di stress favorirebbero l'eliminazione e la diffusione di ceppi resistenti, determinando quindi una variabilità nella risposta agli antibiotici nei ceppi isolati (Dayao et al., 2015).

In uno studio condotto in diversi paesi Europei in ceppi di *APP* e *PM* le resistenze a diverse molecole antibiotiche (l'Amoxicillina+Acido Clavulanico, il Ceftiofur, il Florfenicolo, l'Enrofloxacin, la Tiamulina e la Tilmicosina) (Jong et al. 2014) erano assenti o inferiori all'1%. I bassi livelli di resistenza riportati nello studio di de Jong et al. sono da ricondurre anche al tipo di campionamento, eseguito in animali in cui la sospensione della somministrazione di antibiotici era avvenuta almeno 15 giorni prima del campionamento. Un minor livello di attività, considerandoli l'intero periodo dello studio, è stato osservato per Trimethoprim+Sulfametossazolo, Tetracicline e Ampicillina. Questi risultati sono in parte confermati da altri lavori scientifici sull'argomento che descrivono elevati livelli di resistenza nei confronti delle tetracicline sia dei ceppi di *APP* sia di *PM*.

Nel terzo gruppo si colloca la Lincomicina, la quale conferma la sua quasi totale inefficacia contro *APP*, con percentuali di resistenza frequentemente del 100%. Osservando l'efficacia dei diversi antibiotici nei confronti dei ceppi di *APP*, si rileva frequentemente un andamento altalenante nel tempo con differenze sostanziali tra un anno e l'altro. Questo risulta particolarmente evidente per Amoxicillina+Acido Clavulanico, le Cefalosporine in genere, l'Enrofloxacin e il Trimethoprim+Sulfametossazolo. Questa variabilità non evidenzia tuttavia alcun trend statisticamente significativo né in aumento né in diminuzione delle resistenze nel periodo considerato, eccezion fatta per il Florfenicolo e il Trimethoprim+Sulfametossazolo e può essere dovuto a una variabilità dei ceppi di *APP* isolati nel corso degli anni. L'efficacia del Florfenicolo è, a oggi, molto elevata (tasso di resistenza medio dal 2002 al 2016 del 5,8%) ma è possibile osservare un trend positivo nella frequenza d'isolamento di ceppi a diminuita sensibilità (0% nel 2002, 10,7% nel 2016, con picco del 15,8% nel 2007), inquadrabile come possibile campanello di allarme per gli anni a venire considerando che si tratta di una molecola relativamente recente.

In diminuzione, infine, il trend di resistenza per il Trimethoprim+Sulfametossazolo. Le differenze, infatti, sono statisticamente significative, passando dal 62,5% dei casi resistenti del 2002 al 32,1% del 2016. I risultati ottenuti sono in contrasto con gli studi condotti da altri Autori (Vanni et al., 2012) che riportano un trend significativo di aumento delle resistenze per Amoxicillina+Acido Clavulanico, Ampicillina e Trimethoprim+Sulfametossazolo e nessun trend nei confronti del Florfenicolo. Questo potrebbe essere dovuto a una fisiologica variabilità dei ceppi batterici circolanti nel suino, a variazioni nella frequenza e nella tipologia

dei trattamenti antibiotici e a ragioni legate alle modalità di campionamento.

Per quanto riguarda *PM* numerose molecole, tra cui l'Amoxicillina+Acido Clavulanico, la Cefalexina, il Ceftiofur, l'Enrofloxacin, il Florfenicolo, l'Ampicillina e il Trimetropin+Sulfametossazolo, hanno mostrato un buon livello di efficacia nel periodo considerato. Nel secondo gruppo si collocano le Tetracicline, mostrando medio-bassa attività antimicrobica. Nel terzo gruppo la Lincomicina.

