

**Sorveglianza ambientale di antimicrobico resistenza
attraverso lo studio dei profili di resistenza in ceppi
commensali coliformi isolati da animali selvatici.
Qual è il migliore bioindicatore nella fauna selvatica?**

Dott.ssa Erika Esposito

39° ciclo

CURRICULUM: SANITÀ ANIMALE

Supervisore: Prof.ssa Silvia Piva

Co-supervisore: Prof.ssa Elena Catelli



Resistenza antimicrobica (AMR)

1

Una delle più gravi minacce per la salute pubblica globale (WHO, 2019).

2

3

4

5

6

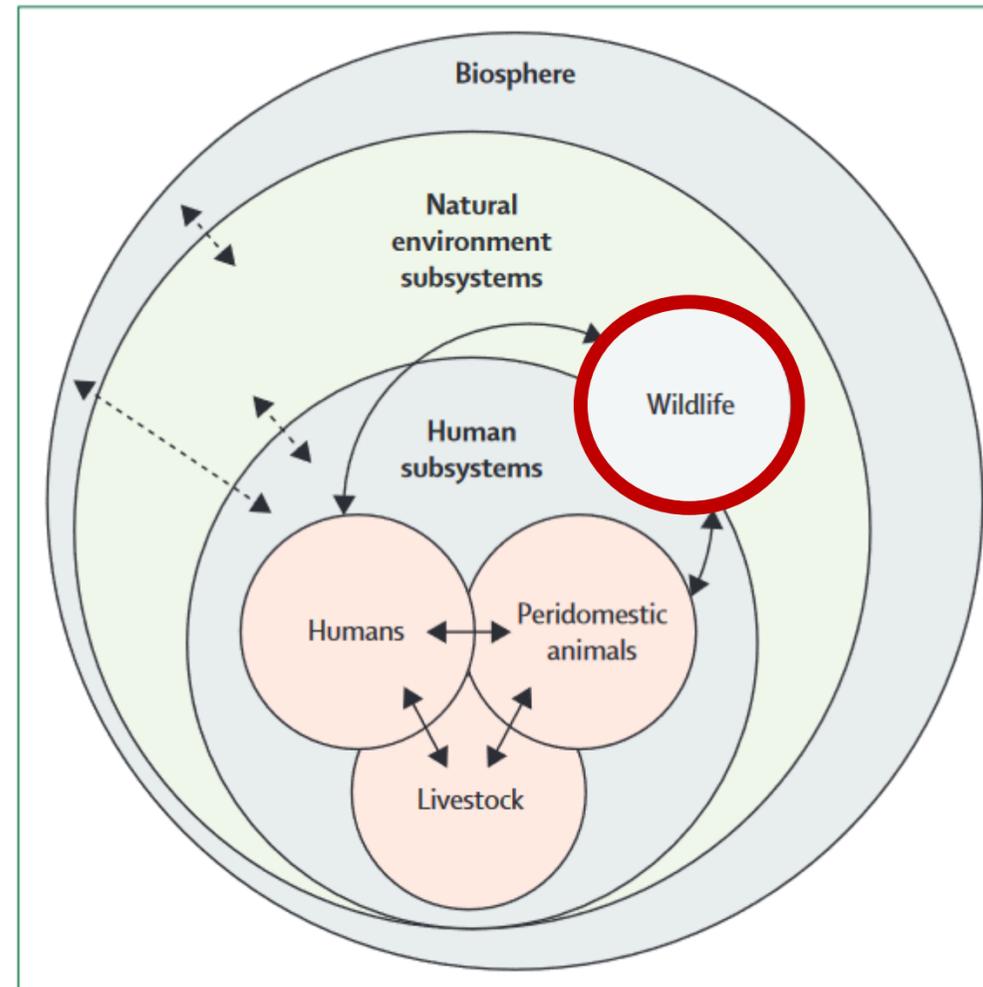
7

8

Amplificato da un uso eccessivo e improprio di antimicrobici da parte della popolazione umana in medicina umana, veterinaria, in ambito agricolo e zootecnico.



