

ANDAMENTO DELLA SENSIBILITA' ANTIBIOTICA NEI CONFRONTI DI CEPPI DI *ESCHERICHIA COLI* ISOLATI DA SPECIE AVICOLE ALLEVATE E DA AVIFAUNA SELVATICA

Tosi G. ¹, Fiorentini L. ¹, Casadio M. ¹, Massi P. ¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna – Sezione Diagnostica di Forlì – Via Marchini 1 – Forlì (FC) – forli@izsler.it

Summary

In the first part of the study a collection of the data on the *in vitro* sensitivity tests (antibiograms) performed on pathogenic *E.coli* strains isolated from poultry farms was carried out. During the considered period (from January 2012 to March 2014) there were no significant differences in the susceptibility of the tested strains. A high prevalence of the susceptibility towards ampicillin and colistin was observed. The susceptibility range towards enrofloxacin was between 73% and 79% but an increase of the resistant strains was observed especially in *E.coli* strains isolated from broiler chicken and meat turkey flocks. In the second part of this study we examined the antibiotic resistance profile of *E.coli* strains recovered from the gut of wild birds collected in Emilia Romagna region in 2013. Resistance in *E.coli* isolates was detected on 15 of the 18 tested antibiotics including some antibiotics effective against Gram-negative bacteria.

INTRODUZIONE

Il largo impiego di antibiotici e, più in generale, di antimicrobici in medicina umana e veterinaria ha comportato una graduale diffusione di ceppi batterici resistenti. La resistenza agli antibiotici è perciò diventato un problema prioritario che coinvolge sanità animale, salute pubblica e sicurezza alimentare. *Escherichia coli* è una delle specie batteriche maggiormente coinvolte in questo fenomeno ed è allo stesso tempo il più diffuso tra i microrganismi patogeni nelle specie avicole allevate. In campo zootecnico numerosi paesi europei hanno adottato (o stanno per adottare) programmi di graduale riduzione dell'uso di antibiotici. Per raggiungere questo obiettivo è necessario implementare le misure di biosicurezza e, laddove possibile, di profilassi immunizzante nonché il ricorso a prodotti alternativi. E' inoltre importante che la terapia antibiotica venga eseguita in modo mirato e sia la tappa finale di un percorso diagnostico che preveda un sospetto clinico e anatomo-patologico, una diagnosi eziologica di conferma e l'esecuzione di prove *in vitro* (antibiogramma, calcolo delle MIC) per valutare la sensibilità del ceppo batterico isolato nei confronti delle principali molecole disponibili sul mercato. Un altro aspetto di primaria importanza è lo studio del fenomeno dell'antibiotico-resistenza nella fauna selvatica. La selezione di ceppi batterici resistenti agli antibiotici nella microflora intestinale della fauna selvatica può determinare la diffusione dei relativi geni codificanti per questo fenomeno in un habitat con il quale possono interagire numerose attività umane e zootecniche. Inoltre le specie selvatiche possono essere considerate degli importanti indicatori di antibiotico-resistenza dal momento che non ricevono trattamenti antibiotici. Lo scopo del presente lavoro è pertanto duplice:

- 1) Raccogliere dati riguardanti l'andamento delle sensibilità antibiotica *in vitro* dei ceppi di *Escherichia coli* isolati dal 2012 ad oggi nel pollo e nel tacchino.
- 2) Determinare il profilo di sensibilità agli antibiotici di ceppi commensali di *Escherichia coli* isolati da diverse specie di volatili selvatici nel corso del 2013.

MATERIALI E METODI

Ceppi batterici: per la parte riguardante il settore zootecnico sono stati presi in considerazione gli antibiogrammi eseguiti su ceppi di *Escherichia coli* isolati e identificati presso la Sezione Diagnostica IZSLER di Forlì negli anni 2012, 2013 e nei primi due mesi del 2014. I ceppi sono stati isolati da casi clinici di infezione da *E.coli* con diffusione sistemica del microrganismo. E' stata considerata la casistica riguardante l'allevamento del pollo da carne, della gallina ovaioia da consumo (differenziando la fase di accrescimento da quella di deposizione), del pollo riproduttore (senza differenziare tra linea leggera e pesante e tra periodo di pollastra e di deposizione) e del tacchino da carne. E' stata inoltre considerata una ulteriore categoria comprendente i ceppi isolati dalla specie pollo (senza distinzione tra linea leggera che pesante) nei primi giorni di vita (sia da campioni provenienti dagli incubatoi che dagli allevamenti).

