



**UNIVERSITÀ
DI PARMA**

DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICO-VETERINARIE

**CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN PRODUZIONI ANIMALI
INNOVATIVE E SOSTENIBILI**

**ANTIBIOTICO - RESISTENZA IN AMBITO ZOOTECNICO:
IMPLICAZIONI IN SANITÀ PUBBLICA**

**ANTIMICROBIALS IN LIVESTOCK FARMING AND RESISTANCE:
PUBLIC HEALTH APPLICATIONS**

RELATORE: Prof. Maria Cristina OSSIPRANDI

LAUREANDA:

Sandra PINTO

ANNO ACCADEMICO: 2025 – 2026

ABSTRACT IN ITALIANO

L'antibiotico-resistenza (AMR: *Antimicrobial Resistance*) rappresenta una delle principali minacce per la salute pubblica globale, con stime che prevedono fino a 10 milioni di morti annue entro il 2050.

Il presente studio, condotto nell'ambito del paradigma *One Health*, ha analizzato in modo comparativo i profili di resistenza antimicrobica in tre contesti al fine di valutarne la diffusione trasversale.

Per il comparto zootecnico è stato inoltre caratterizzato un ceppo di *Salmonella Dublin* isolato e identificato secondo la normativa UNI EN ISO 6579-1:2017 e caratterizzato con antibiogramma eseguito secondo il metodo Kirby-Bauer.

I risultati hanno evidenziato una marcata multiresistenza in tutti i contesti analizzati, con percentuali di resistenza comprese tra il 70% e l'89%. Di particolare rilevanza epidemiologica è la resistenza osservata verso molecole di "ultima linea", quali carbapenemi e colistina.

Lo studio conferma la natura sistemica e intersettoriale dell'antibiotico-resistenza e la necessità di un approccio integrato di sorveglianza e controllo.

Solo attraverso un'azione coordinata secondo il paradigma *One Health* sarà possibile contrastare efficacemente questa minaccia globale.

ABSTACT IN ENGLISH

Antimicrobial resistance (AMR) represents one of the major threats to global public health, with estimates predicting up to 10 million deaths annually by 2050.

This study, conducted within the framework of the One Health paradigm, comparatively analyzed antimicrobial resistance profiles across three different environments to assess their cross-sectoral dissemination.

For the livestock sector, a strain of *Salmonella* Dublin was also characterized; it was isolated and identified in accordance with the UNI EN ISO 6579-1:2017 standard, with antimicrobial susceptibility testing (AST) performed using the Kirby-Bauer disk diffusion method.

The results highlighted marked multidrug resistance (MDR) across all analyzed contexts, with resistance rates ranging between 70% and 89%. Of particular epidemiological significance is the resistance observed against "last-line" molecules, such as carbapenems and colistin.

The study confirms the systemic and cross-sectoral nature of antimicrobial resistance and underscores the necessity of an integrated approach to surveillance and control. Only through coordinated action under the One Health paradigm will it be possible to effectively counter this global threat.

Indice:

1. Introduzione

1.1 Cos'è l'antibiotico-resistenza

1.2 La situazione in Europa

1.3 La situazione in Italia

2. Materiali e metodi

2.1 Disegno dello Studio e Approccio One Health

2.2 Caso clinico umano

2.3 Caso clinico animale da compagnia

2.4 Caso clinico animale da reddito

3. Risultati

3.1 Isolamento e identificazione di *Salmonella* Dublin

3.2 Test di suscettibilità antimicrobica

4. Discussione

4.1 Analisi dei dati sul caso clinico umano

4.2 Analisi dei dati sul caso clinico animale da compagnia

4.3 Analisi dei dati sul caso clinico animale da reddito

4.4 Analisi dei dati sul sierotipo *Salmonella* Dublin

4.5 Analisi dei dati comparati

5. Conclusioni

6. Bibliografia

1. Introduzione

1.1 Cos'è l'antibiotico resistenza

L'introduzione degli antibiotici ha rappresentato una svolta decisiva nella storia della medicina, consentendo lo sviluppo di terapie efficaci. Il loro successo in ambito umano ha portato, nel tempo, ad un'estensione dell'impiego anche negli animali da reddito, dove questi farmaci sono stati adattati per trattamenti su larga scala rivolti a interi allevamenti. Con la diffusione dell'impiego degli antibiotici, l'uso non terapeutico di questi farmaci si è rivelato una pratica redditizia, comportando un aumento di peso degli animali per soddisfare la crescente domanda di carne. L'abuso di antibiotici in modo inappropriato ha fatto sorgere preoccupazioni per la resistenza antimicrobica già a partire dalla metà degli anni '50.

Il problema dell'utilizzo improprio di antibiotici e della resistenza antimicrobica nel bestiame è più diffuso nei paesi in via di sviluppo a causa delle vendite non regolamentate, delle scarse infrastrutture sanitarie, dell'uso eccessivo di antibiotici per la promozione della crescita non terapeutica, dell'uso indiscriminato e irrazionale senza rispettare il periodo di sospensione, della contaminazione dei mangimi con gli escrementi degli animali trattati, dei dosaggi fuori etichetta, dello scarso controllo delle infezioni, della contaminazione ambientale e dell'impiego di antibiotici non autorizzati.

In molti allevamenti, gli antibiotici vengono somministrati a scopo profilattico ad animali sani, con l'obiettivo di prevenire l'insorgenza di malattie infettive. L'escrezione di questi batteri porta alla contaminazione locale del suolo e delle riserve idriche, facilitando la diffusione agli esseri umani. L'ambiente rappresenta infatti uno dei principali punti di interconnessione tra l'uso veterinario degli antibiotici e la salute pubblica, insieme all'uso di antibiotici nelle strutture sanitarie.

Un altro fattore che contribuisce all'aumento della resistenza antimicrobica al giorno d'oggi è dato dall'aumento dei sistemi di agricoltura intensivi, all'interno dei quali si notano livelli di antibiotico resistenza sempre più alti.

La resistenza antimicrobica negli esseri umani rappresenta una delle minacce più rilevanti per la salute pubblica: la ridotta efficacia degli antimicrobici con conseguente sviluppo di infezioni difficili da trattare, portando a malattie prolungate, costi sanitari più elevati e tassi di mortalità elevati (Enshaei et al., 2025).

Con il termine antibiotico-resistenza (AMR, dall'acronimo inglese *AntiMicrobial Resistance*) si intende la capacità di un batterio di resistere all'attività di uno o più antibiotici, di sopravvivere e crescere in presenza di una concentrazione dell'agente antibatterico che risulti sufficiente ad inibire o uccidere microrganismi della stessa specie. Il consumo spesso eccessivo e scorretto di antibiotici nel tempo è sempre stato accompagnato dall'insorgenza di resistenza nei batteri. Questo problema viene considerato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) una delle tre più importanti minacce per la salute pubblica del ventunesimo secolo, insieme alla crisi climatica e alla tendenza a rifiutare i vaccini. L'emergenza rappresentata dall'AMR per la salute pubblica è data dall'impatto che questa ha a livello epidemiologico ed economico ed è aggravata dalla rapida perdita di efficacia da parte degli antibiotici e dal ridotto se non addirittura nullo sviluppo di nuove molecole antibiotiche da parte delle case farmaceutiche.

Oggi, questo fenomeno ha un peso enorme e, in prospettiva futura, si stimano 10 milioni di morti all'anno ad opera di ceppi multiresistenti entro il 2050.

Il problema dell'antibiotico-resistenza è rappresentato dalla resistenza acquisita che si instaura nel momento in cui batteri la sviluppano nei confronti di un antibiotico, ma anche in seguito a mutazioni cromosomiche o ad acquisizione di materiale genetico derivante da altre popolazioni batteriche. La diffusione di mutazioni cromosomiche avviene attraverso trasmissione verticale e

indipendentemente dalla presenza dell'antibiotico; generalmente queste mutazioni vengono corrette da meccanismi cellulari e per tale motivo sono alquanto rare. Il fenomeno della resistenza trasferibile è invece più significativo e prevede la dislocazione di geni batterici in grado di conferire resistenza; tale trasferimento genico è mediato da plasmidi, integroni e trasposoni e può avvenire tra DNA cromosomiale ed extra-cromosomiale nell'ambito di batteri della stessa specie e non, grazie ai processi di trasformazione, coniugazione e trasduzione. Questi permettono ai batteri riceventi di acquisire la capacità di attuare uno o più meccanismi di resistenza: tali meccanismi possono essere classificati in base alla via biochimica coinvolta e prevedono la capacità di modificare la molecola antibiotica, di impedire il raggiungimento dei siti target, di modificarli e/o sostituirli.

L'inattivazione della molecola antibiotica può avvenire attraverso l'apporto di alterazioni chimiche o per distruzione della molecola stessa. La produzione di enzimi in grado di modificare chimicamente un antibiotico è un meccanismo di resistenza diffuso sia nei batteri Gram-negativi come pure in quelli Gram-positivi. Gran parte degli antibiotici interessati appartengono alla classe di molecole che esplica il proprio meccanismo inibendo la sintesi proteica a livello dei ribosomi. Nel meccanismo di protezione del sito target, la cellula batterica impedisce all'antibiotico di raggiungere il sito di legame. La protezione consiste generalmente nella rimozione dell'antibiotico dal sito di legame o nella produzione di proteine specifiche in grado di competere per lo stesso sito di legame della molecola antibiotica, che ne impediscano quindi l'interazione permettendo al batterio di sopravvivere. L'azione antibiotica può essere inibita anche attraverso modificazioni del sito target, mediante mutazioni puntiformi.

La sostituzione del sito target consiste nello sviluppare strutture ex novo in grado di svolgere le stesse funzioni biochimiche dell'antibiotico, con il vantaggio di non essere sensibili ad esso (Sbaffi C., et al., 2023).

1.2 La situazione in Europa

La resistenza antimicrobica (AMR) rimane una sfida seria per tutti, una pandemia silenziosa che richiede una risposta *One Health* nell'UE/SEE.

Nonostante gli sforzi compiuti negli ultimi anni per ridurre l'uso di antibiotici e contrastare la resistenza antimicrobica, quest'ultima rimane una minaccia significativa per la salute pubblica. I batteri resistenti agli antibiotici non conoscono confini in un complesso sistema di interconnessioni che rende necessario un approccio integrato (*OECD*, 2022).

La scoperta e l'utilizzo degli antibiotici nella pratica clinica hanno contribuito in modo determinante a migliorare lo stato di salute della popolazione mondiale. Tuttavia, il loro uso eccessivo e inappropriato sia negli esseri umani che negli animali sta contribuendo ad accelerare la diffusione dell'antibiotico-resistenza, con importanti ricadute sulla gestione clinica dei pazienti ed un notevole aumento dei relativi costi sanitari (**Immagine 1**).

Un ruolo chiave lo gioca anche l'ambiente nello sviluppo, trasmissione e diffusione delle resistenze, ribadendo la necessità e l'urgenza di una risposta multisettoriale che riconosca che la salute delle persone, degli animali, delle piante e dell'ambiente sono strettamente collegate e interdipendenti (Hussein S., et al., 2024).

Già nel 2015 l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), in collaborazione con l'Organizzazione delle Nazioni Unite per l'Alimentazione e l'Agricoltura (*Food and Agriculture Organization of the United Nations-FAO*) e l'Organizzazione Mondiale della Sanità Animale (*World Organization for Animal Health – OIE*) aveva elaborato un Piano d'Azione Globale contro l'antimicrobico-resistenza (AMR) (*Global Action Plan on Antimicrobial Resistance*) incentrato sul concetto “*One Health*” per promuovere l'uso appropriato degli antibiotici in ambito umano, veterinario e ambientale. A supporto di questo piano, l'OMS sviluppò il sistema globale di

sorveglianza dell'AMR (*Global Antimicrobial Resistance Surveillance System*, GLASS), con il fine di attivare sistemi di sorveglianza nazionali per il monitoraggio delle resistenze e del consumo degli antimicrobici e di sviluppare un approccio standardizzato per l'elaborazione dei dati. Il sistema GLASS attualmente è composto da più di 100 paesi, che si sono dotati di un sistema di sorveglianza nazionale dell'AMR.