Ruolo Fauna Selvatica



The need for One Health systems-thinking approaches to understand multiscale dissemination of antimicrobial resistance

Kathryn E Arnold, Gabrielle Laing, Barry J McMahon, Séamus Fanning, Dov J Stekel, Ole Pahl, Lucy Coyne, Sophia M Latham, K Marie McIntyre

Figure 1: A One Health paradigm, systems-thinking approach describing evolution and dissemination of antimicrobial resistance

Le diverse specie di animali selvatici, caratterizzati da diverse preferenze di *habitat*, *comportamenti* e *abitudini alimentari*, possono giocare ruoli diversi nella complessa dinamica dell'AMR fungendo da INDICATORI della possibile contaminazione ambientale da AMR.

1

2

3

4

5

6

7

8



Studio preliminare sul ruolo degli Uccelli Selvatici come Bioindicatori della Resistenza Antimicrobica Ambientale

1

2

3

4

5

6

7

8

Novembre 2022 - Giugno 2023

Capacità di occupare diverse nicchie ecologiche, di adattarsi a molti ambienti urbani e rurali e all'attitudine di migrare.

Valutazione dei pattern di resistenza della flora batterica commensale isolata dagli uccelli campionati, in associazione con le caratteristiche degli uccelli.





1

2

3

4

5

6

7

8

Table 2

Nonsusceptibility percentages, and in brackets the number of non-susceptible isolates, for each molecule tested in all bacterial isolates, in Gram-negative and in Gram-positive bacteria. The percentage value of AMR and MDR for each category is given in the last two rows.

Antimicrobial	% of Nonsusceptibility (n)	% in Gram-negative (n)	% in Gram-positive (n)
CN120	0 % (0/5)		0 % (0/5)
CN10	0.9 % (1/114)	0 % (0/40)	1.4 % (1/74)
AMP10	4.5 % (5/112)	5.7 % (2/35)	3.9 % (3/77)
OX1	46.8 % (36/77)		46.8 % (36/77)
FOX30	1.8 % (1/54)		1.8 % (1/54)
AMC30	1.7 % (2/116)	0 % (0/39)	2.6 % (2/77)
KZ30	2.7 % (1/37)	2.7 % (1/37)	
KT30	1.4 % (1/72)		1.4 % (1/72)
EFT30	2.6 % (3/114)	0 % (0/40)	4.1 % (3/74)
RD5	20.8 % (16/77)		20.8 % (16/77)
TE30	12.2 % (15/115)	5.3 % (2/38)	15.6 % (12/77)
F15	9.2 % (7/76)		9.2 % (7/76)
DA2	29.3 % (22/75)		29.3 % (22/75)
CLR15	7.9 % (6/76)		7.9 % (6/76)
ENR5	8.6 % (10/117)	5 % (2/40)	10.4 % (8/77)
SXT30	0 % (0/117)	0 % (0/40)	0 % (0/77)
ETP10	4.3 % (5/117)	0 % (0/40)	6.5 % (5/77)
AMR	50.4 % (59/117)	15 % (6/40)	68.8 % (55/77)
MDR	10.3 % (12/117)	0 % (0/40)	15.6 % (12/77)

Wild birds as potential bioindicators of environmental antimicrobial resistance: A preliminary investigation

Esposito Erika ^{a,*}, Raffaele Scarpellini ^{a,1}, Ginevra Celli ^a, Giovanna Marliani ^a, Anna Zaghini ^a, Elisabetta Mondo ^a, Giuseppe Rossi ^b, Silvia Piva ^a

^a Department of Veterinary Medical Sciences, Alma Mater Studiorum - University of Bologna, Via Tolara di Sopra 50, Ozzano dell'Emilia, 40064 Bologna, Italy

^b Italian League for Bird Protection, Bologna, Modena Section, Via Canaletto 88, 41122 Modena, Italy

- AMR e l'habitat rurale/urbano (p=0.01)
- Resistenza all'enrofloxacin con l'habitat rurale/urbano (p=0.02)
- Uccelli campionati nella provincia di Bologna e la resistenza all'oxacillina (p=0.007)

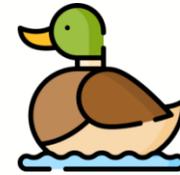


Scarsa eterogeneità del campione



Anatidi

Novembre 2023 - in corso



1

2

3

4

5

6

7

8

- Habitat *acquatico* → diverso ed importante fattore di rischio per l'AMR ambientale
- Campionamenti cloacali su Anatre Selvatiche (Novembre - Dicembre 2023)
- Nuova stagione di campionamento: Novembre 2024


PROGRESS

RISULTATI:

