

Prevalenza di *Escherichia coli* uropatogeni multiresistenti isolati da cane e uomo



Un problema emergente riguardo al trattamento delle infezioni urinarie sostenute da *E. coli* è rappresentato dalla diffusione di ceppi multiresistenti (MDR).

È stato pertanto condotto uno studio retrospettivo per valutare la resistenza di ceppi di *E. coli* isolati dall'urina di pazienti umani e da cani affetti da cistite.

Patrizia Nebbia, DVM, PhD^{1*}
Rosangela Odore, DVM, PhD¹
Clara Tramuta, DVB, PhD¹
Andrea Malabaila, DM²
Patrizia Robino, DVM, PhD¹

INTRODUZIONE

Le infezioni del tratto urinario (UTI) sono molto frequenti nel cane e nell'uomo. Tra gli agenti eziologici *Escherichia coli* è uno dei batteri più comunemente coinvolti nelle forme cliniche di cistite. Risulta infatti l'agente causale del 70-90% delle UTI che colpiscono l'uomo e fino al 55% delle infezioni canine^{1,2,3}. Il trattamento di queste patologie può risultare difficile a causa della capacità del microrganismo di colonizzare la mucosa vescicale, della presenza di particolari fattori di virulenza e del fenomeno dell'antibiotico-resistenza. Tali fattori di rischio contribuiscono all'instaurarsi di forme ricorrenti con evidenti ripercussioni sull'esito e sui costi della terapia⁴. Inoltre, negli ultimi anni si è assistito ad un aumento della diffusione dell'antibiotico-resistenza sia in medicina umana che veterinaria⁵. Alcuni studi evidenziano l'esistenza di una correlazione tra uso di antimicrobici e livello di antibiotico-resistenza ponendo inoltre l'attenzione sul ruolo degli animali da compagnia come serbatoio di batteri resistenti per l'uomo^{6,7}. Per questo motivo l'uso prudente degli antibiotici in campo umano e veterinario rappresenta una

priorità per la salute pubblica sia a livello nazionale che europeo.

In Italia i dati riguardanti il livello di antibiotico-resistenza nelle cistiti che colpiscono gli animali da compagnia sono limitati a pochi lavori^{8,9,10,11}. Abbiamo quindi ritenuto interessante analizzare la prevalenza di ceppi uropatogeni multiresistenti di *E. coli* isolati da urine di cani con cistite e confrontare i risultati ottenuti con campioni di *E. coli* isolati da analoghe infezioni urinarie nell'uomo.

MATERIALI E METODI

Ceppi batterici

È stato eseguito uno studio retrospettivo relativamente al periodo compreso tra Marzo 2013 e Marzo 2014. Sono stati presi in considerazione 55 ceppi di *E. coli* di origine canina e 85 di origine umana. I ceppi sono stati isolati da campioni di urina ottenuti in entrambi i casi da pazienti con diagnosi clinica di cistite non complicata. Sia per quanto riguarda l'uomo che il cane i campioni sono stati raccolti da soggetti residenti in Piemonte.

Test di sensibilità agli antimicrobici

Per l'identificazione della specie batterica e i test di sensibilità agli antibiotici, effettuati mediante calcolo della concentrazione minima inibente

Gli animali da compagnia sono possibili serbatoi per l'uomo di batteri uropatogeni MDR.

¹ Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Torino

² Laboratorio di Microbiologia, Ospedale degli Infermi, Biella, Italia

* Corresponding author (patrizia.nebbia@unito.it)

Ricevuto: 08/09/2014 - Accettato: 20/11/2014

Lavoro in parte presentato al 42° Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia (Torino, 28 settembre - 1° ottobre 2014)

Tabella 1.	
Classe chemioantibiotica	Principio attivo
Acidi fosfonici	Fosfomicina
Aminoglicosidi	Gentamicina
	Tobramicina
	Amikacina
Carbapenemici	Ertapenem
	Imipenem
	Meropenem
Cefalosporine	Cefuroxime
	Cefotaxime
	Ceftazidime
	Cefepime
Fluorochinoloni	Ciprofloxacina
	Levofloxacina
	Norfloxacina
Glicicline	Tigeciclina
Inibitori della via metabolica dei folati	Trimetoprim-sulfametossazolo
Penicilline	Ampicillina
	Piperacillina
Penicilline + inibitori delle β-lattamasi	Amoxicillina-ac. clavulanico
	Piperacillina-Tazobactam
Polimixine	Colistina
Tetracicline	Tetraciclina
Nitrofuranici	Nitrofurantoina

Tabella 1. Agenti antimicrobici, suddivisi per classi, utilizzati nelle prove di sensibilità (MIC) su 106 *E. coli* uropatogeni isolati da cane e da uomo.