La Commissione Europea nel 2017 ha adottato il Piano d'Azione Europeo “*One Health*” contro la resistenza antimicrobica riconoscendo l'antibiotico-resistenza come una grave problematica in ambito sanitario, l'obiettivo era proprio quello di ridurre il divario tra gli Stati membri e di incoraggiare l'adozione di piani nazionali (Mader et al., 2022).

Il Centro Europeo per la Prevenzione e il Controllo delle Malattie (*European Centre for Disease Prevention and Control*, ECDC) ha istituito due sistemi di sorveglianza in ambito umano: la rete europea di sorveglianza della resistenza antimicrobica (*European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*, EARS-Net) e la rete europea di sorveglianza del consumo degli antimicrobici (*European Surveillance of Antimicrobial Consumption Network*, ESAC-Net). A supporto di quest'ultimo, l'ECDC ha sviluppato la piattaforma informatica TESSy (*The European Surveillance System*), rinominata ad oggi “EpiPulse-TESSy” che, attraverso l'analisi dei dati provenienti dalle reti di sorveglianza nazionali, fornisce annualmente una panoramica completa relativamente al consumo di antibiotici per uso umano a livello europeo e predispone possibili piani d'azione per contrastare questa grave problematica.

In ambito animale, l'Agenzia Europea dei Medicinali (EMA), attraverso il Sistema di sorveglianza europeo per il consumo di antimicrobici in ambito veterinario (*European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption*, ESVAC), coordina l'attività di monitoraggio a livello europeo dei dati di vendita dei medicinali veterinari contenenti molecole antimicrobiche, contribuendo a sviluppare un approccio armonizzato per la raccolta e la rendicontazione dei dati sull'uso di antimicrobici negli Stati membri dell'Unione Europea (UE).

Le raccomandazioni del Consiglio dell'UE del 26 aprile 2023 sottolineano quanto questa problematica si stia estendendo nel tempo, rendendo necessario incentivare le iniziative del piano d'azione “*One Health*” del 2017 con l'obiettivo di rafforzare ulteriormente il contrasto dell'AMR in tutta l'UE. Tra gli obiettivi fissati dalla raccomandazione vi è la riduzione del 20% del consumo totale di antibiotici entro il 2030.

Più recentemente, in occasione della riunione di alto livello dell'Assemblea Generale delle Nazioni Unite (UNGA: *General Assembly of the United Nations*) sull'AMR tenutasi a New York il 26 settembre 2024, i leader dei 193 Stati membri delle Nazioni Unite (ONU) hanno affrontato per la seconda volta in otto anni il tema della crescente minaccia dell'AMR a livello globale, approvando una dichiarazione politica che ribadisce la necessità di un'azione multisettoriale di contrasto all'AMR a livello globale, regionale e nazionale ai fini del raggiungimento degli obiettivi di sviluppo sostenibile fissati per il 2030. L'Assemblea ha inoltre riconosciuto il ruolo dell'ambiente nello sviluppo, nella trasmissione e nella diffusione della resistenza antimicrobica, sostenendo la necessità di azioni più incisive anche in materia ambientale per la prevenzione e il contrasto delle principali fonti di inquinamento da antibiotici.

Nel 2023, il consumo totale medio ponderato per la popolazione dell'UE (settori comunitario e ospedaliero) di antibatterici per uso sistemico è stato di 20,0 DDD (Dose Giornaliera Definita) per 1.000 abitanti al giorno. Questo valore è risultato superiore dell'1% rispetto al 2019 e di 4,1 DDD per 1.000 abitanti al giorno rispetto all'obiettivo del 2030 che corrisponde a 15,9 DDD per 1.000 abitanti al giorno.

A livello UE/SEE, il sottogruppo di antibiotici più consumato è risultato essere quello delle penicilline (47%), seguito da macrolidi, lincosamidi e streptogramine (17%), cefalosporine e altri beta-lattamici (12%), tetraciline (9%), chinoloni (7%), altri antibatterici (5%), sulfonamidi e trimetoprim (3%) e altri gruppi (0,5%).

Nel settore ospedaliero, il consumo medio ponderato per popolazione di antibatterici per uso sistemico nell'UE/SEE (Spazio Economico Europeo) è stato di 1,6 DDD per 1.000 abitanti al giorno nel 2023.

A livello UE/SEE, il sottogruppo di antibiotici più comunemente consumato nel settore ospedaliero è stato quello delle penicilline (34%), seguito da cefalosporine e altri beta-lattamici (28%), altri antibatterici (12%), chinoloni (9%), macrolidi, lincosamidi e streptogramine (8%), sulfonamidi e trimetoprim (4%), altri gruppi (3%) e tetracicline (3%). A livello UE/SEE, tra il 2019 e il 2023 è stata osservata una tendenza statisticamente significativa al ribasso per i chinoloni e per gli altri gruppi; e si è osservato un trend statisticamente crescente per altri antibatterici, dovuto principalmente a un aumento del consumo di polimixine.

Nel 2023, la percentuale di antibiotici prevalentemente ad ampio spettro consumati sul totale del consumo di antibatterici per uso sistemico nel settore ospedaliero è stata del 40,1%.

Gli scarsi progressi verso gli obiettivi dell'UE sul consumo di antimicrobici e il continuo aumento del consumo di antibiotici "ad ampio spettro", come riportato dall'OMS, evidenziano la necessità di intensificare gli sforzi per contrastare l'uso non necessario e inappropriato di antimicrobici a tutti i livelli dell'assistenza sanitaria nell'UE/SEE.

Come sottolineato nella raccomandazione del Consiglio sull'intensificazione delle azioni dell'UE per combattere la resistenza antimicrobica nell'ambito di un approccio "*One Health*", i piani d'azione nazionali dovrebbero includere elementi chiave per promuovere un uso prudente degli antimicrobici, compresi i programmi di gestione antimicrobica con buone pratiche diagnostiche e attività di prevenzione e controllo delle infezioni. La raccomandazione del Consiglio dell'UE sottolinea inoltre l'importanza della disponibilità tempestiva di dati standardizzati sul consumo di antimicrobici per il *benchmarking* e sulla resistenza antimicrobica per la definizione di linee guida cliniche.

Il 26 aprile 2023 la Commissione ha presentato al Consiglio, sulla base dell'articolo 168, paragrafo 6, TFUE (Trattato sul Funzionamento dell'Unione europea), la proposta di raccomandazione del Consiglio sul potenziamento delle azioni dell'UE per combattere la resistenza. La proposta comprende una serie di azioni intese a: rafforzare i piani d'azione nazionali contro la resistenza antimicrobica; potenziare la sorveglianza e il monitoraggio della resistenza antimicrobica e del consumo di antimicrobici; intensificare la prevenzione e il controllo delle infezioni nonché creare un insieme coordinato di interventi e strategie volto a ottimizzare l'uso degli antimicrobici e quindi l'uso prudente degli stessi; raccomandare obiettivi per il consumo di antimicrobici e la resistenza antimicrobica nella salute umana; migliorare la sensibilizzazione, l'istruzione e la formazione; promuovere la ricerca e lo sviluppo e gli incentivi per l'innovazione e l'accesso agli antimicrobici e ad altre contromisure mediche alla resistenza antimicrobica; aumentare la cooperazione e rafforzare le azioni globali. (ECDC, 2023).

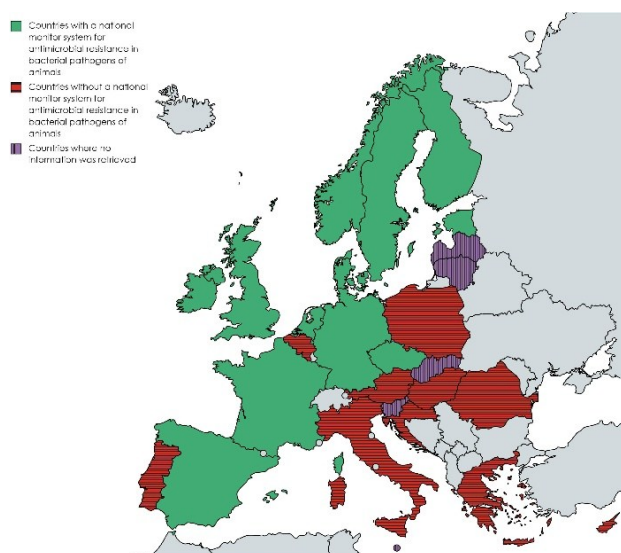


Immagine 1: [Frontiers | Review and Analysis of National Monitoring Systems for Antimicrobial Resistance in Animal Bacterial Pathogens in Europe: A Basis for the Development of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network in Veterinary Medicine \(EARS-Vet\)](#)

1.3 La situazione in Italia

La situazione italiana è critica sia per la diffusione dell'antibiotico-resistenza sia per il consumo degli antibiotici, rendendo pertanto urgenti le azioni di prevenzione e controllo. Il consumo di antibiotici in ambito umano continua a essere superiore alla media europea, con una grande variabilità tra le regioni e valori che nel 2023 superano quelli pre-pandemici. Nelle mappe europee relative alla distribuzione dei batteri resistenti in Europa, l'Italia detiene, insieme alla Grecia, il primato per diffusione di batteri resistenti (**Immagine 3**).

Coerentemente con gli obiettivi previsti dal Piano d'Azione Globale “*One Health*” dell'OMS, nel 2017 in Italia è stato istituito un Gruppo Tecnico di Coordinamento con il compito di vigilare sull'attuazione degli obiettivi previsti dal Piano Nazionale di Contrasto dell'Antimicrobico Resistenza (PNCAR). Dopo quello relativo al periodo 2017-2020, poi prorogato al 2021, è entrato in vigore il nuovo PNCAR 2022-2025 (**Immagine 2**).

Il nuovo PNCAR, pur in continuità con il precedente, relativo al periodo 2017-2020 poi prorogato al 2021, mostra diverse novità.

Il gruppo Tecnico che lo ha elaborato ha messo in primo piano l'approccio multidisciplinare e la visione One Health. Un ruolo centrale è stato affidato alla cabina di regia che dovrà assicurare il raggiungimento dei risultati attraverso una governance inclusiva e integrata. Il nuovo documento fornisce le linee strategiche e le indicazioni operative per affrontare il problema dell'Antibiotico-Resistenza (AR) nei prossimi anni e si articola in quattro aree orizzontali e tre pilastri verticali.

Le quattro aree orizzontali per il supporto alle diverse attività previste dal PNCAR sono:

- formazione
- informazione, comunicazione e trasparenza

- ricerca, innovazione e bioetica

- cooperazione nazionale ed internazionale

I tre pilastri verticali necessari per il contrasto dell'AR sono:

1) sorveglianza e monitoraggio integrato dell'AR, dell'utilizzo di antibiotici, delle infezioni correlate all'assistenza (ICA) e monitoraggio ambientale;

2) prevenzione delle ICA in ambito ospedaliero e comunitario e delle malattie infettive e zoonosi;

3) uso appropriato degli antibiotici sia in ambito umano che veterinario e corretta gestione e smaltimento degli antibiotici e dei materiali contaminati.

Oltre ad una maggiore integrazione fra il settore umano, veterinario ed ambientale in chiave *One Health*, il nuovo PNCAR propone altre interessanti novità. Tra queste è utile ricordare: l'estensione delle sorveglianze già esistenti; il potenziamento delle attività per la prevenzione delle ICA; il coordinamento delle attività specifiche con quelle previste negli altri Piani Nazionali (es. Piano Nazionale di Prevenzione Vaccinale); lo sviluppo di strumenti per favorire l'uso prudente degli antibiotici sia in ambito umano che veterinario e una maggiore attenzione agli aspetti bioetici, alla trasparenza e alla comunicazione per favorire la partecipazione attiva di tutti i cittadini.