Non si riportano variazioni statisticamente significative nel numero d'isolati a diminuita sensibilità nel periodo considerato né in aumento né in diminuzione, ad eccezione del Florfenicolo e della Lincomicina. Come precedentemente riportato nel caso di *APP*, anche per *PM* il Florfenicolo ha evidenziato un trend di aumento della resistenza (0% nel 2002, 5,6% nel 2016, con picco del 7,5% nel 2013), pur mantenendo la sua elevata attività antibiotica (tasso di resistenza medio dal 2002 al 2016 del 2,25%). Interessante, infine, il trend di aumento della resistenza nei confronti della Lincomicina. Nel dettaglio, dal 2002 al 2004 il trend risulta stazionario e compreso tra il 50% e il 61,1% d'isolati resistenti, tra il 2004 e il 2005 si osserva in maniera evidente l'aumento della resistenza, passando dal 61,1% al 95,4%, per poi mantenersi, dal 2005 al 2016, stazionario tra l'88,9% e il 100%. E' possibile che l'utilizzo della Lincomicina somministrata per via orale a scopo terapeutico, profilattico\metafilattico (soprattutto per il controllo e la terapia di patologie gastro-intestinali) abbia giocato un ruolo determinante sull'aumento delle resistenze sia nei ceppi di *APP* sia di *PM*.

In conclusione, una corretta diagnosi e il successivo campionamento unitamente a metodiche standardizzate di laboratorio sono basilari per un corretto e razionale approccio alla scelta dell'antibiotico e al suo utilizzo. Il monitoraggio della sensibilità agli antibiotici, oltre ad essere fondamentale nell'indirizzare la terapia, riveste un'importanza primaria nel permettere di valutare l'insorgenza di fenomeni di resistenza antibiotica nei ceppi batterici patogeni isolati dal suino.

BIBLIOGRAFIA

1. Archambault M, Harel J, Gouré J, Tremblay YD, Jacques M. . (2012). Antimicrobial susceptibilities and resistance genes of Canadian isolates of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Microb Drug Resist.* 2012 Apr;18(2):198-206.
2. Blackall J, Klaasen H, van den Bosch H, Kuhnert P, Frey J.. (2002). Proposal of a new serovar of *Actinobacillus pleuropneumoniae*: serovar 15 *Vet Microbiol* 84:47–52.
3. Carter GR. (1955). Studies on *Pasteurella multocida*. I. A hemagglutination test for the identification of serological types. *Am J Vet Res* 16:481–484.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (2008): Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals, Approved standard, 3rdedn. CLSI document M31-A3. CLSI, Wayne, Pennsylvania
5. Dayao DA, Dawson S, Kienzle MJ, Gibson JS, Blackall PJ, Turni C. (2015). Variation in the Antimicrobial Susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* Isolates in a Pig, Within a Batch of Pigs, and Among Batches of Pigs from One Farm. *Microb Drug Resist.* 2015 Aug;21(4):491-6
6. de Jong A, Thomas V, Simjee S, Moyaert H, El Garch F, Maher K, Morrissey I, Butty P, Klein U, Marion H, Rigaut D, Vallé M . (2014). Antimicrobial susceptibility monitoring of respiratory tract pathogens isolated from diseased cattle and pigs across Europe: the VetPath study. *Vet Microbiol.* 2014 Aug 6;172(1-2):202-15
7. de Jong MF, Nielsen JP. (1990). Definition of progressive atrophic rhinitis. *Vet Rec* 126:93.
8. Dominick MA, Rimler RB. (1988). Turbinate osteoporosis in pigs following intranasal inoculation of purified *Pasteurella* toxin: histomorphometric and ultrastructural studies. *Vet Pathol* 25:17–27.