Per la seconda parte dello studio (riguardante l'avifauna selvatica) sono stati considerati ceppi di *E.coli* isolati dal contenuto intestinale di carcasse appartenenti a specie selvatiche raccolte sul territorio da enti preposti e conferite presso la Sezione Diagnostica IZSLER di Forlì nel 2013 per l'accertamento della causa di morte. Nessuno tra i soggetti esaminati presentava lesioni anatomo-patologiche riferibili a forme di colibacillosi (enteriche o sistemiche); si tratta pertanto di ceppi definibili come "commensali". Oltre ai ceppi di *E.coli* isolati da avifauna selvatica è stata inoltre determinata, con il medesimo sistema, la MIC nei confronti di alcuni ceppi isolati nel 2013 da casi di colibacillosi in allevamenti industriali di pollo, tacchino, anatra e quaglia.

Prove di sensibilità *in vitro*: nella prima parte dello studio (riguardante il comparto zootecnico) i ceppi di *E.coli*, una volta isolati e identificati (su base morfologica e biochimica) sono stati sottoposti ad un antibiogramma eseguito secondo il metodo Kirby-Bauer che prevede, sinteticamente, le fasi seguenti: allestimento di una brodocoltura a concentrazione nota (0.5 della scala McFarland) del microrganismo in esame, semina sulla superficie di un terreno di coltura (Mueller Hinton Agar – produzione IZSLER), applicazione sulla superficie del terreno di dischetti imbevuti di antibiotico/chemioterapico (OXOID®) a concentrazione nota, incubazione (37 ± 2°C per 18-24 ore in aerobiosi), lettura del diametro dell'area di inibizione circostante ciascun dischetto. Confrontando le dimensioni del diametro di inibizione con tabelle di riferimento fornite dalla casa produttrice dei dischetti, ciascun ceppo batterico è stato classificato come "resistente (R)", "intermedio (I)" e "sensibile (S)". Nello studio sono stati considerati solo i principali antibiotici/chemioterapici impiegati nella terapia delle infezioni da *E.coli* in campo avicolo: ampicillina, amoxicillina, colisitina, enrofloxacin, flumequina, l'associazione lincomicina+spectinomicina e l'associazione trimetoprim+sulfametossazolo.

Nella seconda parte dello studio (riguardante l'avifauna selvatica) i ceppi di *E.coli*, una volta isolati e identificati (su base morfologica e biochimica), sono stati

sottoposti ad una prova *in vitro* per la determinazione della minima concentrazione inibente (MIC). Per la prova è stato impiegato un sistema standardizzato (AVI-PRO PLATE®) costituito da pannelli (piastre microtiter a 96 pozzetti) contenenti 1µg di diversi antibiotici impiegati in campo umano e veterinario e progettato per determinare la minima concentrazione inibente nei confronti di batteri Gram positivi e Gram negativi. Per la definizione dei criteri di sensibilità (“breakpoints”) venivano considerati i criteri definiti dall’azienda produttrice del test. Per ciascuno dei ceppi esaminati veniva allestita una brodocoltura a concentrazione nota (0.5 della scala McFarland). La MIC veniva definita come la più bassa concentrazione del principio attivo in grado di inibire lo sviluppo del ceppo batterico

RISULTATI

I risultati della prima parte dello studio, suddivisi per principio attivo, anno e categoria produttiva, sono riassunti nelle successive tabella 1,2,3,4,5,6,e 7:

Tabella 1: sensibilità dei ceppi di *E.coli* nei confronti del principio attivo AMINOSIDINA.

	2012 (n=384)			2013 (n=593)			2014 (n=119)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
POLLO DA CARNE	53	0	13	80	1	11	24	0	2
GALLINA OVAIOLA	110	3	10	158	2	15	28	0	0
POLLA STRA	18	0	4	31	2	5	7	0	0
PULCINO	106	0	19	120	4	22	36	0	2
RIPRODUTTORE	25	1	2	49	3	3	5	0	1
TACCHINO	18	0	2	74	0	13	12	0	2
TOTALE n.	330	4	50	512	12	69	112	0	7
TOTALE %	(86%)	(1%)	(13%)	(86%)	(2%)	(12%)	(94%)	(-)	(6%)

Tabella 2: sensibilità dei ceppi di *E.coli* nei confronti del principio attivo AMOXICILLINA.