Il PNCAR sottolinea l'importanza della sorveglianza del consumo di antibiotici, come strumento per promuovere il loro impiego appropriato, sia in ambito umano che veterinario, e per contrastare la selezione e la diffusione di microrganismi resistenti. La prima azione definita nel capitolo della "Sorveglianza del Consumo degli Antibiotici" è la pubblicazione di un rapporto annuale sull'utilizzo di antibiotici che, in un'ottica *One Health*, fornisca dati di consumo sia in ambito umano che veterinario e li metta in correlazione con i dati della resistenza agli antimicrobici degli organismi patogeni rilevati negli animali, nell'uomo ma anche negli alimenti. Al fine di fornire

informazioni sempre più dettagliate che consentano di misurare l'uso appropriato degli antibiotici, il nuovo PNCAR prevede la promozione dell'interoperabilità/integrazione dei diversi flussi informativi disponibili e dei nuovi flussi che si renderanno disponibili sia in ambito umano (livello territoriale e ospedaliero) che in ambito veterinario. Inoltre, avendo individuato gli obiettivi a cui tendere nel periodo di durata del Piano, e considerando che molte Regioni dispongono di software propri e che vi sono strumenti messi a disposizione a livello nazionale viene posta, come azione a livello regionale, l'ottimizzazione dell'uso degli strumenti di monitoraggio, prevedendo che tutte le Regioni ne facciano uso per la misurazione dell'appropriatezza d'uso, della riduzione dei consumi e per l'individuazione delle azioni necessarie in ambito locale.



Immagine 2: Schema del PNCAR 2022-2025. Rappresentazione delle aree chiave di intervento contro l'antibiotico-resistenza in ambito medico, veterinario e preventivo.

Considerando che l'utilizzo inappropriato di antibiotici risulta ancora elevato rispetto alla media dei paesi europei, nel nuovo PNCAR viene fornito un ampio set di indicatori per gli ambiti umano e veterinario. In ambito umano, agli indicatori per la popolazione generale nei setting territoriale e ospedaliero sono stati affiancati indicatori per la popolazione pediatrica con specifici target di risultato. Inoltre, al fine di misurare in maniera più specifica l'uso inappropriato degli antibiotici, sono stati definiti obiettivi di carattere qualitativo delle prescrizioni, valutati sulla base di indicatori

riconosciuti a livello internazionale che considerano la tipologia degli antibiotici prescritti e il loro impatto sulle resistenze.

In ambito ospedaliero, è stato riconfermato l'obiettivo di riduzione di un valore maggiore del 5% il consumo degli antibiotici e tra le categorie di antibiotici poste sotto monitoraggio, sono stati inclusi i carbapenemi, in considerazione dell'andamento crescente dei consumi di queste classi di antibiotici negli ultimi anni e il loro impatto diretto e determinante sull'insorgenza delle resistenze.

Nel 2023 il consumo complessivo, pubblico e privato, di antibiotici per uso sistemico in Italia è stato pari a 22,4 DDD/1000 abitanti die, in aumento del 5,4% rispetto al 2022 e al di sopra del valore registrato nel 2019 (21,6 DDD/1000 abitanti die). A questo si aggiunge il consumo di antibiotici per uso non sistemico, pari a 28,0 DDD/1000 abitanti die.

Gli antibiotici sistemici hanno rappresentato, con 985,3 milioni di euro, il 3,5% della spesa e l'1,4% dei consumi totali a carico del SSN (Rapporto OsMed 2023).

Il 76% delle dosi, pari a 17,1 DDD/1000 abitanti die, è stato erogato dal Servizio Sanitario Nazionale (SSN), con un aumento del 6,2% rispetto al 2022. Questo dato comprende sia gli antibiotici erogati in regime di assistenza convenzionata (dalle farmacie pubbliche e private) sia quelli acquistati dalle strutture sanitarie pubbliche, che rappresentano una parte minoritaria del consumo a carico del SSN (1,8 DDD/1000 abitanti die), sebbene il loro monitoraggio sia di grande importanza per il controllo dell'antibiotico-resistenza in ospedale. La spesa pro capite SSN (13,9 euro) è in aumento del 5,6% rispetto all'anno precedente.

Secondo quanto raccomandato dall'OMS, la percentuale di antibiotici appartenenti alla categoria Access (di prima scelta per il trattamento di molte infezioni comuni, con spettro relativamente ristretto, con minor rischio di resistenza antibiotica rispetto ad altri gruppi e generalmente sicuri, efficaci ed a basso costo) usati a livello nazionale dovrebbe essere maggiore del 60%, mentre in base alla recente Raccomandazione del Consiglio dell'Unione Europea, che mira a potenziare le

azioni dell'Unione per il contrasto alle resistenze antimicrobiche in un'ottica “*One Health*”, il target, da raggiungere entro il 2030, dovrebbe essere pari al 65% (Consiglio dell'UE, 2023).

Sono state considerate cinque combinazioni patogeno/antibiotico per valutare la correlazione tra i consumi di alcune classi di antibiotici che rientrano nella categoria *Watch* di *AWaRe* (*A – Access, Wa – Watch, Re – Reserve*) e le percentuali di resistenza di tre specie batteriche centrali in patologia umana. I risultati relativi ai dati del 2023 mostrano una correlazione positiva statisticamente significativa tra consumi e resistenze (le regioni che consumano più antibiotici hanno percentuali di resistenza più elevate).

Anche nel 2023 si conferma l'ampia variabilità regionale, caratterizzata da consumi più elevati al Sud (18,9 DDD) rispetto al Nord (12,4 DDD) e al Centro (16,4 DDD), con incrementi eterogenei che vanno da un +2,3% delle regioni del Sud a un +9,7% di quelle del Nord (*Andrea Maugeri, et al, 2023*).

Gli incrementi più elevati sono stati osservati a Bolzano (+16,1%), in Friuli-Venezia Giulia (+15,2%) e in Valle d'Aosta (+14,4%), ambiti che registrano comunque consumi al di sotto della media nazionale. Al contrario, la Campania che ha i consumi più elevati è l'unica regione a mostrare una riduzione (-2,7%). I maggiori incrementi per la spesa, rispetto al 2022, sono stati osservati in Molise (+17,0%).

L'analisi del profilo di utilizzo dei farmaci per fascia di età e sesso ha confermato una maggiore prevalenza d'uso di antibiotici nelle fasce estreme, con un livello più elevato nei primi quattro anni di vita (tra 0 e 4 anni: 49,4% per i maschi e 46,6% per le femmine) e nella popolazione con età uguale o superiore agli 85 anni (59,6% negli uomini e 55,4% nelle donne). Si riscontra anche un più frequente utilizzo di antibiotici per le femmine nelle fasce d'età intermedie e per i maschi in quelle estreme.

Confrontando il 2023 con il 2022, si registra in tutte le aree geografiche un forte incremento dei consumi sia in termini di numero di confezioni che di prevalenza d'uso.

Le analisi effettuate dall'*European Surveillance of Antimicrobial Consumption Network* (ESAC) mostrano che in Italia, nel 2023, il consumo complessivo di antibiotici a livello territoriale (erogazione a carico del SSN e acquisti a carico dei cittadini) è stato di 21,2 DDD/1000 abitanti die, collocandosi al settimo posto tra i Paesi a maggior utilizzo di antibiotici con livelli superiori alla media europea (18,3 DDD/1000 abitanti die). Relativamente al settore ospedaliero, l'Italia si colloca al sesto posto tra i paesi a maggior consumo con 1,90 DDD per 1000 abitanti die. Tale valore risulta superiore del 18% alla media UE/SEE (1,61 DDD) e in aumento del 5,0% rispetto all'anno precedente. L'Italia è anche tra i Paesi europei con il consumo più basso di antibiotici del gruppo Access sia a livello territoriale che ospedaliero. In ambito territoriale solo il 52% dei consumi territoriali è riferibile ad antibiotici del gruppo Access. Tale percentuale, pur in aumento rispetto al 2022, è sensibilmente inferiore alla media europea, pari al 63%. Per il setting ospedaliero, solo il 38,1% dei consumi è riferibile ad antibiotici del gruppo Access in confronto ad una media europea del 46%. Questi risultati collocano l'Italia tra i paesi a più elevato utilizzo di molecole Watch e Reserve, maggiormente impattanti sulla diffusione delle resistenze antibiotiche, insieme a Spagna, Romania, Grecia e Bulgaria. (AIFA, 2023).

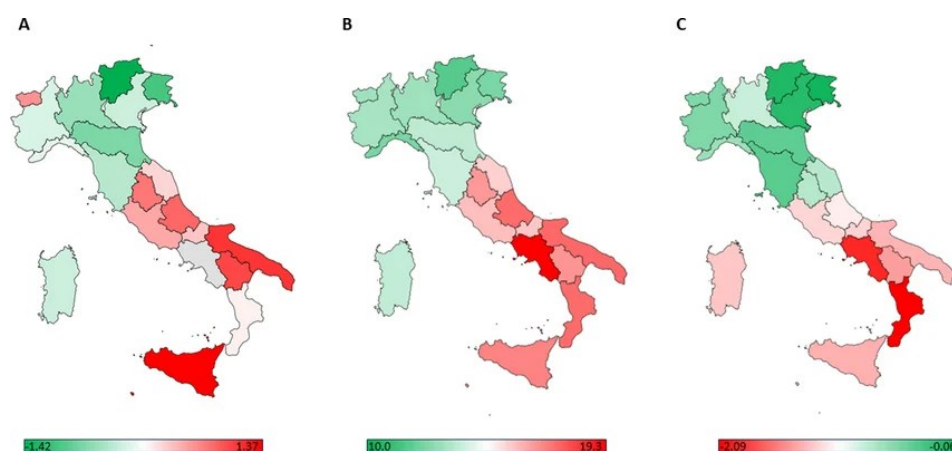


Immagine 3: Geographical distribution of antimicrobial resistance (AMR), antibiotic consumption, and the European Quality of Government Index (EQI) across Italian regions in 2021.

2. Materiali e metodi

2.1 Disegno dello Studio e Approccio *One Health*

Il presente studio si inserisce nel contesto dell'approccio *One Health*, una prospettiva che riconosce l'interdipendenza profonda tra salute umana, animale e ambientale. L'obiettivo è stato quello di analizzare la diffusione e l'impatto dell'antibiotico-resistenza (AMR), provando a mettere in luce punti di contatto e differenze tra tre mondi solo in apparenza distanti: la salute umana, quella degli animali da compagnia e quella degli animali da reddito. Il presupposto teorico era quello di superare una visione a compartimenti stagni, cercando invece di cogliere le dinamiche di circolazione batterica che, inevitabilmente, legano questi ambiti.

Al fine di perseguire tali obiettivi, è stato strutturato un disegno di ricerca multicentrico e multidisciplinare, volto a integrare strumenti e prospettive analitiche differenti.

Il fulcro dell'indagine è costituito dalla valutazione comparativa dei profili di sensibilità e resistenza antimicrobica, esaminati attraverso tre casi clinici concreti, assunti come modelli rappresentativi delle dinamiche di circolazione batterica nei rispettivi contesti. Per il caso umano e per quello relativo agli animali d'affezione, il lavoro si è articolato in una meticolosa raccolta e rielaborazione del materiale clinico e microbiologico d'archivio, finalizzata all'identificazione di specifici pattern e criticità emergenti.

Il comparto zootecnico ha richiesto, invece, un approccio di matrice operativa. In questo ambito, all'analisi di un focolaio clinico di campo sostenuto da *Salmonella* spp., è stata associata un'attività sperimentale in vitro condotta su un ceppo di *Salmonella* Dublin.