31 anatidi campionati

55 ceppi batterici (Enterobacteriaceae)

Specie più frequentemente isolate:

- *E. coli* (27/55)
- *Aeromonas veronii* (15/55)

 27/55 (49%) sono risultati AMR

MOLECOLE DI ANTIBIOTICO	%R tutti i batteri	%R Gram negativi	%R Gram positivi
AK30	2/65 3.1%	1/55 1.8%	1/10 10%
AMPI10	21/65 32.3%	19/55 34.5%	2/10 20%
AMC30	19/65 29.2%	17/55 31%	2/10 20%
KZ/CZ30	10/55 18.2%	10/55 18.2%	/
KF/KT30	0/10 0%	/	0/10 0%
TZP110	0/65 0%	0/55 0%	0/10 0%
EFT30	3/65 4.6%	1/55 1.8%	2/10 20%
RD5	9/65 13.8%	/	9/10 90%
TE30	6/65 9.2%	6/55 11%	0/10 0%
ENR5	0/65 0%	0/55 0%	0/10 0%
SXT23	1/65 1.5%	1/55 1.8%	0/10 0%
ETP10	9/65 13.8%	3/55 5.5%	6/10 60%

Tabella 4: Percentuali di resistenza per le molecole testate considerando tutti gli isolati batterici, i batteri Gram negativi e infine i Gram positivi.

Rondoni

Maggio 2023 - in corso

Monitoraggio ambientale dell'antimicrobico resistenza mediante valutazione di ceppi batterici commensali isolati da uccelli raccolti nella regione Friuli-Venezia Giulia

1

2

3

4

5

6

7

8

Importante specie migratoria a lungo raggio!

Campionamenti (cloacali e buccali):

- | | |
|-------------------|----------------|
| 1. Maggio 2023 | 3. Giugno 2024 |
| 2. Settembre 2023 | 4. Agosto 2024 |



Valutare il loro ruolo come Bioindicatori di

- eventuali resistenze nei loro paesi di origine;
- resistenze potenzialmente acquisite durante la permanenza in Italia.