	2012 (n=417)			2013 (n=593)			2014 (n=119)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
POLLO DA CARNE	8	2	56	10	0	82	3	0	23
GALLINA OVAIOLA	33	6	85	65	2	112	17	0	12
POLLA STRA	8	1	13	6	2	24	2	0	5
PULCINO	22	4	70	31	2	115	12	0	25
RIPRODUTTORE	14	4	38	25	1	29	5	0	1
TACCHINO	7	3	43	13	3	71	3	0	11
TOTALE n.	92	20	305	150	10	433	42	0	77
TOTALE %	(22%)	(5%)	(73%)	(25%)	(2%)	(73%)	(35%)	(-)	(65%)

Tabella 3: sensibilità dei ceppi di *E.coli* nei confronti del principio attivo COLISTINA.

	2012 (n=417)			2013 (n=593)			2014 (n=119)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
POLLO DA CARNE	58	0	7	86	4	1	26	0	0
GALLINA OVAIOLA	112	7	5	171	4	2	28	0	0
POLLA STRA	17	1	1	30	0	2	7	0	0
PULCINO	116	1	7	151	5	5	39	0	0
RIPRODUTTORE	31	0	1	43	2	0	5	0	0
TACCHINO	43	3	7	77	5	5	14	0	0
TOTALE n.	377	12	28	558	20	15	119	0	0
TOTALE %	(90%)	(3%)	(7%)	(94%)	(3%)	(3%)	(100%)	(-)	(-)

Tabella 4: sensibilità dei ceppi di *E.coli* nei confronti del principio attivo ENROFLOXACINA.

	2012 (n=418)			2013 (n=593)			2014 (n=119)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
POLLO DA CARNE	35	2	33	53	7	33	23	1	9
GALLINA OVAIOLA	99	2	28	169	3	27	30	0	2
POLLA STRA	13	0	7	27	1	3	5	0	0
PULCINO	97	1	18	89	5	27	20	0	4
RIPRODUTTORE	26	0	4	53	2	7	10	1	0
TACCHINO	35	2	16	54	2	31	6	0	8
TOTALE n.	305	7	106	445	20	128	94	2	23
TOTALE %	(73%)	(2%)	(25%)	(75%)	(3%)	(22%)	(79%)	(2%)	(19%)

Tabella 5: sensibilità dei ceppi di *E.coli* nei confronti del principio attivo FLUMEQUINA.

	2012 (n=418)			2013 (n=593)			2014 (n=119)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
POLLO DA CARNE	23	0	46	29	4	57	16	2	16
GALLINA OVAIOLA	76	7	44	133	6	37	28	0	5
POLLA STRA	14	0	7	22	8	0	5	0	0
PULCINO	76	3	39	104	2	53	15	2	5
RIPRODUTTORE	17	2	11	36	0	15	9	0	2
TACCHINO	28	0	25	39	2	46	3	1	10
TOTALE n.	234	12	172	363	22	208	76	5	38
TOTALE %	(56%)	(3%)	(41%)	(61%)	(4%)	(35%)	(64%)	(4%)	(32%)

Tabella 6: sensibilità dei ceppi di *E.coli* nei confronti dell'associazione LINCOMICINA+SPECTINOMICINA.

	2012 (n=418)			2013 (n=582)			2014 (n=119)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
POLLO DA CARNE	33	6	18	51	7	30	16	2	8
GALLINA OVAIOIA	88	11	23	128	10	26	20	2	4
POLLASTRA	18	1	5	30	2	6	6	0	1
PULCINO	80	10	41	95	13	41	24	2	13
RIPRODUTTORE	28	1	2	45	3	9	6	0	1
TACCHINO	39	5	9	59	1	26	6	0	8
TOTALE n.	286	34	98	408	36	138	78	6	35
TOTALE %	(68%)	(8%)	(24%)	(70%)	(6%)	(24%)	(66%)	(5%)	(29%)

Tabella 7: sensibilità dei ceppi di *E.coli* nei confronti dell'associazione TRIMETOPRIM+SULFAMETOSSAZOLO.