Il percorso sperimentale è stato sviluppato con rigore metodologico: tutte le procedure analitiche, dalla fase pre-analitica fino all'interpretazione finale dei risultati, sono state eseguite in stretta

conformità con gli standard dettati dalla normativa europea di riferimento, la UNI EN ISO 6579-1:2017, che disciplina i metodi orizzontali per la ricerca di *Salmonella*.

2.2 Caso clinico umano

Il caso clinico in esame riguarda un soggetto che sviluppa un'infezione batterica da *Klebsiella pneumoniae* ssp. (**Immagine 4**) in seguito ad un periodo di degenza presso una struttura dedicata alla fisioterapia. (Ashurst JV et al., 2023).

Klebsiella pneumoniae è un batterio Gram- negativo, appartenente alla famiglia delle *Enterobacteriaceae*, incapsulato e immobile (**Immagine 5**). La virulenza del batterio è dovuta a diversi fattori, tra cui la capsula polisaccaridica che risulta essere il fattore di virulenza più importante; un secondo fattore è rappresentato dai lipopolisaccaridi che rivestono la superficie esterna; un ulteriore fattore corrisponde alle fimbrie che permettono all'organismo di aderire alle cellule dell'ospite.

Klebsiella pneumoniae è uno dei principali batteri che attualmente presentano un elevato tasso di resistenza agli antibiotici a causa di specifiche alterazioni nel genoma.

Gli esseri umano rappresentano il principale serbatoio mentre i principali veicoli di infezione sono riconducibili al tratto gastrointestinale del paziente e alle mani del personale ospedaliero.

La diagnosi è stata effettuata mediante urinocoltura, da cui è stato isolato il ceppo batterico oggetto di studio.

Isolato il ceppo di *Klebsiella* spp., è stato effettuato un antibiogramma, al fine di caratterizzare il *pattern* di resistenza e guidare una terapia mirata.

Antibiotico	R/S	MIC
Ampicillina	R	>8
Amikacina	R	16
Amoxicillina/ Clavulanato	R	>32/ 2
Ceftazidime	R	>8
Ciprofloxacina	R	>1
Colistina	S	0.25
Ceftriaxone	R	>4
Cefuroxime	R	>8
Ceftazidime/ Avibactam	R	>8/4
Ertapenem	R	>1
Cefepime	R	>8
Gentamicina	S	2
Imipenem	R	>8
Levofloxacina	R	>2
Meropenem	R	>8
Trimetoprim/ Sulfametossazolo	R	>4/76
Ticarcillina	R	>32
Piperacillina	R	>16/4

Tabella 1. Profilo di suscettibilità antimicrobica del ceppo di *Klebsiella pneumoniae* isolato da urinocoltura nel caso clinico umano.

L'antibiogramma (**Tab. 1**) ha evidenziato sensibilità esclusivamente a due molecole di antibiotici, ovvero Colistina e Gentamicina. Questo pattern di sensibilità indica un profilo di multiresistenza di particolare rilevanza clinica. La resistenza osservata nei confronti di ben sedici dei diciotto principi attivi testati, appartenenti a classi antibiotiche diverse configura un quadro di multiresistenza estesa che riduce drasticamente le opzioni terapeutiche disponibili per il paziente.



Immagine 4: batterio di *Klebsiella pneumoniae*

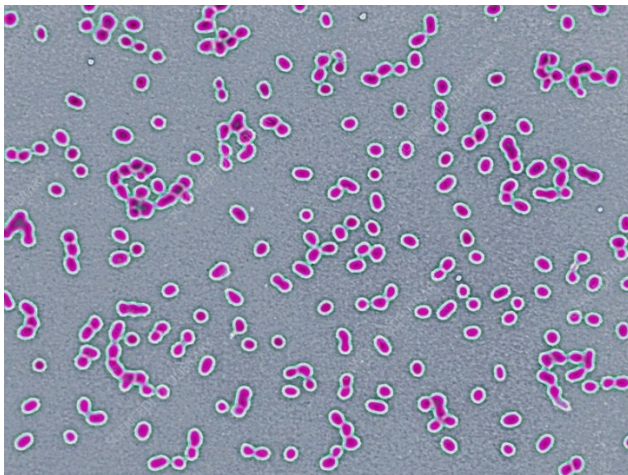


Immagine 5: Microfotografia colorata di *Klebsiella pneumoniae*, batterio Gram-negativo incapsulato a forma di bastoncino.

Klebsiella pneumoniae rappresenta, ad oggi una, delle più temibili minacce delle infezioni nosocomiali: un patogeno opportunisto capace di colpire i pazienti più fragili, alimentare focolai ospedalieri e determinare elevati tassi di mortalità, soprattutto quando associato a ceppi multidrug-resistenti e carbapenem-resistenti.

2.3 Caso clinico pet (animale da compagnia)

Il caso clinico riferibile ad un animale da compagnia è stato rappresentato dal caso riferito ad un felino domestico. Il paziente è un gatto di genere maschile, castrato, dell'età di dieci anni con infezione ricorrenti a carico delle vie urinarie recidivante.

Il soggetto è stato sottoposto ad un intervento chirurgico di uretrostomia a causa di una sindrome ostruttiva delle basse vie urinarie. A seguito della chirurgia è andato incontro, nel tempo, ad episodi di cateterismo e a ripetuti cicli di terapia antibiotica empirica (senza verificarne il *pattern* di sensibilità). Il caso clinico ha sviluppato un'infezione batterica da *Enterococcus faecalis* (**Immagine 6**).

Enterococcus faecalis è un patogeno opportunisto Gram- positivo associato a diverse infezioni, tra cui batteriemia, endocardite, peritonite e infezioni del tratto urinario associate a catetere. *E. faecalis* è un organismo commensale del tratto gastrointestinale, la capacità di aderire efficacemente a superfici biotiche e abiotiche e di formare biofilm si è dimostrata fondamentale per l'instaurarsi di infezioni nell'ospite. *E. faecalis* mostra anche un notevole grado di resistenza agli antibiotici disponibili. È importante sottolineare che *E. faecalis* è altamente efficiente nella diffusione della resistenza agli antibiotici sia all'interno della stessa specie che tra specie diverse, il che gli ha permesso di emergere tra i patogeni batterici multiresistenti più all'avanguardia (Dhrumi S. et al, 2024).

Una volta isolato il ceppo di *Enterococcus faecalis* a partire da un campionamento effettuato per cistocentesi, è stato effettuato un antibiogramma, al fine di caratterizzare il *pattern* di resistenza e guidare la terapia mirata.

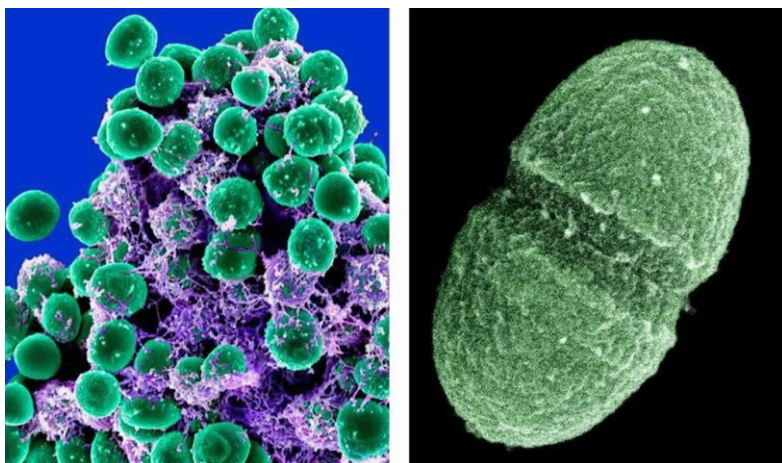


Immagine 6: *Enterococcus faecalis*

Antibiotico	R/S	MIC
Benzylpenicillin	S	8.0
Enrofloxacin	R	≥ 4.0
Marbofloxacin	R	≥ 4.0
Erythromycin	R	≥ 8.0
Doxycycline	R	≥ 16.0
Tetracycline	R	≥ 16.0
Nitrofurantoin	S	≤ 16.0
Chloramphenicol	R	≤ 64.0

Tabella 2. Profilo di suscettibilità antimicrobica del ceppo di *Enterococcus faecalis* isolato da campione di urine nel caso clinico felino.

L'antibiogramma (**Tab. 2**) ha evidenziato sensibilità esclusivamente a due molecole di antibiotici, ovvero Benzilpenicillina e Nitrofurantoina. Questo profilo di sensibilità indica una multiresistenza di notevole importanza clinica. Il ceppo è risultato resistente a sei degli otto principi attivi testati, appartenenti a classi antibiotiche differenti quali fluorochinoloni (Enrofloxacina, Marbofloxacina), macrolidi (Eritromicina), tetraciline (Doxiciclina, Tetraciclina) e cloramfenicoli (Cloramfenicolo). Questo *pattern* di resistenza è coerente con la complessa storia clinica del paziente, caratterizzata da ripetuti episodi di cateterismo e da numerosi cicli di terapia antibiotica. L'esposizione prolungata e sequenziale a diversi principi attivi ha esercitato una pressione selettiva

crescente sulla flora batterica delle vie urinarie, favorendo l'emergere e il consolidamento di un ceppo di *Enterococcus faecalis* multiresistente. Gli enterococchi, notoriamente dotati di una spiccata capacità di acquisire e diffondere geni di resistenza attraverso meccanismi di trasferimento orizzontale quali coniugazione e trasposizione, rappresentano un genere particolarmente insidioso in contesti di esposizione antibiotica ripetuta. La sensibilità alla Benzilpenicillina e alla Nitrofurantoina, un chemioterapico urinario ad azione prevalentemente locale, offre comunque un margine terapeutico. Questo caso sottolinea l'importanza di un approccio diagnostico razionale in medicina veterinaria, che preveda l'esecuzione dell'antibiogramma prima di iniziare una terapia antibiotica, al fine di evitare il fallimento terapeutico, ridurre i tempi di malattia e, non meno importante, limitare la selezione e la diffusione di ceppi multiresistenti. La rilevanza clinica di tale evenienza non si esaurisce nell'ambito della salute del singolo animale, ma si estende anche alla salute pubblica, in quanto gli animali da compagnia, condividendo stretto contatto con i proprietari, possono fungere da serbatoi e veicoli di batteri resistenti, con potenziali implicazioni trasmissive per i soggetti umani in piena coerenza con i principi dell'approccio *One Health*. Da innocuo commensale dell'intestino a sentinella della crisi globale dell'antimicrobico-resistenza, *Enterococcus faecalis* rappresenta una minaccia emergente per la salute umana, animale e ambientale: protagonista di infezioni nosocomiali nei soggetti più fragili, è associato a batteriemie gravate da elevata mortalità e testimonia quanto la salute dell'uomo sia indissolubilmente legata a quella degli ecosistemi.

2.4 Caso clinico animale da reddito

Il comparto zootecnico rappresenta un anello fondamentale nella catena di trasmissione dell'antibiotico-resistenza, sia per il consumo di antibiotici negli allevamenti intensivi, sia per il ruolo degli animali da reddito come serbatoi di batteri zoonosici potenzialmente multiresistenti. Tra questi, *Salmonella* spp. (**Immagine 7**) riveste un'importanza primaria in termini di salute pubblica, essendo uno dei patogeni più frequentemente implicati in focolai di tossinfezione alimentare.

Il presente caso clinico trae origine da un campione fecale di vitello, in cui è stata rilevata la presenza di *Salmonella* spp. in forma setticemica. Il vitello, di circa tre mesi di età, proveniva da un allevamento situato nel Nord Italia e presentava una sintomatologia clinica compatibile con salmonellosi.