(MIC), è stato utilizzato un sistema automatizzato (Microscan Walkaway-96 system, Siemens, Germany). È stato preso in considerazione un pannello di 23 antibiotici comprendente le classi di farmaci più frequentemente utilizzate in terapia umana e veterinaria. La lista degli antibiotici è riportata in Tabella 1. In base alla risposta al test di sensibilità, gli isolati sono stati classificati come sensibili o resistenti (categoria in cui sono stati inclusi anche i ceppi intermedi) verso ciascun farmaco testato. Gli isolati resistenti ad almeno 3 classi di antibiotici sono stati definiti MDR, in accordo con quanto suggerito recentemente da Magiorakos et al.¹².

Circa il 30% degli isolati sia nel cane che nell'uomo è risultato MDR: nell'uomo il 7% degli isolati-MDR era resistente a 7 classi antibiotiche, nel cane il 37%.

Analisi statistica

Le differenze circa la percentuale di antibiotico-resistenza fra ceppi isolati da cane e uomo sono state analizzate mediante il test χ^2 (JavaStat). Il limite di significatività è stato fissato a $p < 0,05$.

RISULTATI

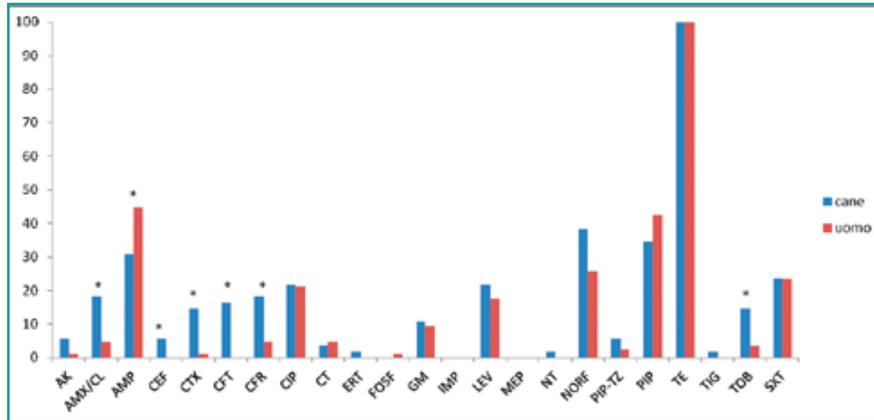
La Figura 1 riassume il profilo di resistenza dei ceppi di *E. coli* isolati dal cane e dall'uomo. In entrambi i gruppi la resistenza verso la tetraciclina è risultata del 100%. Percentuali elevate di resistenza sono inoltre state osservate per norfloxacina (38% e 26%, rispettivamente nel cane e nell'uomo), piperacillina (35% e 42%) ed ampicillina (31% e 45%). In entrambe le specie la resistenza nei confronti degli altri antibiotici era inferiore al 30%. La sensibilità verso fosfomicina, imipenem, meropenem e nitrofurantoina è risultata compresa tra il 98 ed il 100%. Per quanto riguarda la comparazione dei dati in riferimento all'origine degli isolati (cane e uomo), i ceppi ottenuti dal cane sono risultati significativamente più resistenti rispetto a quelli umani nei confronti di cefalosporine, amoxicillina-acido clavulanico e tobramicina ($p < 0,05$). Al contrario, l'ampicillina ha mostrato una minore attività antibatterica nei confronti dei ceppi umani rispetto a quelli iso-

lati dal cane ($p < 0,01$).

Sia nei cani che nell'uomo circa un terzo degli isolati sono risultati MDR. Tuttavia, mentre nell'uomo la maggioranza degli isolati (76%) si è dimostrata resistente a 3-4 classi di antibiotici e solo il 3% a 7 classi, nel cane il 37% dei ceppi è risultato resistente a 7 classi (Tabella 2).