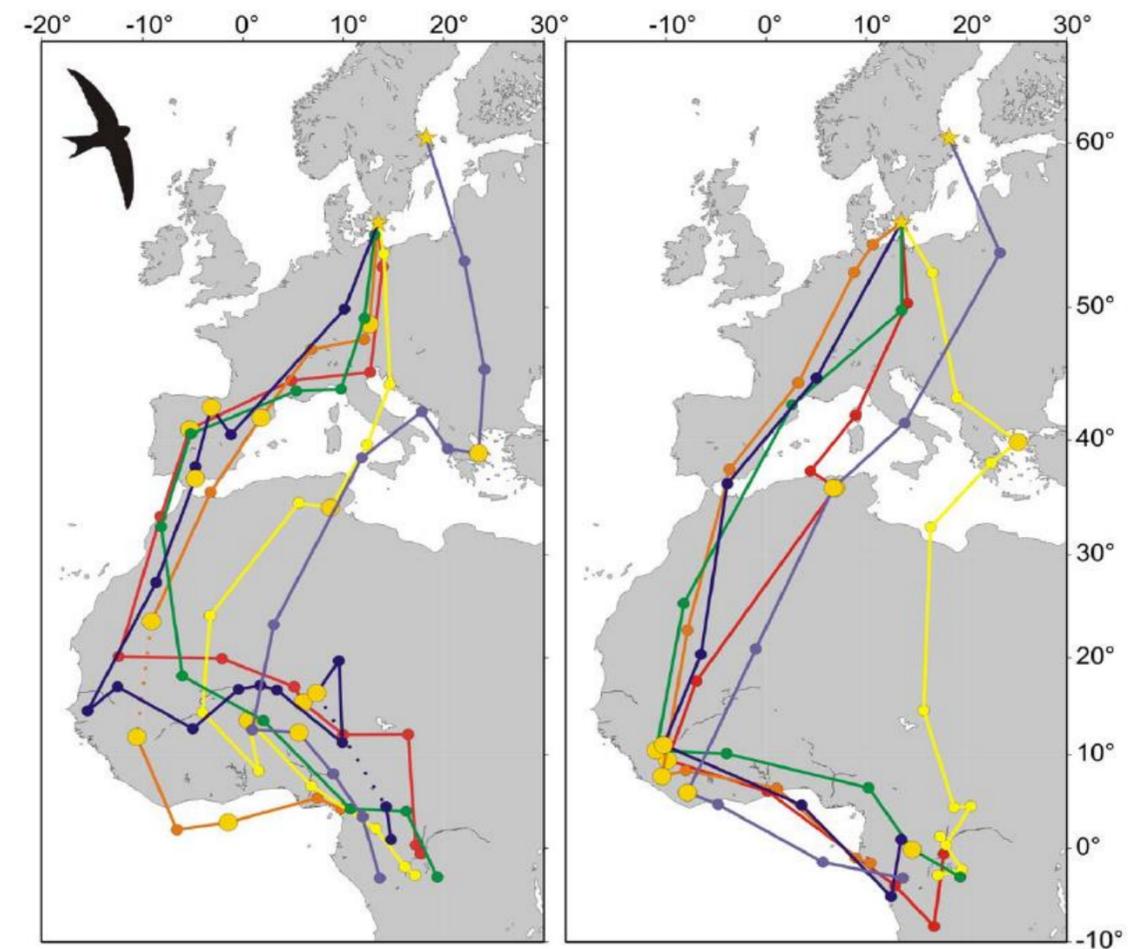


Figure 1. Migration tracks of swifts. (A) Autumn migration tracks for 6 individuals where filled circles represent 3-day average positions and filled yellow circles represent stopover periods when the bird did not move (2 days or more). Dotted lines indicate lack of data around autumn equinox. (B) Spring migration tracks for the same birds as in (A).
doi:10.1371/journal.pone.0041195.g001

Åkesson, S., Klaassen, R., Holmgren, J., Fox, J. W., & Hedenström, A. (2012). Migration routes and strategies in a highly aerial migrant, the common swift *Apus apus*, revealed by light-level geolocators.

Rondoni

Maggio 2023 - in corso

1

2

3

4

5

6

7

8

RISULTATI:

45 rondoni campionati = 197 ceppi batterici isolati.

Specie più frequentemente isolate sono state:

- *Staphylococcus* spp. (54/197);
- *Enterococcus* spp. (50/197);
- *E. coli* (28/197)
- *Klebsiella* spp. (20/197)

Rondoni



RISULTATI:

MOLECOLE DI ANTIBIOTICO (µg)	% R (2023)	% R (Giugno 2023)	% R (Settembre 2023)
CN (10 e 120)	(11/69) 15.9%	(10/46) 21.7%	(1/43) 2.3%
AMP (10)	(12/89) 13.4 %	(8/46) 17.4%	(4/43) 9.3%
OX (1)	(53/64) 82.8%	(26/34) 76.5%	(27/30) 90%
AMC (30)	(9/89) 10.1%	(6/46) 13%	(3/43) 7%
KF/KZ (30)	(18/89) 20.2%	(13/46) 28.2%	(5/43) 11.6%
EFT (30)	(24/89) 26.9%	(13/46) 28.2%	(11/43) 25.5%
RD (5)	(28/64) 45.3%	(11/34) 32.4%	(17/30) 56.6%
TE (30)	(17/90) 18.8%	(10/46) 21.7%	(6/43) 13.9%
E (15)	(15/64) 23.4%	(8/34) 23.5%	(7/30) 23.3%
DA (2)	(28/64) 43.7%	(16/34) 47%	(14/30) 46.6%
CLR (15)	(11/64) 17.1%	(6/34) 17.6%	(5/30) 16.6%
ENR (5)	(19/89) 21.3%	(8/46) 17.39%	(11/43) 25.6%
SXT (23)	(9/89) 10.1%	(8/46) 17.39%	(1/43) 2.3%
ETP (10)	(43/89) 48.3%	(21/46) 45.6%	(22/43) 51.2%

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

In conclusione...

Conferma di un effettiva presenza a livello ambientale di resistenze nei confronti di antibiotici di comune utilizzo e del potenziale ruolo degli uccelli selvatici come bioindicatori di una contaminazione di AMR a livello ambientale, sottolineando **la necessità di indagare e affrontare il fenomeno dell'AMR nell'ecosistema attraverso lo studio della fauna selvatica!**



Scopo del Progetto:

Sorveglianza Ambientale dell'antimicrobico-resistenza (AMR), secondo un approccio integrato One Health, attraverso la valutazione del potenziale ruolo di diverse specie di animali selvatici come bioindicatori di AMR nell'ecosistema.