Salmonella spp. è un batterio intestinale responsabile di gravi intossicazioni alimentari, Gram-negativo, asporigeno e anaerobio facoltativo, presenta un flagello peritrico che lo rende mobile, produce sia endotossine che esotossine. La salmonellosi è una delle principali zoonosi per la salute pubblica mondiale visto il suo carattere endemico e la difficoltà nell'adozione di terapie adeguate (Shinohara NKS et al, 2008).

Una volta isolato e identificato il ceppo di *Salmonella* spp., è stato effettuato un opportuno antibiogramma. I risultati dell'antibiogramma sono riportati nella **Tabella 3**.

Antibiotico	R/S	MIC
Amminosidina	R	>32
Amoxicillina	S	= 4.0
Ampicillina	R	>32
Cefazolina	N.V.	= 2
Cefotaxime	N.V.	<= 0,5
Colistina	R	= 4
Enrofloxacin	S	0.0625
Florfenicolo	R	>64
Flumequina	S	>= 1
Gentamicina	N.V.	=1
Kanamicina	R	>32
Sulfisoxazolo	R	>512
Trimetopirina + Sulfonamidi	R	>16

Tabella 3. Profilo di suscettibilità antimicrobica del ceppo di *Salmonella* spp. isolato da campione fecale di vitello.

L'antibiogramma ha evidenziato sensibilità a tre molecole di antibiotici (Amoxicillina, Enrofloxacin, Flumequina) e resistenza a sette molecole (Amminosidina, Ampicillina, Colistina, Florfenicolo, Kanamicina, Sulfisoxazolo, Trimetoprim/Sulfonamidi). Questo profilo di sensibilità suggerisce una multiresistenza di significativa rilevanza clinica e soprattutto zoonosica. La resistenza osservata coinvolge classi antibiotiche di uso comune sia in medicina veterinaria che umana, quali penicilline (Ampicillina), aminoglicosidi (Amminosidina, Kanamicina), polimixine (Colistina), fenicoli (Florfenicolo) e sulfamidici. La resistenza all'Ampicillina, alla Kanamicina e all'associazione Trimetoprim/Sulfonamidi riflette la diffusione di geni di resistenza che circolano orizzontalmente tra diverse specie batteriche. Di particolare gravità è la resistenza alla Colistina,

un antibiotico considerato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) come uno dei farmaci di "ultima risorsa" per il trattamento di infezioni gravi da batteri Gram-negativi multiresistenti in medicina umana. La presenza di resistenza a questo principio attivo in un ceppo di origine animale rappresenta un segnale d'allarme di estrema rilevanza, in quanto potrebbe essere mediata da geni di resistenza trasferibili capaci di diffondere orizzontalmente la resistenza ad altri batteri, inclusi quelli patogeni per l'uomo, attraverso la catena alimentare o per via ambientale. La resistenza al Florfenicolo, un antibiotico di uso esclusivamente veterinario, e all'Amminosidina completa un quadro di multiresistenza che limita significativamente le opzioni terapeutiche in ambito veterinario, rendendo difficoltoso il controllo clinico dell'infezione nel singolo animale e aumentando il rischio di cronicizzazione e di escrezione prolungata del patogeno nell'ambiente. In un'ottica *One Health*, il caso in esame evidenzia come gli allevamenti intensivi possano costituire un importante serbatoio di geni di resistenza antimicrobica potenzialmente diffondibili all'uomo, sottolineando l'urgenza di implementare strategie di sorveglianza integrate lungo tutta la filiera alimentare ma anche di promuovere un uso razionale e responsabile degli antibiotici in zootecnia e di sviluppare alternative sostenibili per la prevenzione e il controllo delle malattie infettive negli animali da reddito.



Immagine 7: *Salmonella spp.*

3. Risultati

3.1 Isolamento e identificazione di *Salmonella Dublin*

Il caso clinico inerente all'animale da reddito è stato segnalato da un medico veterinario, che ha isolato da un campione fecale di vitello un ceppo di *Salmonella* spp., il cui profilo di resistenza è riportato nella **Tabella 3**. Parallelamente, al fine di approfondire le indagini diagnostiche e caratterizzare ulteriormente il profilo di suscettibilità antimicrobica di un agente patogeno di particolare rilevanza zoonosica, è stato utilizzato un ceppo di *Salmonella Dublin* di riferimento, fornito dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale, distinto da quello clinico, ma rappresentativo del genere *Salmonella*.

La *Salmonella enterica* sierotipo *Dublin* rappresenta un paradigma della sfida *One Health*: un patogeno zoonotico che attraversa il continuum animale-uomo-ambiente e che, nei soggetti più fragili, può trasformarsi da infezione alimentare a malattia invasiva gravata da elevata mortalità, ponendo una minaccia silenziosa alla salute pubblica globale.

La fase di isolamento e identificazione del ceppo di *Salmonella Dublin* è stata condotta seguendo le linee guida della norma UNI EN ISO 6579-1:2017, al fine di garantire la riproducibilità e l'affidabilità dei risultati. Questo protocollo standardizzato prevede un percorso diagnostico in più fasi.

Successivamente, i campioni sono stati sottoposti a un processo di arricchimento secondario e quindi seminati su terreni agar selettivi e differenziali, questo consente di distinguere le colonie sospette di *Salmonella* per le loro caratteristiche morfologiche e biochimiche.

Le colonie così identificate sono state poi sottoposte a conferma biochimica mediante API20E, risultando corrispondere a *Salmonella Dublin*.

Al fine di caratterizzare il profilo di resistenza del ceppo isolato, sono stati condotti i test di suscettibilità antimicrobica descritti di seguito.

La procedura analitica, conforme al metodo orizzontale per la ricerca di *Salmonella Dublin*, si articola nelle seguenti fasi principali:

a) Pre-arricchimento non selettivo

Un'aliquota del campione (25 g) è stata prelevata e posta in una quantità 9 volte superiore di acqua peptonata tamponata, al fine di favorire il recupero e la moltiplicazione di eventuali cellule di *Salmonella*, consentendo loro di ripristinare il proprio stato metabolico. Il campione così preparato è stato incubato a 37 °C per 18 ore.

b) Arricchimento selettivo

Dalla brodocoltura di pre-arricchimento, sono state prelevate due aliquote per essere sottoposte ad arricchimento selettivo in due diversi brodi, al fine di inibire la crescita della flora microbiota competitiva e favorire la selezione di quella di *Salmonella Dublin*:

- 0,1 ml di coltura sono stati inoculati in 10 ml di brodo RVS (Rappaport Vassiliadis Soia) e incubati a 41,5 °C per 24 ore.
- 1 ml di coltura è stato inoculato in 10 ml di brodo MKTT (Mueller Kauffmann Tetratonato) e incubato a 37 °C per 24.

c) Semina su terreni agar selettivi e differenziali

Da ciascun brodo di arricchimento, dopo opportuna incubazione, è stata effettuata la semina per strisciamento su due piastre di agar selettivi e differenziali: XLD (*Xylose Lysine Deoxycholate*) (**Immagine 8**) Agar e BGA (*Brilliant Green Agar*) (**Immagine 9**). La semina è stata eseguita in sequenza, senza flambare l'ansa tra una piastra e la successiva, per evitare contaminazioni incrociate. Le piastre sono state quindi incubate a 37 °C per 24 ore.

Sui terreni XLD e BGA, le colonie di *Salmonella Dublin* presentano le seguenti caratteristiche morfologiche:

- Su XLD Agar: colonie rossastre con centro nero, dovuto alla produzione di H₂S.
- Su BGA: colonie rosa, circondate da un alone di terreno di colore rosso vivo.

d) Isolamento e purificazione

Da ciascuna piastra sono state selezionate più colonie tipiche. Le colonie selezionate sono state quindi seminate su agar nutritivo (TSA - *Tryptic Soy Agar*) e incubate a 37 °C per 24 ore, al fine di ottenere colture pure per le successive fasi di identificazione.

e) Conferma biochimica

Le colture pure ottenute sono state sottoposte a una serie di test biochimici per la conferma dell'appartenenza al genere *Salmonella*:

1. Agar TSI (*Triple-Sugar-Iron Agar*): il terreno, allestito in provetta "becco di clarino", è stato seminato per infissione fino a giungere al fondo del tappo di agar e striscio sulla superficie inclinata. Dopo incubazione a 37 °C per 24 ore, i ceppi di *Salmonella* mostrano uno *slant* alcalino (colore rosso) (**Immagine 10**).
2. Agar all'urea: il terreno è stato seminato sulla superficie inclinata e incubato a 37 °C per 24 ore. *Salmonella Dublin* è risultata ureasi-negativa (il terreno rimane invariato, di colore giallo/arancio), distinguendosi da altri enterobatteri urea-positivi, che virano al rosa/fucsia per l'alcalinizzazione del terreno (**Immagine 10**).
3. Terreno per lisina: il brodo, inoculato e sovrastato da uno strato di paraffina sterile per creare condizioni di anaerobiosi, è stato incubato a 37 °C per 24 ore.

Salmonella Dublin è risultata positiva alla decarbossilazione della lisina (il terreno vira al colore violaceo), a differenza di altri generi che determinano un viraggio al giallo (**Immagine 10**).

4. Test dell'ossidasi: eseguito utilizzando reattivo tetrametil-para-fenil-diammina su carta da Watman n. 2 impiegando un'ansa monouso in plastica (evitando anse metalliche che potrebbero interferire con la reazione). Il ceppo è risultato ossidasi-negativo (il reattivo è rimasto incolore), caratteristica compatibile con l'appartenenza alla famiglia delle *Enterobacteriaceae*.

f) Identificazione biochimica miniaturizzata

La conferma definitiva dell'identità di specie è stata ottenuta mediante l'utilizzo del sistema API 20E, che consente l'identificazione biochimica di enterobatteri e altri batteri Gram-negativi attraverso una batteria di test metabolici (**Immagine 11**).

Il principio del test risiede nella capacità di diversi ceppi batterici di utilizzare specifici substrati o di produrre determinati enzimi, generando variazioni di colore osservabili, spontaneamente o dopo l'aggiunta di reagenti specifici. La strip è costituita da 20 microprovette contenenti opportuni substrati disidratati.

Durante il procedimento una sospensione batterica pura viene inoculata in ciascuna provetta, idratando i substrati. Durante l'incubazione a 37 °C per 24 ore, le reazioni metaboliche positive o negative producono cambiamenti di colore.

Alcuni test richiedono l'aggiunta di reagenti dopo l'incubazione per essere letti, come il test del VP (Voges-Proskauer), dell'IND (produzione di indolo) e del TDA (triptofano deaminasi).

Per i test che richiedono condizioni di anaerobiosi (ADH, LDC, ODC, URE, H₂S), le microprovette vengono ricoperte con olio di paraffina sterile.

I 20 risultati vengono convertiti in un codice numerico a 7 cifre. Ogni gruppo di tre test riceve un valore di 1, 2 o 4. Successivamente, la somma dei valori positivi in ciascun gruppo forma una cifra del codice.

Questo codice viene poi confrontato con il database dell'API per ottenere l'identificazione definitiva del microrganismo.

Il profilo ottenuto è risultato corrispondere a *Salmonella Dublin* con una percentuale di identificazione del 98%.

Dopo questa prima fase, al fine di caratterizzare il profilo di resistenza del ceppo isolato, sono stati condotti i test di suscettibilità antimicrobica descritti nel paragrafo successivo.