DISCUSSIONE

In analogia con quanto osservato in altri paesi¹³, il presente studio indica che anche in Italia, e più specificamente in Piemonte, il fenomeno dell'antibiotico-resistenza è molto diffuso tra i ceppi di *E. coli* uropatogeni isolati da cane e uomo. La percentuale di resistenza alle tetracicline è in linea con quanto osservato nel corso di precedenti studi condotti sia nel cane che nell'uomo ed è probabilmente imputabile alla pressione farmacologica esercitata sui ceppi commensali di *E. coli* nel corso del trattamento di infezioni sostenute da altri patogeni^{14,15}. Tale classe di antibiotici è stata ed è attualmente utilizzata in larga misura sia in ambito umano che veterinario. Analogamente i risultati relativi ad ampicillina, amoxicillina-acido clavulanico e fluorochinoloni riflettono, sia pur con percentuali lievemente differenti, i dati presenti in letteratura¹³. Relativamente ai ceppi di



AK=amikacina;AMX/CL=amoxicillina/ac.clavulanico;AMP=ampicillina;CEF=cefepime;CTX=cefotaxime; CFT=ceftazidime;CFR=cefuroxime;CIP=ciprofloxacina;CT=colistina;ERT=ertapenem;FOSF=fosfomicina;GM=gentamicina;IMP=imipenem;LEV=levofloxacina;MEP=meropenem;NT=nitrofurantoina;NORF=norfloxacina;PIP-TZ=piperacillina-tazobactam;PIP=piperacillina;TE=tetraciclina;TIG=tigeciclina;TOB=tobramicina;SXT=trimetoprim-sulfametossazolo

Figura 1. Comparazione dell'antibiotico-resistenza (%) fra *E. coli* uropatogeni isolati dal cane e dall'uomo (* p<0,05)

Nel presente studio un terzo dei ceppi isolati da entrambe le specie è risultato MDR. Relativamente ai ceppi di origine umana il dato è sovrapponibile a quello emerso dallo studio di Baral e collaboratori³ secondo i quali la percentuale si attestava al 38% circa. Un lavoro recente sul cane ha rilevato una percentuale di *E. coli* MDR del 57%, dove la maggior parte dei ceppi risultava essere resistente a ben 7 antibiotici con percentuali di resistenza elevate ai beta-lattamici e ai fluorochinoloni²¹. Il problema della multiresistenza tra i

origine canina occorre sottolineare che non esistono al momento specialità medicinali autorizzate per il cane contenenti i fluorochinoloni testati nel corso dello studio; è stata tuttavia dimostrata la possibilità di resistenza crociata tra i vari fluorochinoloni. Per quanto riguarda *E. coli*, è stata osservata una correlazione tra utilizzo di enrofloxacin e flumechin e successiva comparsa di resistenza nei confronti della ciprofloxacina¹⁶. Enrofloxacin e ciprofloxacina sono infatti strutturalmente e funzionalmente simili e la seconda è il metabolita attivo della prima¹⁷. Per questa categoria di chemioantibiotici è ormai documentata da tempo l'esistenza di una correlazione tra frequenza nelle prescrizioni ed aumento di ceppi batterici uropatogeni resistenti¹⁸. Anche la resistenza alle penicilline semisintetiche può trovare giustificazione nell'ampia disponibilità e frequenza di prescrizione sia in campo umano che veterinario. Secondo Wagner et al.¹³, per i ceppi MDR di *E. coli* isolati in corso di UTI nel cane la percentuale di resistenza ad amoxicillina-acido clavulanico può raggiungere addirittura il 100%. L'elevata sensibilità degli isolati nei confronti di fosfomicina e nitrofurantoina è in accordo con quanto emerso da studi epidemiologici riguardanti il profilo di resistenza di *E. coli* responsabili di UTI^{19,20}.

ceppi di origine canina è particolarmente evidente nei soggetti ospedalizzati e sottoposti a terapia antibiotica²². I nostri dati, nel complesso, confermano l'esigenza di un utilizzo prudente e ponderato dei chemioantibiotici. In particolare, data l'elevata prevalenza nel cane di

Il problema della multiresistenza tra i ceppi di origine canina è particolarmente evidente nei soggetti ospedalizzati e sottoposti a terapia antibiotica e suggerisce l'esigenza di un utilizzo prudente e ponderato dei chemioantibiotici.

ceppi resistenti a 7 classi di chemioantibiotici, si sottolinea l'importanza di seguire un iter diagnostico approfondito e di ricorrere, ove possibile, ad isolamento del microorganismo e test di sensibilità *in vitro*. Da questo punto di vista è inoltre preferibile disporre dei valori di MIC dal momento che l'efficacia *in vivo* è condizionata dalle concentrazioni raggiungibili nel sito d'azione. Nel caso di terapia empirica è importante instaurare il protocollo considerando il *trend* relativo al profilo di resistenza dei patogeni nell'area geografica in questione. Attualmente le linee guida per il trattamento delle