	2012 (n=417)			2013 (n=593)			2014 (n=119)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
POLLO DA CARNE	23	0	35	23	0	67	14	2	18
GALLINA OVAIOIA	64	5	56	122	4	46	23	1	8
POLLASTRA	10	0	11	20	0	15	4	0	1
PULCINO	79	2	50	93	2	54	14	0	8
RIPRODUTTORE	25	0	4	47	1	12	9	0	3
TACCHINO	22	0	31	44	1	42	4	0	10
TOTALE n.	223	7	187	349	8	236	68	3	48
TOTALE %	(53%)	(2%)	(45%)	(59%)	(1%)	(40%)	(57%)	(3%)	(40%)

Tabella 8: minima concentrazione inibente nei confronti di ceppi di *E.coli* isolati da avifauna selvatica e da alcuni allevamenti intensivi.

	ANTIBIOTICI																		
	PEN >2 R	AMX 8 I	ENR ≤0,25 S	DOX ≤2 S	TLS ≤0,25 S	TET ≤2 S	TLS >1R	TILM >16 R	NEO ≤8 S	LIS ≤8/32 S	T/S ≤0,5/9,5 S	OXA >2 R	COL ≤2 S	ERY >4 R	TIA >16 R	LIN >4 R	STR ≤200 S	RAM ≤50 S	SPT ≤32 S
gallinella d'acqua	>2	4	<0,25	<2	>0,5	2	<1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	32
gazza	>2	4	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	<32
merlo	>2	<2	<0,25	4	>0,5	4	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	64
gruccione	>2	<2	<0,25	<2	>0,5	4	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	<32
civetta	>2	4	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	64
sparviero	>2	<2	<0,25	4	>0,5	4	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	<32
gazza	>2	4	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	64
martin pescatore	>2	8	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	<32
gazza	>2	4	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	<32
civetta	>2	4	<0,25	4	>0,5	4	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	64
storno	>2	4	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	<32
ghiandaia	>2	4	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	64
ghiandaia	>2	4	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	<32
gazza	>2	4	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	64
ghiandaia	>2	4	1	<2	>0,5	<2	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	64
ghiandaia	>2	4	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	<32
cornacchia grigia	>2	>16	>2	8	>0,5	>8	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	>64
civetta	>2	4	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	64
gazza	>2	4	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	64
gazza	>2	>16	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	64
cornacchia grigia	>2	<2	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	>64
ghiandaia	>2	16	<0,25	>2	>0,5	>2	<1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	64
cornacchia grigia	>2	<2	<0,25	<2	>0,5	4	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	>64
gazza	>2	>16	<0,25	>8	>0,5	>8	>1	>16	>8	>8/32	>2/38	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	64
tarabusino africano	>2	<2	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	>8	>8/32	>0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	>50	64

Seguito della tabella 8.