9. Donnio PY, Allardet-Servent A, Perrin M, Escande F, Avril JL. (1999). Characterisation of dermonecrotic toxin-producing strains of *Pasteurella multocida* subsp. *Multocida* isolated from man and swine. *J Med Microbiol* 48:125–131
10. Elling F, Pedersen KB, Høgh P, Foged NT. (1988). Characterization of the dermal lesions induced by a purified protein from toxigenic *Pasteurella multocida*. *APMIS*. 1988 Jan;96(1):50-5.
11. European Commission. (2011). Communication from the Commission to European Parliament and the Council: Action Plan against the Risks Threats from Antimicrobial Resistance (COM\2011\748)
12. Frey J, Kuhn R, Nicolet J. (1994). Association of the CAMP phenomenon in *Actinobacillus pleuropneumoniae* with the RTX toxins ApxI, ApxII and ApxIII. *FEMS Microbiol Lett* 124:245–251
13. Jansen R, Briare J, Kamp E, Gielkens AL, Smits MA. (1995). The CAMP effect of *Actinobacillus pleuropneumoniae* is caused by Apx toxins. *FEMS Microbiol Lett* 126:139–143.
14. Kamp E, Popma J, Van Leengoed L. (1987). Serotyping of *Haemophilus pleuropneumoniae* in the Netherlands: with emphasis on heterogeneity within serotype 1 and (proposed) serotype 9. *Vet Microbiol* 13:249–257
15. Laanen M, Persoons D, Ribbens S, de Jong E, Callens B, Strubbe M, Maes D, Dewulf J. (2013). Relationship between biosecurity and production/antimicrobial treatment characteristics in pig herds. *The Veterinary Journal* 198, 508-512
16. Marois C, Fablet C, Gaillot O, Morvan H, Madec F, Kobisch M. (2009). Molecular diversity of porcine and human isolates of *Pasteurella multocida*. *J Appl Microbiol* 107:1830–1836
17. Martineau-Doizé B, Frantz JC, Martineau GP. (1990). Effects of purified *Pasteurella multocida* dermonecrotxin on cartilage and bone of the nasal ventral conchae of the piglet. *Anat Rec* 228:237–246.
18. Mary D Barton. (2014). Current opinion in microbiology 19: 9-15
19. NCCLS (2003): Performances Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard – English edition. NCCLS document M2-A8 (ISBN 1-5638-485-6). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA
20. NCCLS (2004). Performances Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fourteenth Informational Supplement. NCCLS document M100-S14 (ISBN 1-5638-516-X). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA
21. Nielsen R, Andresen L, Plambeck T, Nielsen JP, Krarup LT, Jorsal SE. (1997). Serological characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* biotype 2 strains isolated from pigs in two Danish herds. *Vet Microbiol* 54:35–46
22. Nielsen R, O'Connor PJ. (1984). Serological characterization of 8 *Haemophilus pleuropneumoniae* strains and proposal of a new serotype: serotype 8. *Acta Vet Scand* 25:96–106.
23. Nielsen R. (1985a). Serological characterization of *Haemophilus pleuropneumoniae* (*Actinobacillus pleuropneumoniae*) strains and proposal of a new serotype 9. *Acta Vet Scand* 26:501–512.
24. Nielsen R. (1985b). Serological characterization of *Haemophilus pleuropneumoniae* (*Actinobacillus pleuropneumoniae*) strains and proposal of a new serotype: serotype 10. *Acta Vet Scand* 26:581–585.
25. Nielsen R. (1986). Serological characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains and proposal of a new serotype: serotype 12. *Acta Vet Scand* 27:453–455

26. Postma M, Backhans A, Collineau L, Loesken S, Sjolund M, Belloc C, Emanuelson U, Grosse Beilage E, Stark K.D.C., Dewulf J. (2016). The biosecurity status and its associations with production and management characteristics in farrow-to-finish pig herds. *Animal* 10:3, 478-489
27. Postma M, Vanderhaeghen W, Sarrazin S, Maes D, Dewulf J . 2016.Reducing Antimicrobial Usage in Pig Production without Jeopardizing Production Parameters. *Zoonoses and Public Health*
28. Rimler RB, Rhoades KR. (1987). Serogroup F, a new capsule serogroup of *Pasteurella multocida*. *J Clin Microbiol* 25:615–618.
29. Rojo-Gimeno C, Postma M, Dewulf J, Hogeveen H, Lauwers L, Wauters E. (2016). Farm-economic analysis of reducing antimicrobial use whilst adopting improved management strategies on farrow-to-finish pig farms. *Preventive Veterinary Medicine*, 129: 74-87
30. Rosendal S, Boyd DA. (1982). *Haemophilus pleuropneumoniae* serotyping. *J Clin Microbiol* 16:840–843.
31. CASFM 2010: Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Communiqué. Available at http://www.sfm-microbiologie.org/pages/?page=746&id_page=182 (accessed September 5, 2012)
32. Van Boeckel T.P., Brower C, Gilbert M, Grenfell B.T., Levin S.A., Robinson T.P., Teillant A, Laxminarayan R. (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 112: 5649-5654
33. Vanni M, Merenda M, Barigazzi G, Garbarino C, Luppi A, Tognetti R, Intorre L. (2012). Antimicrobial resistance of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from swine. *Vet Microbiol.* 2012 Apr 23;156(1-2):172-7
34. World Health Organization, Geneva. (2014). Antimicrobial resistance: Global report on surveillance