Origine ceppi	Resistenza vs								
	3-4 classi		5-6 classi		7 classi		≥8 classi	Totale ceppi	
	n. isolati	%	n. isolati	%	n. isolati	%	n. isolati	n.	%
cane	5	26	7	37	7	37	0	19/55	34,5
uomo	22	76	7	24	1	3	0	29/85	35,3

Tabella 2 Distribuzione dei ceppi di *E. coli* uropatogeni multiresistenti, isolati da cane e da uomo, in classi di chemioantibiotici

UTI nel cane raccomandano come farmaci di prima scelta amoxicillina-acido clavulanico (11-15 mg/kg PO TID) o i sulfamidici potenziati (15 mg/kg PO BID)²³. Tuttavia i risultati della nostra ricerca indicano che le percentuali di resistenza nei confronti di questi farmaci non sono trascurabili.

Altri farmaci utilizzati nel cane sono la nitrofurantoina e la fosfomicina. Nonostante quest'ultima sia ormai utilizzata a partire dagli anni Settanta, la sensibilità degli isolati da noi testati, compresi i ceppi multiresistenti, è risultata decisamente elevata in accordo con altri autori^{24,25}. L'elevata sensibilità, unitamente all'elevato indice terapeutico e alle caratteristiche cinetiche, ne ha giustificato l'utilizzo nel corso di UTI canine sostenute da ceppi MDR²⁵. È tuttavia doveroso sottolineare che tale trattamento si configura quale uso in deroga secondo l'art. 10 del Decreto Legislativo n 193/2006 e può pertanto essere attuato solo in via eccezionale, in base ad

effettiva necessità e/o ad indicazione laboratoristica, e preferibilmente in seguito a segnalazione di vigilanza. Anche la nitrofurantoina presenta una buona efficacia nei confronti di *E. coli*. Nel caso di ceppi MDR isolati da cane, le MIC₅₀ della nitrofurantoina (16 µg/ml) sono risultate inferiori alle concentrazioni ottenibili in vivo nell'urina (60-100 µg/ml) in seguito a somministrazione per via orale¹. Tuttavia, analogamente a quanto affermato per la fosfomicina, anche l'utilizzo della nitrofurantoina come farmaco di prima scelta nel cane non è indicato. Piuttosto, rappresenta una valida alternativa nel caso di infezioni da batteri MDR qualora la terapia convenzionale risulti inefficace.

Infine, si consiglia di evitare o limitare a casi estremi l'utilizzo di carbapenemi nonostante l'elevata attività dimostrata *in vitro* nei confronti di *E. coli*. Si tratta di farmaci di ultima linea in medicina umana utili nel caso di gravi infezioni sostenute da batteri Gram negativi MDR¹⁵.

PUNTI CHIAVE

- *E. coli* è l'agente causale della maggioranza delle infezioni del tratto urinario (UTI) non complicate sia nell'uomo che negli animali.
- Negli ultimi anni le segnalazioni di *E. coli* multiresistenti, selezionati anche in seguito all'uso eccessivo e all'abuso degli antibiotici, sono in aumento in tutto il mondo.
- In questo studio sono stati provati *in vitro* antibiotici ad uso umano e/o veterinario. Circa un terzo dei ceppi di *E. coli* isolati dall'uomo e altrettanti isolati dal cane risultava multiresistente (MDR).
- Questi risultati confermano la necessità di un *iter* diagnostico accurato ed un protocollo terapeutico mirato. L'uso prudente degli antibiotici in campo umano e veterinario rappresenta una priorità per la salute pubblica sia a livello nazionale che europeo.

Prevalence of multidrug resistance in canine and human uropathogen *E. coli* isolates

Summary

Treatment of urinary infections caused by E. coli has become increasingly problematic due to the emergence and spread of multidrug-resistant strains. A retrospective study was carried out to evaluate antibiotic resistance patterns of E. coli isolated from urine samples of dogs and humans.