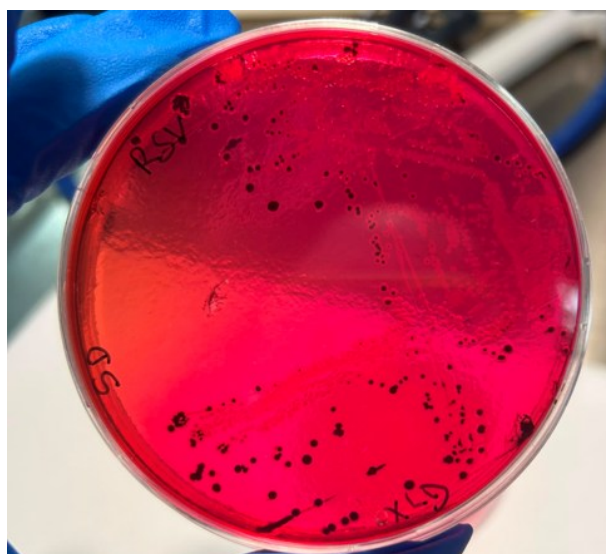


Immagine 8: Coltura di *Salmonella Dublin* su piastre di agar XLD (*Xylose Lysine Deoxycholate*)



Immagine 9: Coltura di *Salmonella Dublin* su piastre di agar BGA (*Brilliant Green Agar*)

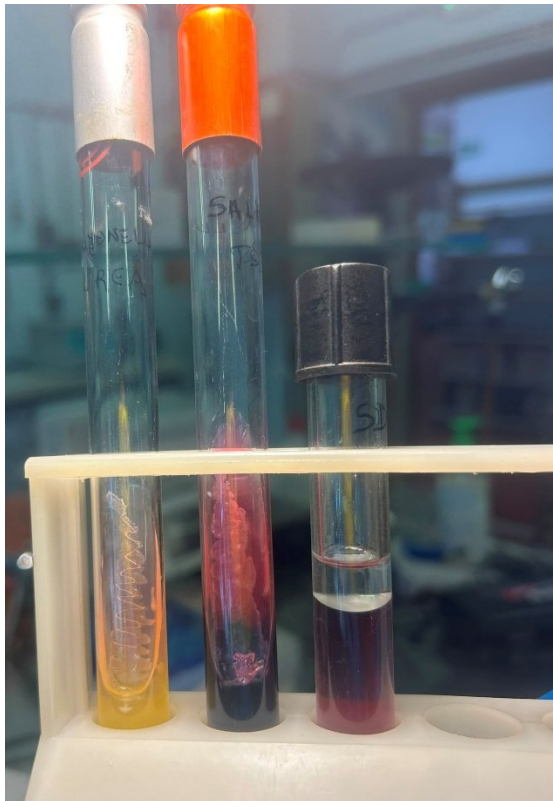


Immagine 10: test biochimici



Immagine 11: sistema API 20E

3.2 Test di suscettibilità antimicrobica

Dopo l'isolamento e l'identificazione del ceppo di *Salmonella Dublin*, è stata condotta la caratterizzazione del profilo di resistenza antimicrobica mediante l'esecuzione dell'antibiogramma.

Questo test, fondamentale per orientare una eventuale terapia mirata e per valutare il potenziale rischio zoonosico del ceppo isolato, è stato eseguito secondo il metodo standardizzato di diffusione in agar, noto come tecnica di Kirby-Bauer, in conformità con le linee guida del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) e del *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST).

Il saggio di sensibilità agli antibiotici mediante diffusione in agar si basa sul principio della diffusione dell'antibiotico in un terreno solido, dove il microorganismo in esame è stato preventivamente seminato. Un dischetto, contenente una concentrazione standardizzata di un determinato principio attivo, viene depositato sulla superficie del terreno inoculato.

Durante l'incubazione, l'antibiotico diffonde radialmente nel terreno, generando un gradiente di concentrazione che diminuisce all'aumentare della distanza dal dischetto. Contemporaneamente, il microorganismo si sviluppa sulla superficie del terreno, formando un tappeto batterico uniforme. Attorno al dischetto si forma una zona circolare priva di crescita batterica, definita alone di inibizione, il cui diametro, espresso in millimetri, è direttamente correlato alla suscettibilità del ceppo batterico all'antibiotico testato. Un alone di diametro maggiore indica una maggiore sensibilità del batterio all'antibiotico, mentre un alone di diametro ridotto o assente indica una minore sensibilità o una condizione di resistenza.

La procedura per l'esecuzione dell'antibiogramma secondo il metodo Kirby-Bauer (come tutto l'iter identificativo) è stata condotta presso il Laboratorio di Microbiologia Veterinaria del

Dipartimento di Scienze Medico-Veterinarie dell'Università degli Studi di Parma, seguendo le seguenti fasi operative:

1. Preparazione dell'inoculo batterico: il ceppo di *Salmonella* Dublin, precedentemente isolato e identificato in coltura pura, è stato inoculato in brodo Mueller Hinton (*Mueller Hinton Broth* - Oxoid) e incubato a 37°C in aerobiosi per 2 ore, fino al raggiungimento di una concentrazione batterica standardizzata, corrispondente approssimativamente a 0,5 della scala di McFarland (circa $1-2 \times 10^8$ UFC/ml).
2. Inoculo della piastra: utilizzando un tampone sterile, la sospensione batterica è stata uniformemente distribuita sulla superficie di una piastra di agar Mueller Hinton, effettuando strisciamenti in tre direzioni diverse per garantire una copertura completa e omogenea del terreno.
3. Applicazione dei dischetti: entro 15 minuti dall'inoculo, sulla superficie della piastra sono stati depositi e fissati dischetti di carta bibula, ciascuno impregnato con una concentrazione standardizzata di un determinato antibiotico. I dischetti sono stati posizionati a distanza sufficiente l'uno dall'altro per evitare sovrapposizioni degli aloni di inibizione.
4. Incubazione: le piastre sono state incubate in termostato a 37°C per 24 ore. È stata prestata particolare attenzione a non superare le 24 ore di incubazione, poiché prolungamenti oltre questo limite possono compromettere l'affidabilità dei risultati, rendendo i diametri degli aloni non interpretabili secondo i criteri standardizzati.
5. Lettura e misurazione: trascorso il periodo di incubazione, è stata misurata con un righello millimetrato l'estensione dell'alone di inibizione della crescita batterica attorno a ciascun dischetto. Il diametro dell'alone, espresso in millimetri, è stato registrato per ciascun antibiotico testato.

I diametri degli aloni di inibizione misurati sono stati interpretati secondo i criteri stabiliti dalle linee guida riconosciute a livello internazionale (CLSI ed EUCAST), che definiscono per ciascuna combinazione antibiotico/microrganismo specifici valori soglia (*breakpoint*) per la classificazione dei ceppi.

- Sensibile (S): il ceppo batterico viene inibito dalla concentrazione di antibiotico che si raggiunge nel sangue con il normale dosaggio terapeutico. La terapia con tale antibiotico è considerata efficace.
- Intermedio (I): il ceppo presenta una sensibilità ridotta all'antibiotico, che può risultare efficace solo a dosaggi più elevati o in sedi anatomiche dove l'antibiotico si concentra maggiormente. Questa categoria rappresenta una zona cuscinetto che previene errori di classificazione dovuti a piccole variazioni tecniche.
- Resistente (R): il ceppo non viene inibito dalle concentrazioni di antibiotico raggiungibili con il normale dosaggio terapeutico. La terapia con tale antibiotico non è considerata efficace.

4. Discussione

4.1 Analisi dei dati sul caso clinico umano

L'analisi dei dati raccolti dai tre casi clinici umano, animale da compagnia e animale da reddito è stata condotta con l'obiettivo di valutare comparativamente i profili di resistenza antimicrobica emersi e di discutere le implicazioni in chiave *One Health*.

Per ciascun caso, i risultati dell'antibiogramma sono stati interpretati secondo i criteri stabiliti dal *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) e dal *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST), che definiscono i *breakpoint* per la classificazione dei ceppi come Sensibili (S), Intermedi (I) o Resistenti (R) in base ai diametri degli aloni di inibizione misurati.

L'analisi dell'antibiogramma relativo al ceppo di *Klebsiella pneumoniae* isolato da urinocoltura ha evidenziato un profilo di multiresistenza estesa. Di particolare rilievo clinico è la resistenza ai carbapenemi, antibiotici considerati di ultima linea per il trattamento di infezioni da enterobatteri produttori di carbapenemasi, e la resistenza a Ceftazidime/Avibactam, una combinazione innovativa impiegata proprio per contrastare tali patogeni. Questo *pattern* di resistenza è compatibile con un ceppo produttore di carbapenemasi, che rappresenta una seria minaccia per la salute pubblica, limitando drasticamente le opzioni terapeutiche disponibili.

La comparsa di ceppi con questo profilo di resistenza in un contesto extra-ospedaliero, quale una struttura di fisioterapia, sottolinea la crescente diffusione di patogeni multiresistenti anche al di fuori degli ambienti ospedalieri tradizionalmente considerati ad alto rischio, rendendo urgente l'implementazione di programmi di sorveglianza e di gestione antimicrobica a tutti i livelli dell'assistenza sanitaria, in coerenza con gli obiettivi del Piano Nazionale di Contrasto dell'Antimicrobico Resistenza (PNCAR) e con l'approccio *One Health*.

4.2 Analisi dei dati sul caso clinico animale da compagnia

L'analisi dell'antibiogramma del ceppo di *Enterococcus faecalis* isolato da un campione di urine di un felino con infezione delle vie urinarie recidivante ha mostrato un profilo di sensibilità limitato a soli due antibiotici: Benzilpenicillina e Nitrofurantoina. Il ceppo è risultato resistente a Enrofloxacin, Marbofloxacin, Eritromicina, Doxyciclina, Tetraciclina e Cloramfenicolo. Il profilo di resistenza osservato è coerente con la storia clinica del paziente, che aveva ricevuto ripetuti cicli di terapia antibiotica empirica a seguito di episodi di cateterismo e uretrotomia. L'esposizione prolungata e ripetuta a diversi principi attivi ha verosimilmente favorito la selezione di un ceppo multiresistente, sottolineando l'importanza di una corretta diagnosi e di un approccio terapeutico mirato, basato sull'antibiogramma, per evitare il fallimento terapeutico e la diffusione di resistenze.

Gli enterococchi, notoriamente dotati di una spiccata capacità di acquisire e diffondere geni di resistenza attraverso meccanismi di trasferimento orizzontale quali coniugazione e trasposizione, rappresentano un genere particolarmente insidioso in contesti di esposizione antibiotica ripetuta. La sensibilità alla Benzilpenicillina e alla Nitrofurantoina offre comunque un margine terapeutico, ma il caso sottolinea l'importanza di un approccio diagnostico razionale che preveda l'esecuzione dell'antibiogramma prima di iniziare una terapia antibiotica. La rilevanza clinica di tale evenienza non si esaurisce nell'ambito della salute del singolo animale, ma si estende alla salute pubblica: gli animali da compagnia, condividendo stretto contatto con i proprietari, possono fungere da serbatoi e veicoli di batteri resistenti.

4.3 Analisi dei dati sul caso clinico animale da reddito

L'antibiogramma eseguito sul ceppo di *Salmonella* spp. isolato dal campione fecale di vitello ha evidenziato un profilo di multiresistenza. Ha mostrato di sensibilità alle seguenti molecole: Amoxicillina, Enrofloxacin e Flumequina. Il ceppo risulta resistente alle seguenti molecole:

Amminosidina, Ampicillina, Colistina, Florfenicolo, Kanamicina, Sulfisoxazolo e Trimetoprim/Sulfonamidi.

Il profilo di resistenza osservato riveste particolare interesse sotto diversi aspetti: la resistenza all'Ampicillina, alla Kanamicina e al Sulfisoxazolo/Trimetoprim è un fenomeno frequentemente riportato in ceppi di *Salmonella* di origine animale e riflette l'uso esteso di questi antibiotici in ambito zootecnico, sia per finalità terapeutiche che, in passato, come promotori di crescita.

Di particolare rilevanza è la resistenza alla Colistina. La Colistina è considerata un antibiotico di "ultima risorsa" per il trattamento di infezioni da batteri Gram-negativi multiresistenti in medicina umana. La presenza di resistenza a questo principio attivo in un ceppo di origine animale rappresenta un segnale d'allarme, in quanto potrebbe essere mediata da geni di resistenza trasferibili, capaci di diffondere orizzontalmente la resistenza ad altri batteri, inclusi quelli patogeni per l'uomo. La resistenza al Florfenicolo, un antibiotico di uso esclusivamente veterinario, e all'Amminosidina, completa un quadro di multiresistenza che limita le opzioni terapeutiche in ambito veterinario.

