

# INDAGINE SULLA PRESENZA DI STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILLINO RESISTENTE NEGLI ALLEVAMENTI DI BOVINE DA LATTE DEL TRIVENETO

**Alessandra Busa, Chiara Segalin, Sondra Bonamico, Lara Biasio, Laura D'Este, Elena Mazzolini, Silvia Deotto, Denis Vio, Michela Corrà, Debora Dellamaria, Ilenia Drigo, Karin Trevisiol, Antonio Barberio, Fabrizio Agnoletti**

**Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Legnaro (PD)**

## INTRODUZIONE

*Staphylococcus aureus* meticillino resistente (MRSA) è causa di gravi infezioni umane, quali endocarditi, osteomieliti e sepsi, ed è uno dei principali agenti di infezioni nosocomiali (Forbes et al., 2008). MRSA è stato rilevato anche in diverse specie animali e, a seguito della diffusione negli allevamenti di maiali del ceppo ST398, definito anche livestock associated MRSA (LA-MRSA), si è concretizzato il rischio di trasmissione di MRSA all'uomo per contatto diretto con animali portatori o con alimenti contaminati (Lee, 2003). Nei bovini da latte la colonizzazione della mammella da parte di MRSA può causare la comparsa di mastiti croniche, andando ad aumentare il periodo di potenziale esposizione al patogeno da parte degli allevatori (Fessler et al., 2010; Luini et al, 2015). Al momento ci sono poche informazioni disponibili sulle diffusione di MRSA negli allevamenti italiani di bovine da latte, in particolare nell'area del Triveneto. L'obiettivo del presente studio era pertanto stimare la prevalenza di allevamenti infetti presenti nel nostro territorio, applicando un sistema di monitoraggio basato sull'impiego dei campioni di latte inviati ai laboratori dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSve) per la normale attività diagnostica.

## MATERIALI E METODI

**Disegno sperimentale:** lo studio è iniziato a marzo 2016 e si è concluso a ottobre 2017. Le aziende di bovine da latte incluse nello studio sono state selezionate fra quante inviavano campioni di latte per la diagnosi di mastite bovina presso gli 8 laboratori territoriali dell'IZSve. L'arruolamento delle aziende è stato effettuato attraverso l'utilizzo del business intelligence QlikView (QlikView 11, ver.1111.20.12354.0. SR6.0.11440.OSR2, Qlik Tech International), che costantemente si interfacciava con il sistema informatico dei laboratori IZSve (LIMS) per selezionare i campioni adatti allo studio, in base alle caratteristiche qualitative e quantitative delle aziende e della loro origine geografica. Una volta identificati i campioni eleggibili, veniva inviata una mail di allerta al laboratorio che decideva se precedere o meno all'arruolamento. L'unità epidemiologica considerata è la stalla, il cui numero campionato corrisponde alla media del totale delle aziende presenti per ciascuna provincia.

**Metodi analitici:** ogni gruppo di campioni idonei ed arruolati per lo studio veniva miscelato con aliquote uguali a comporre un unico campione di pool, a partire dal quale veniva effettuata la ricerca di MRSA. 1 mL di latte veniva inoculato in 9 ml di Mueller Hinton broth (MHB) addizionato con il 6.5% di NaCl ed incubato per 16-20 ore a 37°C. Successivamente 1 mL di MHB-NaCl veniva trasferito in brodo soia triptone addizionato di cefoxitin (3.5 mg/L) ed aztreonam (75 mg/L) ed incubato overnight. Il giorno seguente 10 µL venivano seminati nel terreno agarizzato CHROMagar MRSA II. Dopo 48 ore di incubazione le colonie sospette di essere MRSA venivano testate per la

resistenza a cefoxitin con la metodica Kirby Bauer, secondo le linee guida CLSI. I ceppi resistenti isolati venivano confermati per i geni *mec-A* e *mec-C* attraverso metodiche di PCR.

## RISULTATI E DISCUSSIONE

Sulla base dei campioni pervenuti ai laboratori IZSve nell'anno 2015, si era stimato di poter controllare 1000 aziende. Alla fine dello studio sono state testate 977 aziende, per cui è stato quasi raggiunto il livello di campioni inizialmente stimato. Sul totale delle aziende campionate solo 3 (0,003%) sono risultate positive per MRSA nel latte. La percentuale di positività rilevata è stata molto bassa e questo dato è sicuramente confortante in quanto attesta una presenza molto limitata di MRSA nelle aziende di bovine da latte del Triveneto. Le 3 aziende positive erano tutte localizzate nella regione Veneto, 2 nella provincia di Treviso ed una nella provincia di Verona. Il sistema di monitoraggio attuato si è rivelato efficace in quanto ci ha consentito di testare un numero elevato di aziende impiegando i campioni inviati al laboratorio per le normali analisi di routine.

## BIBLIOGRAFIA

Feßler A, Scott C, Kadlec K, Eiricht R, Monecke S, Schwarz S. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from cases of bovine mastitis. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65:619-625.

Forbes BA, Bombicino K, Plata K, Cuirolo A, Webber D, Bender CL, Rosato AE. Unusual form of oxacillin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strains. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 61:387–395.

Lee JH. Methicillin (Oxacillin)-Resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. *App Env Microbiol* 2003; 69:6489–6494.

Luini M, Cremonesi P, Magro G, Bianchini V, Minozzi G, Castiglioni B, Piccinini R. Short communication: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is associated with low within-herd prevalence of intra-mammary infections in dairy cows: Genotyping of isolates. *Vet Microbiol* 2015; 178:270–274.