BIBLIOGRAFIA

- Maaland M, Guardabassi L. In vitro antimicrobial activity of nitrofurantoin against *Escherichia coli* and *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs and cats. *Veterinary Microbiology* 151:396-399, 2011.
- Thompson MF, Litster AL, Platell JL *et al.* Canine bacterial urinary tract infections: new developments in old pathogens. *Veterinary Journal* 190:22-27, 2011.
- Baral P, Neupane S, Marasini BP *et al.* High prevalence of multidrug resistance in bacterial uropathogens from Kathmandu, Nepal. *BMC Research Notes* 19:38, 2012.
- Hershberger E, Oprea SF, Donabedian SM *et al.* Epidemiology of antimicrobial resistance in enterococci of animal origin. *Antimicrobial Chemotherapy* 55:127-130, 2005.
- Pitout JD. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: an update on antimicrobial resistance, laboratory diagnosis and treatment. *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 10:1165-1176, 2012.
- Guardabassi L, Schwarz S, Lloyd DH. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. *Journal Antimicrobial Chemotherapy* 54:321-332, 2004.
- Ball KR, Rubin JE, Chirino-Trejo M *et al.* Antimicrobial resistance and prevalence of canine uropathogens at the Western College of Veterinary Medicine Veterinary Teaching Hospital, 2002-2007. *Canadian Veterinary Journal* 49:985-990, 2008.
- Ossiprandi MC, Cattabiani F, De Risio L *et al.* Antibiotic resistance in bacteria isolated from urinary tracts of cats and dogs with neurologic impairment. *Igiene Moderna* 125: 27-39, 2006.
- Papini R, Ebani VV, Cerrì D *et al.* Survey on bacterial isolates from dogs with urinary tract infections and their in vitro sensitivity. *Revue de Médecine Veterinaire* 157:35-41, 2006.
- Nebbia P, Tramuta C, Odore R *et al.* Genetic and phenotypic characterisation of *Escherichia coli* producing cefotaximase-type extended-spectrum β -lactamases: first evidence of the ST131 clone in cats with urinary infections in Italy. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 2014 [Epub ahead of print].
- Tramuta C, Robino P, Nucera D *et al.* Molecular characterization and antimicrobial resistance of faecal and urinary *Escherichia coli* isolated from dogs and humans in Italy. *Veterinaria Italiana* 50:23-30, 2014.
- Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB *et al.* Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection* 18:268-81, 2012.
- Wagner S, Gally DL, Argyle SA. Multidrug-resistant *Escherichia coli* from canine urinary tract infections tend to have commensal phylotypes, lower prevalence of virulence determinants and ampC-replicons. *Veterinary Microbiology* 169:171-178, 2014.
- Karami N, Nowrouzian F, Adlerberth I *et al.* Tetracycline resistance in *Escherichia coli* and persistence in the infantile colonic microbiota. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy* 50:156-161, 2006.
- Gibson JS, Cobbold RN, Trott DJ. Characterization of multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from extraintestinal clinical infections in animals. *Journal of Medical Microbiology* 59:5928, 2012.
- Moniri R, Dastehgoli K. Fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* isolated from healthy broilers with previous exposure to fluoroquinolones: Is there a link? *Microbial Ecology in Health and Disease* 17:69-74, 2005.
- Küng K, Riond JL, Wanner M. Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intravenous and oral administration of enrofloxacin in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology And Therapeutics* 16:462-468, 1993.
- Goetsch W, van Pelt W, Nagelkerke N *et al.* Increasing resistance to fluoroquinolones in *Escherichia coli* from urinary tract infections in the Netherlands. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 46(2):223-8, 2000.
- Nickel JC. Urinary Tract Infections and Resistant Bacteria. *Reviews in urology* 9:78-80, 2007.
- Aboderin OA, Abdu AR, Odetoyin BW *et al.* Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* strains from urinary tract infections. *Journal of the National Medical Association* 101:1268-1273, 2009.
- Shaheen BW, Boothe DM, Oyarzabal OA *et al.* Antimicrobial resistance profiles and clonal relatedness of canine and feline *Escherichia coli* pathogens expressing multidrug resistance in the United States. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 24:323-30, 2010.
- Nam HM, Lee HS, Byun JW *et al.* Prevalence of antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* isolates from stray pet dogs and hospitalized pet dogs in Korea. *Microbial Drug Resistance* 16:75-79, 2010.
- Weese JS, Blondeau JM, Boothe D *et al.* Antimicrobial Use Guidelines for Treatment of Urinary Tract Disease in Dogs and Cats: Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases. *Veterinary Medicine International* 263768, 2011.
- Falagas ME, Kastoris AC, Kapaskelis AM *et al.* Fosfomicin for the treatment of multidrug-resistant, including extended-spectrum beta-lactamase producing, Enterobacteriaceae infections: a systematic review. *Lancet Infectious Diseases* 10:43-50, 2010.
- Hubka P, Boothe DM. In vitro susceptibility of canine and feline *Escherichia coli* to fosfomicin. *Veterinary Microbiology* 149:277-82, 2011.