La sensibilità ai fluorochinoloni, sebbene positiva dal punto di vista clinico, deve essere interpretata con cautela, in quanto la facilità con cui i batteri Gram-negativi sviluppano resistenza a questa classe di antibiotici rende necessario un monitoraggio costante e un uso prudente.

4.4 Analisi dei dati sul sierotipo *Salmonella* Dublin

La caratterizzazione del ceppo di *Salmonella* Dublin isolato ha previsto, oltre all'antibiogramma, l'identificazione di specie. Come descritto nel paragrafo 3.1, l'isolamento e l'identificazione sono stati condotti in conformità alla norma UNI EN ISO 6579-1:2017.

La *Salmonella* Dublin rappresenta un sierotipo di particolare rilevanza in sanità pubblica e veterinaria per diverse ragioni. A differenza di altri sierotipi di *Salmonella*, che tipicamente causano gastroenterite autolimitante nell'uomo, *Salmonella* Dublin è un patogeno adattato ai bovini e caratterizzato da una spiccata invasività. Nell'uomo, le infezioni da *Salmonella* Dublin

sono relativamente rare ma particolarmente severe, con un tasso di batteriemia che può raggiungere il 50-80% dei casi, superiore a quello osservato per altri sierotipi. La forma setticemica può determinare gravi complicanze, come endocardite, ascessi epatici, osteomielite e meningite, specialmente in soggetti immunocompromessi, anziani o bambini. La trasmissione all'uomo avviene tipicamente per via alimentare, attraverso il consumo di latte non pastorizzato o di carne bovina contaminata, ma anche per contatto diretto con animali infetti.

La caratterizzazione del ceppo di *Salmonella Dublin*, fornito dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale e utilizzato per le indagini diagnostiche, ha previsto, oltre all'identificazione di specie, l'esecuzione dell'antibiogramma con il metodo Kirby-Bauer.

Come descritto nel paragrafo 3.1, l'isolamento e l'identificazione sono stati condotti in conformità alla norma UNI EN ISO 6579-1:2017. È importante sottolineare che questo ceppo, sebbene diverso da quello clinico isolato dal vitello, è rappresentativo del sierotipo *Dublin* e consente di valutare il comportamento di un agente patogeno particolarmente rilevante in ambito zoonosico.

L'antibiogramma eseguito sul ceppo di *Salmonella Dublin* ha evidenziato un profilo di resistenza caratterizzato dalla sensibilità a numerose molecole testate e dalla resistenza ad alcune classi antibiotiche di particolare rilevanza clinica. I diametri degli aloni di inibizione misurati e la conseguente classificazione secondo i criteri CLSI sono riportati di seguito (**Immagine 12**):

Antibiotico	Sigla	Diametro alone	R/I/S
Acido Fusidico	FD 10 µg	-	R
Acido nalidixico	NA 30µg	18	I
Amoxicillina	AML 10µg	8	R
Amox + Ac. clav	AMC 30µg (20µg+ 10 µg)	12	R

Antibiotico	Sigla	Diametro alone	R/I/S
Ampicillina	AMP 10 µg	11	R
Aztreonam	ATM 30 µg	23	S
Bacitracina	B 10 U.I.	-	R
Cefaclor	CEC 30 µg	6	R
Cefalotina	KF 30 µg	-	R
Cefazolina	KZ 30 µg	11	R
Cefepime	FEP 30µg	16	I
Cefixime	CFM 5 µg	14	R
Cefotaxime	CTX 30 µg	13	R
Cefoxitina	FOX 30 µg	8	R
Ceftazidime	CAZ 30 µg	9	R
Ceftriaxone	CRO 30 µg	20	I
Claritromicina	CLR 15 µg	8	R
Ciprofloxacina	CIP 5 µg	26	S
Clindamicina	DA 2 µg	-	R
Cloromfenicolo	C 30 µg	24	S
Eritromicina	E 15 µg	9	R
Fosfomicina	FOS 50 µg	20	S
Gentamicina	CN 10 µg	16	S
Imipenem	IPM 10 µg	24	S
Kanamicina	K 30 µg	16	I
Neomicina	N 30 µg	14	I
Nitrofurantoina	F 300 µg	13	R
Norfloxacin	NOR 10 µg	22	S

Antibiotico	Sigla	Diametro alone	R/I/S
Oxacillina	OX 1 µg	-	R
Penicillina	P 10 U.I.	-	R
Piperacillina	PRL 100 µg	23	S
Polimixina B	PB 300 U.I.	13	S
Rifampicina	RD 30 µg	6	R
Streptomicina	S 10 µg	12	I
Sulfametoxazolo	RL 25 µg	8	R
Teicoplanina	TEC 30 µg	-	R
Tetraciclina	TE 30 µg	18	I
Trimethoprim + Sulfametoxazolo	SXT 25 µg (1,25 µg + 23,75 µg)	24	R
Vancomicina	VA 30 µg	-	R
Tobramicina	TOB 10 µg	12	R

Tabella 4: Profilo di suscettibilità antimicrobica del ceppo di *Salmonella* Dublin

Il profilo di resistenza osservato nel ceppo di *Salmonella* Dublin (Tab. 4) mostra una marcata resistenza ai beta-lattamici, con resistenza ad Ampicillina, Amoxicillina, Amoxicillina/Acido Clavulanico e alle cefalosporine di diverse generazioni (Cefixime, Cefotaxime, Ceftazidime, Cefoxitin), oltre a sensibilità intermedia o resistenza a Ceftriaxone e Cefepime.

La resistenza alle cefalosporine di terza generazione è un fenomeno di particolare preoccupazione, in quanto limita le opzioni terapeutiche per il trattamento di infezioni invasive da *Salmonella*.

La resistenza alla Colistina (CL 10µg), con un alone di 11 mm, rappresenta un segnale d'allarme di estrema rilevanza, considerato il ruolo di questo antibiotico come farmaco di "ultima risorsa" per il trattamento di infezioni da batteri Gram-negativi multiresistenti in medicina umana. Sebbene il valore di 11 mm si collochi al limite inferiore della sensibilità, in un contesto di multiresistenza

e in considerazione dell'importanza critica di questa molecola, tale risultato deve essere interpretato con estrema cautela e suggerisce la necessità di approfondimenti molecolari per escludere la presenza di geni di resistenza trasferibili.

Il ceppo ha mostrato invece una buona sensibilità ai fluorochinoloni, all'Imipenem, al Cloramfenicolo, al Trimetoprim/Sulfametossazolo e alla Gentamicina, suggerendo che queste molecole potrebbero rappresentare valide opzioni terapeutiche.

Salmonella Dublin a differenza di altri sierotipi di *Salmonella*, che tipicamente causano gastroenterite autolimitante nell'uomo, è un patogeno adattato ai bovini e caratterizzato da una spiccata invasività. Nell'uomo, le infezioni da *Salmonella Dublin* sono relativamente rare ma particolarmente severe, con un tasso di batteriemia che può raggiungere il 50-80% dei casi, superiore a quello osservato per altri sierotipi. La forma setticemica può determinare gravi complicanze, come endocardite, ascessi epatici, osteomielite e meningite, specialmente in soggetti immunocompromessi, anziani o bambini.

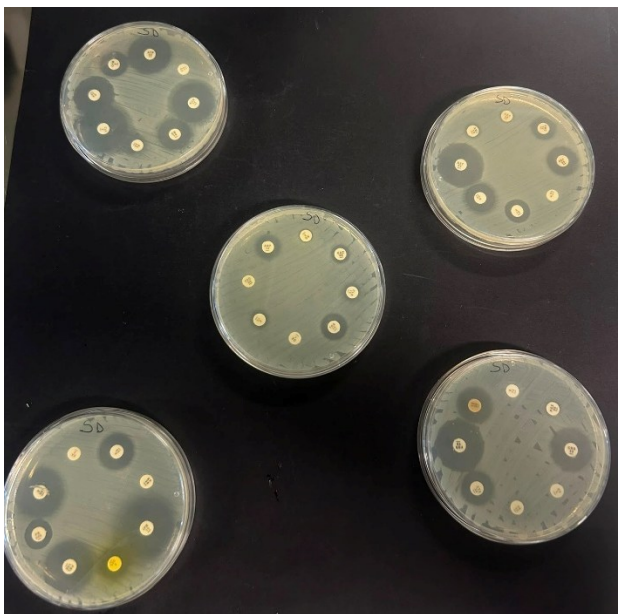


Immagine 12: antibiogramma eseguito sul ceppo di *Salmonella Dublin*

4.5 Analisi dei dati comparata

Il confronto dei tre profili di resistenza ottenuti evidenzia una preoccupante convergenza: in tutti e tre i compartimenti sono stati isolati ceppi batterici caratterizzati da multiresistenza, con sensibilità limitata a poche molecole antibiotiche.

L'analisi comparativa dei dati suggerisce l'esistenza di un problema trasversale di antibiotico-resistenza che interessa i diversi compartimenti, in linea con la visione *One Health*. La presenza di ceppi multiresistenti in animali da reddito rappresenta un potenziale serbatoio di geni di resistenza che potrebbero essere trasmessi all'uomo attraverso la catena alimentare o per contatto diretto.

Il caso umano, con un ceppo di *Klebsiella pneumoniae* resistente ai carbapenemi, evidenzia il problema crescente dell'antibiotico-resistenza in ambito ospedaliero, dove l'uso massiccio di antibiotici ad ampio spettro favorisce la selezione di patogeni multiresistenti.

Analogamente, il caso del felino mostra come l'uso empirico e ripetuto di antibiotici in medicina veterinaria degli animali da compagnia possa portare alla selezione di ceppi multiresistenti, con implicazioni non solo per la salute dell'animale ma anche per quella dei proprietari, che possono venire a contatto con i patogeni.

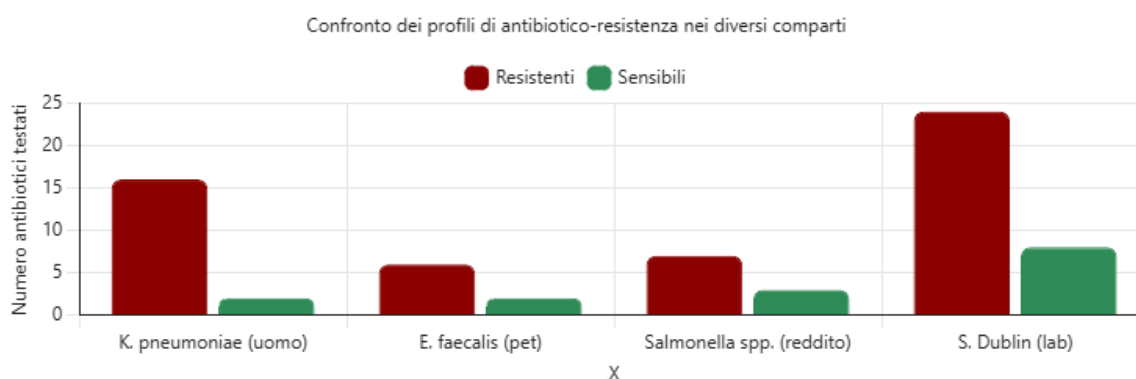


Grafico 1: profili di suscettibilità antimicrobica

Nei diversi profili di suscettibilità antimicrobica nei ceppi isolati nei diversi comparti (umano, animale da compagnia, animale da reddito e ceppo di riferimento) si evidenzia una predominanza di resistenze in tutti i contesti analizzati, a supporto della natura trasversale dell'antibiotico-resistenza in ottica *One Health* (**Grafico 1.**).