ANTIBIOTICI														SPT				
PEN	AMX	ENR	DOX	TLS	TET	TLS	TILM	NEO	LIS	T/S	OXA	COL	ERY	TIA	LIN	STR	RAM	SPT
>2 R	8 I	≤0,25 S	≤2 S	>0,5	≤2 S	>IR	>16 R	≤8 S	≤8/32 S	≤0,5/9,5 S	>2 R	≤2 S	>4 R	>16 R	>4 R	≤200 S	≤50 S	≤32 S
ghiandaia	4	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	<8	>8/32	<0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	<200	<50	64
gufo comune	4	<0,25	<2	>0,5	8	>1	>16	<8	>8/32	<0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	<50	64
rondone	<2	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	<8	>8/32	<0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	<200	<50	>64
ghiandaia	>16	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	<8	>8/32	<0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	<200	<50	64
gazza	>16	<0,25	>8	>0,5	>8	>1	>16	<8	>8/32	2/38	>2	<2	>4	>16	>4	<200	<50	>64
gabbiano corallino	<2	<0,25	4	>0,5	8	>1	>16	<8	>8/32	1/19	>2	<2	>4	>16	>4	<200	<50	64
gazza	>16	0,5	>8	>0,5	>8	>1	>16	<8	>8/32	<0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	<200	<50	64
gazza	<2	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	<8	>8/32	<0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	<200	<50	64
falco	<2	>2	>8	>0,5	>8	>1	>16	<8	>8/32	>2/38	>2	<2	>4	>16	>4	>200	<50	>64
pollo	>16	>2	8	>0,5	>8	>1	>16	<8	>8/32	<0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	<200	<50	>64
pollo	4	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	<8	>8/32	<0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	<200	<50	>64
tacchino	>16	>2	>8	>0,5	>8	>1	>16	16	>8/32	<0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	<200	<50	64
tacchino	>16	>2	8	>0,5	>8	>1	>16	<8	>8/32	>2/38	>2	<2	>4	>16	>4	<200	<50	>64
pollo	>16	>2	>8	>0,5	>8	>1	>16	<8	>8/32	>2/38	>2	<2	>4	>16	>4	>200	<50	>64
pollo	>16	>2	8	>0,5	>8	>1	>16	<8	>8/32	<0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	>200	<50	>64
pollo	<2	<0,25	>8	>0,5	>8	>1	>16	<8	>8/32	<0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	<200	<50	>64
tacchino	>16	>2	8	>0,5	>8	>1	>16	<8	>8/32	<0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	<200	<50	64
pollo	>16	<0,25	8	>0,5	>8	>1	>16	<8	>8/32	>2/38	>2	<2	>4	>16	>4	>200	<50	64
quaglia	>16	>2	>8	>0,5	>8	>1	>16	<8	>8/32	>2/38	>2	<2	>4	>16	>4	<200	<50	>64
anatra	4	<0,25	<2	>0,5	<2	>1	>16	<8	>8/32	<0,5/9,5	>2	<2	>4	>16	>4	<200	<50	64

Tabella 9: riepilogo della sensibilità antibiotica dei ceppi di *E.coli* isolati da avifauna selvatica e da alcuni allevamenti intensivi.

ANTIBIOTICO	Avifauna selvatica			Specie domestiche allevate		
	R (%)	I (%)	S (%)	R (%)	I (%)	S (%)
AMOXICILLINA	7 (21)	1 (3)	26 (76)	8 (73)	0	3 (27)
COLISTINA	0	0	34 (100)	0	0	11 (100)
DOXICILINA	8 (24)	0	26 (76)	9 (82)	0	2 (18)
ENROFLOXACINA	4 (12)	0	30 (88)	7 (64)	0	4 (36)
ERITROMICINA	34 (100)	0	0	11 (100)	0	0
LINCOMICINA	34 (100)	0	0	11 (100)	0	0
LINCOMICINA+ SPECTINOMICINA	27 (79)	0	7 (21)	10 (91)	0	1 (9)
NEOMICINA	0	0	34 (100)	1 (9)	0	10 (91)
OXACILLINA	34 (100)	0	0	11 (100)	0	0
PENICILLINA G	34 (100)	0	0	11 (100)	0	0
RIFAMPICINA	0	0	34 (100)	0	0	11 (100)
SPECTINOMICINA	25 (74)	0	9 (26)	11 (100)	0	0
STREPTOMICINA	3 (9)	0	31 (91)	3 (27)	0	8 (73)
TETRACICLINA	13 (38)	0	21 (62)	9 (82)	0	2 (18)
TIAMULINA	34 (100)	0	0	11 (100)	0	0
TILMICOSINA	34 (100)	0	0	11 (100)	0	0
TILOSINA	34 (100)	0	0	11 (100)	0	0
TRIMEOTPRIM+ SULFAMETOSSAZOLO	4 (12)	0	30 (88)	4 (36)	0	7 (64)