1

2

3

4

5

6

7

8

Valutazione dei pattern di resistenza antimicrobica in ceppi batterici commensali coliformi isolati da diverse specie di selvatici

Valutazione delle caratteristiche di specie, la loro interazione con l'ambiente e gli eventuali fattori di rischio associati

Indagare quali specie siano in grado di fornire risultati significativi sulla presenza di AMR nell'ecosistema

Fasi del Progetto:

1

1. RICERCA BIBLIOGRAFICA e RICERCA COLLABORAZIONI:

2

Centri di Recupero Animali Selvatici
(CRAS di Lazise-VR; CRAS di Trieste)

3

4

5

Centro LIPU di Torrile (PR)

6

Istituti Zooprofilattici Sperimentali (IZLER, IZSve)

7

8

Dott. Dino Scaravelli, Dott.ssa Enrica Bellinello



Fasi del Progetto:

1

2

3

4

5

6

7

8

2. PIANIFICAZIONE dei CAMPIONAMENTI:

Tipologia di campioni: campioni di feci e/o tamponi rettali/cloacali

Specie di animali selvatici: **mammiferi, micromammiferi e uccelli**

(non sottoposti a trattamenti antibiotici nei 90 giorni precedenti al campionamento)

3. ANALISI di LABORATORIO:

- Enrichment selettivo per coliformi (EC broth)
- Isolamento su terreno cromogenico (CHROMagar)
- Identificazione fenotipica di colonia: MALDI-TOF
- Stoccaggio dei ceppi batterici a -80°C

Risultati:

1

CAMPIONAMENTO:

2

3 in provincia di Parma (LIPU Torrile)

3

2 in provincia di Verona (CRAS Lazise)