L'analisi percentuale mette in evidenza come la multiresistenza non sia un fenomeno confinato a un singolo ambito, ma rappresenti una caratteristica strutturale condivisa tra ambiente clinico, veterinario e zootecnico, sostenendo l'ipotesi di una circolazione intersettoriale dei determinanti genetici di resistenza.

La valutazione comparativa dei profili di suscettibilità antimicrobica osservati nei tre casi clinici analizzati umano, animale da compagnia e animale da reddito – unitamente al ceppo di riferimento di *Salmonella Dublin*, evidenzia una marcata convergenza verso pattern di multiresistenza, indipendentemente dal compartimento di origine.

Come evidenziato nei grafici precedenti, emerge chiaramente una predominanza della quota di ceppi resistenti rispetto a quelli sensibili in tutti i contesti analizzati, con valori compresi tra circa il 70% e l'89% di resistenza complessiva. In particolare, il ceppo di *Klebsiella pneumoniae* isolato in ambito umano presenta il profilo più critico, con una resistenza prossima alla totalità delle molecole testate, mentre i ceppi di origine veterinaria (*Enterococcus faecalis* e *Salmonella spp.*) mostrano comunque percentuali elevate e comparabili, a conferma della diffusione trasversale del fenomeno.

Dal punto di vista epidemiologico, tali evidenze suggeriscono che la pressione selettiva esercitata dall'uso di antibiotici rappresenta un fattore comune ai diversi ambiti analizzati. Nel contesto ospedaliero, l'impiego intensivo e talvolta empirico di antimicrobici ad ampio spettro favorisce la selezione di patogeni altamente resistenti, come evidenziato nel caso della *Klebsiella pneumoniae*, verosimilmente associabile a meccanismi di resistenza complessi quali la produzione di

carbapenemasi. Analogamente, nel caso dell'animale da compagnia, la storia clinica caratterizzata da ripetuti cicli terapeutici antibiotici ha probabilmente contribuito alla selezione di un ceppo di *Enterococcus faecalis* multiresistente, sottolineando il ruolo della medicina veterinaria degli animali da affezione come possibile driver emergente della resistenza antimicrobica.

Nel comparto zootecnico, i dati relativi a *Salmonella spp.* e *Salmonella Dublin* confermano la presenza di ceppi multiresistenti con implicazioni rilevanti non solo per la sanità animale, ma anche per la salute pubblica. La resistenza osservata verso classi antibiotiche di uso comune, unitamente alla presenza di resistenze verso molecole critiche quali la colistina, suggerisce la possibile circolazione di determinanti genetici trasferibili, con il rischio concreto di diffusione lungo la filiera alimentare e nell'ambiente.

Nel complesso, il confronto tra i diversi profili di resistenza evidenzia come l'antibiotico-resistenza non possa essere interpretata come un fenomeno confinato a singoli comparti, bensì come una problematica sistemica, caratterizzata da una forte interconnessione tra salute umana, animale e ambientale. Questa evidenza è pienamente coerente con l'approccio *One Health*, che riconosce l'esistenza di un continuum epidemiologico nella circolazione dei microrganismi resistenti e dei loro determinanti genetici.

Pertanto, i risultati ottenuti rafforzano la necessità di strategie integrate di sorveglianza e controllo dell'antibiotico-resistenza, basate su un uso prudente e razionale degli antimicrobici in tutti i settori, sull'implementazione di sistemi di monitoraggio condivisi e sullo sviluppo di interventi multidisciplinari volti a limitare la selezione e la diffusione dei ceppi multiresistenti.

In tale prospettiva, il presente studio rappresenta un esempio concreto di applicazione del paradigma *One Health*, evidenziando come solo un approccio coordinato e intersettoriale possa risultare efficace nel contrasto a una delle principali minacce per la salute globale (**Immagine 13**).



Immagine 13: approccio integrato *One Health*

5. Conclusioni

Il presente lavoro dimostra in modo chiaro e coerente come l'antibiotico-resistenza non rappresenti un fenomeno isolato, ma un'emergenza sanitaria globale dalla natura sistemica, che coinvolge in modo inscindibile la salute umana, animale e ambientale.

L'analisi comparata dei ceppi isolati nei tre contesti considerati ovvero umano, veterinario (con riferimento particolare ad un animale da compagnia/*pet*) e zootecnico evidenzia una notevole omogeneità verso profili di multiresistenza, indipendentemente dall'origine degli isolati. Questo riscontro è pienamente in linea con la letteratura scientifica internazionale, che attribuisce all'uso eccessivo e inappropriato degli antimicrobici nei diversi settori il ruolo di principale fattore selettivo e diffusivo delle resistenze.

Sul piano epidemiologico, emerge con particolare gravità la presenza di ceppi resistenti a molecole di importanza critica, come i carbapenemi e la colistina. Quest'ultima considerata un antibiotico di "ultima linea". La diffusione di tali resistenze costituisce un segnale estremamente preoccupante, poiché riduce drasticamente le opzioni terapeutiche e aumenta il rischio di infezioni non trattabili. La letteratura conferma che la presenza di geni di resistenza trasferibili favorisce la diffusione interspecifica dei determinanti di resistenza tra batteri e tra ecosistemi diversi.

Un elemento chiave emerso dall'analisi è il ruolo centrale del comparto zootecnico e, in misura crescente, degli animali da compagnia come serbatoi di resistenza. Le evidenze scientifiche dimostrano che i batteri resistenti e i relativi geni possono diffondersi lungo la catena "*farm-to-fork*" e attraverso il contatto diretto uomo-animale, configurando un rischio concreto per la salute pubblica.

Alla luce di questi risultati, lo studio conferma pienamente la validità e la necessità dell'approccio *One Health*, riconosciuto a livello internazionale come il modello più efficace per affrontare l'antimicrobico-resistenza.

Tale approccio, che integra competenze e strategie nei settori umano, veterinario e ambientale, si fonda sul riconoscimento dell'interconnessione tra questi ambiti e sulla conseguente esigenza di un'azione coordinata, come del resto sancito dal Piano d'Azione Globale dell'OMS e dal Piano Nazionale di Contrasto dell'Antimicrobico Resistenza (PNCAR) 2022-2025.

L'urgenza di questa visione è ulteriormente rafforzata dalle stime globali: l'antimicrobico-resistenza è già responsabile di oltre un milione di decessi all'anno e, secondo le proiezioni, potrebbe causare fino a 10 milioni di morti annue entro il 2050, con un impatto devastante sui sistemi sanitari. Senza interventi efficaci, ci avviciniamo pericolosamente a quella che è stata definita "era post-antibiotica", in cui infezioni comuni potrebbero tornare a essere letali.

In questo contesto, i risultati del presente lavoro indicano alcune priorità fondamentali:

- ridurre l'uso inappropriato degli antibiotici in medicina umana e veterinaria;
- implementare programmi di *antimicrobial stewardship* basati su diagnosi precise e sull'esecuzione dell'antibiogramma;
- potenziare i sistemi di sorveglianza integrata lungo tutta la filiera;
- investire in strategie alternative (vaccini, probiotici, terapie innovative, *biosecurity*);
- migliorare la formazione e la consapevolezza di operatori, allevatori e cittadini.

In conclusione, l'antibiotico-resistenza si configura come una sfida globale multidimensionale, che richiede un cambiamento culturale oltre che scientifico.

I risultati ottenuti confermano quanto evidenziato in letteratura, ovvero che l'ambiente rappresenta uno dei principali punti di interconnessione tra l'uso veterinario degli antibiotici e la salute

pubblica. L'analisi dei profili di resistenza nei diversi comparti supporta la necessità di un approccio di "*systems-thinking*" all'interno del quadro *One Health*, che riconosca l'interdipendenza tra salute umana, animale e ambientale. Solo attraverso un'azione coordinata che integri dati provenienti da monitoraggio clinico, agricolo e ambientale sarà possibile comprendere le dinamiche di trasmissione dell'antibiotico-resistenza e sviluppare strategie efficaci per rallentarne la diffusione globale (Kathryn E Arnold, et al, 2024).

Questo studio, seppur condotto su scala locale, fornisce evidenze concrete della circolazione intersettoriale delle resistenze, dimostrando che la salute umana non può essere disgiunta da quella animale e ambientale. I dati ottenuti confermano che l'antibiotico-resistenza non è il problema di un singolo settore, ma il riflesso di un sistema interconnesso: solo riconoscendo questa rete di relazioni e intervenendo in modo coordinato secondo il paradigma *One Health* sarà possibile contrastare efficacemente una delle più grandi minacce della medicina moderna, nell'interesse delle generazioni presenti e future.

6. Bibliografia

- **Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA).** (2024). *L'uso degli antibiotici in Italia – Rapporto Nazionale Anno 2023*. Roma: AIFA.
- **Andrea Maugeri, Martina Barchitta, Antonella Agodi.** (2023). *Association between quality of governance, antibiotic consumption, and antimicrobial resistance: an analysis of Italian regions*
- **Ashurst, J. V. & Dawson, A.** (2023). *Polmonite da Klebsiella*. StatPearls Publishing.
- **Consiglio dell'Unione Europea.** (2023). *Raccomandazione del Consiglio sul potenziamento delle azioni dell'UE per combattere la resistenza antimicrobica con un approccio One Health*. Bruxelles: Consiglio dell'UE. Disponibile su: <https://data.consilium.europa.eu/doc/document/ST-9581-2023-INIT/it/pdf>
- **Dhruvi Shah & Sriram Varahan** (2024). *Enterococcus faecalis*.
- **Enshaie E., Nigam S., Patel S., & Rai V.** (2025). *Livestock antibiotics use and antimicrobial resistance*.
- **European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC).** (2024). *Antimicrobial consumption in the EU/EEA (ESAC-Net): Annual Epidemiological Report for 2023*. Stockholm: ECDC. Disponibile su: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/ESAC-Net_report-2023.pdf
- **European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC).** (2024). *Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net): Annual Epidemiological Report*. Stockholm: ECDC. Disponibile su: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-eueea-ears-net-annual-epidemiological-report-2023>
- **Hussein, S., Qurbani, K., Ibrahim, R. H., Fareeq, A., Mahmood, K. A., & Mohamed, M. G.** (2024). *Antimicrobial resistance: Impacts, challenges, and future prospects*. *Journal of Medicine, Surgery, and Public Health*.
- **Kathryn E Arnold, Gabrielle Laing, Barry J McMahon, Séamus Fanning, Dov J Stekel, Ole Pahl, Lucy Coyne, Sophia M Latham, K Marie McIntyre** (2024). *The need for One Health systems-thinking approaches to understand multiscale dissemination of antimicrobial resistance*.
- **Mader, R., Muñoz Madero, C., Aasmäe, B., Bourély, C., Broens, E. M., Busani, L., Callens, B., Collineau, L., Crespo-Robledo, P., Damborg, P., Filippitzi, M.-E., Fitzgerald, W., Heuvelink, A., van Hout, J., Kaspar, H., Norström, M., Pedersen, K., Pohjanvirta, T.,**

- Pokludova, L., Amat, J.-P.** (2022). *Review and Analysis of National Monitoring Systems for Antimicrobial Resistance in Animal Bacterial Pathogens in Europe: A Basis for the Development of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network in Veterinary Medicine (EARS-Vet)*.
- **OECD** (2022), *Antimicrobial Resistance in the EU/EEA: A One Health Response*, OECD Publishing
 - **Sbaffi, C., Olmastroni, E., & Tragni, E.** (2021). *Antibiotic resistance: causes, consequences, research strategies, and health policies to counteract it*. *Giornale Italiano di Farmacoeconomia e Farmacoutilizzazione*.
 - **Shinohara NKS, Barros VB, Jimenez SMC, Machado ECL, Dutra RAP, Filho JLL** (2008) *Salmonella spp., importante agente patogeno veicolato negli alimenti*, *SciELO Brasil*.