DISCUSSIONE e CONCLUSIONI

Pur con tutti i suoi limiti, l'antibiogramma rappresenta ancora oggi uno strumento per valutare, in tempi rapidi e con costi ragionevoli, la sensibilità di un ceppo batterico nei confronti di un pannello di antibiotici/chemioterapici. Si tratta ovviamente solo di una prova *in vitro* di tipo qualitativo. La scelta finale dell'antibiotico da impiegare deve comprendere ulteriori valutazioni a cominciare dal tipo di patologia osservata in campo e dalle caratteristiche di farmacocinetica (assorbimento intestinale e distribuzione tissutale) dei principi attivi disponibili. Essendo adottato in modo sufficientemente standardizzato dalla maggior parte dei laboratori diagnostici, l'antibiogramma può rappresentare un valido strumento per valutare nel tempo l'andamento dei profili di sensibilità antibiotica dei principali microrganismi patogeni e per indirizzare verso indagini di tipo molecolare quei ceppi che presentano, ad esempio, resistenze multiple. Nel presente studio sono stati raccolti i dati relativi ad oltre 1100 antibiogrammi eseguiti su ceppi di *E.coli* isolati dal 2012 ad oggi da casi clinici di colisetticemia in differenti tipologie di allevamento del pollo e del tacchino. Da questa indagine emerge

come, nel complesso, la sensibilità *in vitro* dei principali antibiotici considerati non abbia subito modificazioni di rilievo negli ultimi due anni. Aminociclina e colistina presentano la maggior prevalenza di sensibilità. Quest'ultima si attesta invece, nei confronti di enrofloxacin, si tra il 73% e il 79%; quest'ultimo dato, se valutato per tipologia di allevamento, evidenzia tuttavia un incremento di ceppi resistenti nel pollo da carne e nel tacchino. I ceppi sensibili alla flumequina sono risultati compresi, nel periodo considerato, tra 56% e 64%, quelli sensibili all'associazione lincomicina+spectinomicina tra 66% e 70% e quelli sensibili all'associazione trimetopim+sulfametossazolo tra 53% e 59%. La sensibilità ad amoxicillina risulta più bassa (22% nel 2012 e 25% nel 2013). Un dato importante (non pubblicato in questo lavoro) riguarda il crescente isolamento di ceppi di *E.coli* contemporaneamente resistenti a diversi principi attivi.

Nella seconda parte dello studio è stato considerato il ruolo dell'avifauna selvatica come possibile serbatoio di determinati dell'antibiotico-resistenza. Si tratta di un fenomeno importante (considerando le crescenti interazioni tra gli habitat in cui vive la fauna selvatica e le attività umane e zootecniche), ma sul quale i dati disponibili sono ancora limitati. I risultati ottenuti in questo studio (riguardanti 34 ceppi di *E.coli* isolati da specie diverse) hanno evidenziato fenomeni di resistenza nei confronti di 15 dei 18 antibiotici testati. In particolare è da sottolineare l'isolamento di ceppi resistenti a molecole impiegate nei confronti di batteri Gram-negativi come enrofloxacin (12%), spectinomicina (74%) e streptomycin (9%). Sebbene l'avifauna selvatica non venga naturalmente in contatto con molecole ad azione antimicrobica, questi animali possono essere colonizzati da batteri resistenti e possono perciò svolgere un ruolo di serbatoio di geni di antibiotico-resistenza. E' perciò importante analizzare l'epidemiologia e i meccanismi di emergenza e diffusione di questo fenomeno. Il monitoraggio dei livelli di antibiotico-resistenza in batteri commensali isolati da specie selvatiche può fornire un prezioso contributo allo studio dell'evoluzione dei meccanismi di resistenza.

BIBLIOGRAFIA

1. Andrews J.M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentration; *Journal Of Antimicrobial Chemotherapy* 48, Suppl. S1, 5-16
2. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) 2006a. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; Approved guideline (M45-A, Vol. 26 No. 19). CLSI, Wayne, PA.
3. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) 2006b. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Sixteenth Informational Supplement. (M100-S16, Vol 26 No 3). CLSI, Wayne, PA.
4. Kitadai N, Obi T., Yamashita S., Murase T., Takase K. (2012). Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolates from faeces of wild cranes migrating to Kagoshima. *Japan J. Vet. Med. Sci* 74:395-397.
5. Radimersky T., Frolkova P., Janoszowska D., Dolejska M., Svec P., Roubalova E. (2010). Antibiotic resistance in faecal bacteria (*Enterococcus* spp. and *Escherichia coli*) in feral pigeons. *Journal of Applied Microbiology* 109:1687-1695.
6. Santos T, Sila N., Igrejas G., Rodrigues P. (2013). Dissemination of antibiotic resistant *Enterococcus* spp. and *Escherichia coli* from wild birds of Azores Archipelago. *Anaerobe* 24:25-31.