4

Raccolta campioni IZLER

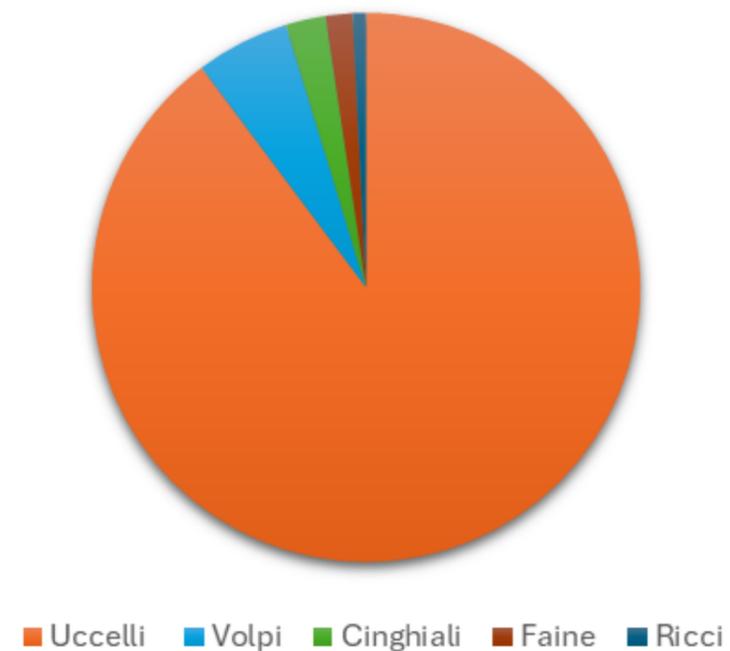
5

Campionati un totale di **127** animali selvatici

6

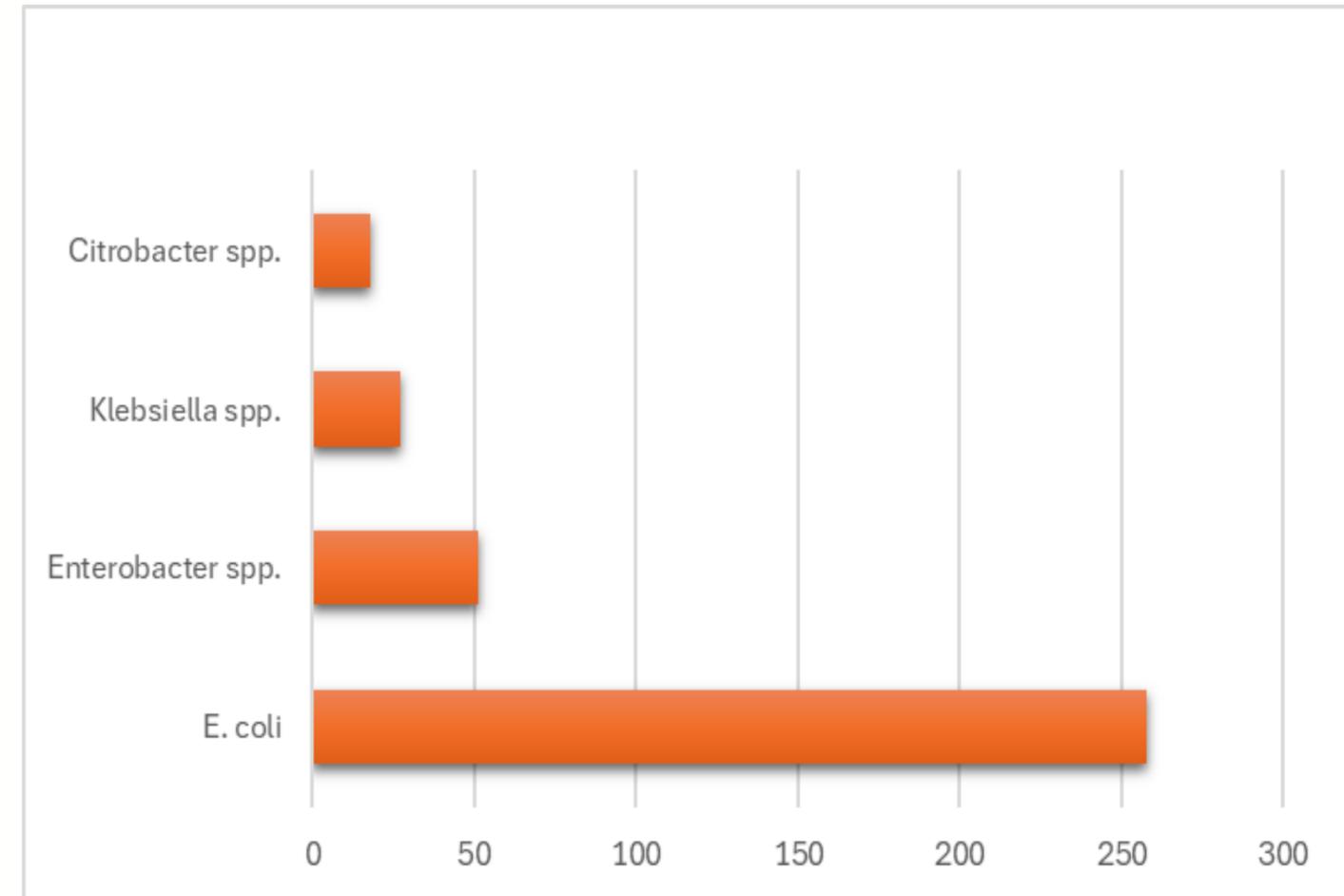
7

8



ISOLAMENTO BATTERICO:

Isolati in totale **363** ceppi:



Obiettivi futuri:

Ampliare il numero di animali campionati e il numero di isolati batterici, affinando l'eterogeneità del campione e dei dati raccolti...

1

2

3

4

5

6

7

8

»» Campionamenti su diverse specie di animali selvatici

»» Campionamenti ambientali

Al fine di ottenere un confronto dei dati di relativi agli animali campionati con le condizioni ambientali circostanti, offrendo una visione futura più completa della dinamica dell'AMR.

»» Pianificazione di un periodo di ricerca all'estero al fine di ampliare il campionamento su scala più ampia e diversificata (Africa)

Permettendo così di confrontare dati in aree caratterizzate da contesti epidemiologicamente differenti, con particolare attenzione agli uccelli migratori caratterizzati da rotte migratorie che interessano l'Italia.

»» Analisi di laboratorio al fine di valutare i profili di sensibilità antimicrobica

1

2

3

4

5

6

7

8



BLENDING INTENSIVE
PROGRAM
JULY 2024

PRESS
PLAY TO
START

Tackling the societal challenges through a One Health approach

1

2

3

4

5

6

7

8



**77° CONVEGNO
SISVET**
Campus Universitario
Piazzale Aule delle Scienze (ex G02)
PARMA



1

2

3

4

5

6

7

8



**THANK
YOU**

