

Scuola universitaria professionale della Svizzera italiana
Dipartimento ambiente costruzioni e design
Laboratorio microbiologia applicata

SUPSI

Antibiotico resistenza in ambiente: situazione del Lago di Lugano e alcuni fiumi immissari

Federica Mauri, LMA

L'approccio One-Health nelle resistenze agli antibiotici
Manno, 08 novembre 2018

SUPSI Sommario

2

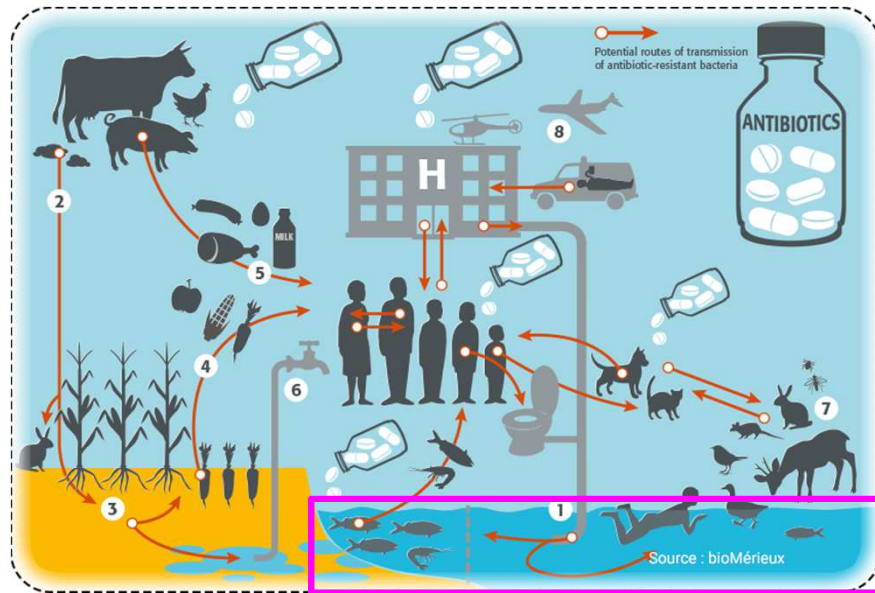
Sommario

- **Introduzione**
 - Disseminazione in ambiente acquatico dell'antibiotico resistenza
- **Risultati monitoraggio** Lago Lugano 2016-2017 (2018 in parte)
 - Quantificazione geni di resistenza agli antibiotici
 - Isolamento di batteri resistenti
- **Confronto** altri laghi svizzeri e Lago Maggiore
- **Valutazione** del rischio e **modalità d'intervento**

9 novembre 2018

SUPSI Introduzione

3

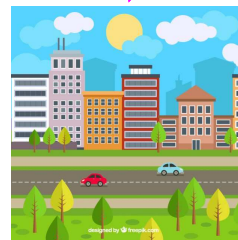
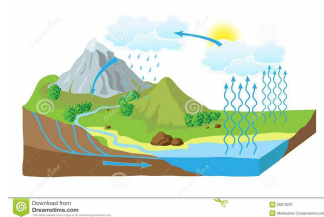


9 novembre 2018

SUPSI Introduzione

4

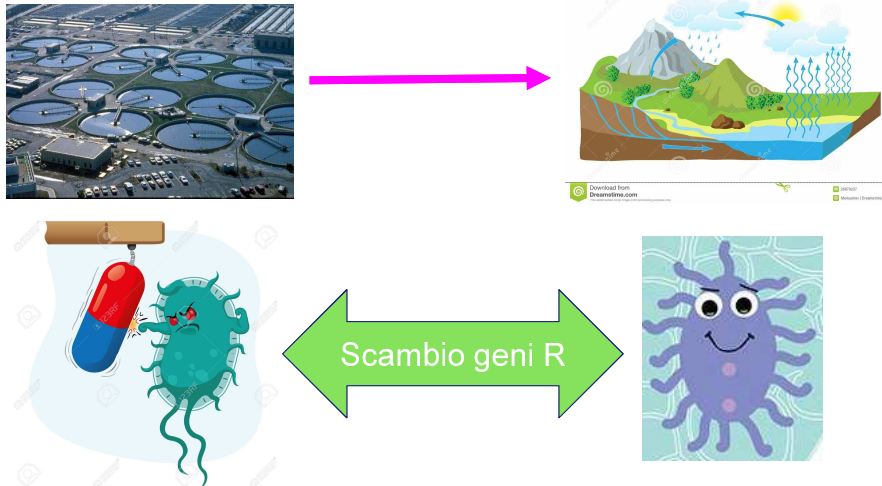
Ciclo dell'riutilizzo dell'acqua



9 novembre 2018

Immagini tratte da google

Ciclo dell'riutilizzo dell'acqua



9 novembre 2018

Immagini tratte da google

Obiettivi

Monitorare il Lago di Lugano e alcuni fiumi immissari per la presenza di **geni di resistenza**

Isolare **batteri antibiotico resistenti** naturalmente presenti in ambiente acquatico e/o potenzialmente patogeni

Valutare **l'impatto antropico** e il **ruolo dell'ambiente** acquatico nella **diffusione** delle resistenze agli antibiotici

Campionamento fiumi



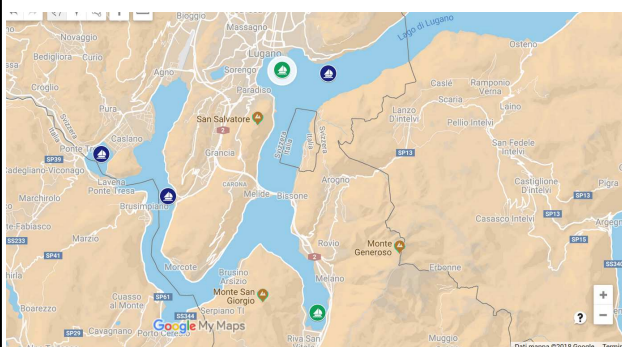
Prelievo di
acqua di
superficie, una
volta al mese



9 novembre 2018

Immagini aeree tratte da google

Campionamento Lago



Prelievi stagionali

Lugano (captazione acqua
potabile, 40mt in uso)

Riva S.V. (captazione acqua
potabile, 33mt prevista)

Gandria 0-20 mt

Ponte Tresa 0-20 mt

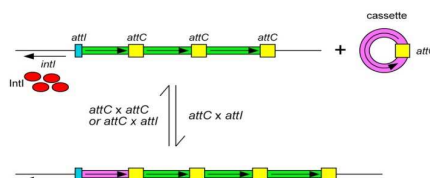
Figino 0-20 mt



9 novembre 2018

Geni di resistenza e integrone

Gene	Classe antibiotico
<i>qnrS</i>	fluorochinoloni
<i>ermB</i>	macrolidi
<i>sul II</i>	sulfonamidi
<i>tet</i> (A, B, M)	tetracicline
<i>bla</i> (TEM, CTX-M, SHV)	β-lattamici
<i>bla</i> _{OXA48}	carbapenemi



Gene intI

Gene 16S rRNA

Immagini tratte da google

9 novembre 2018

Analisi dei campioni



Immagine tratta da google

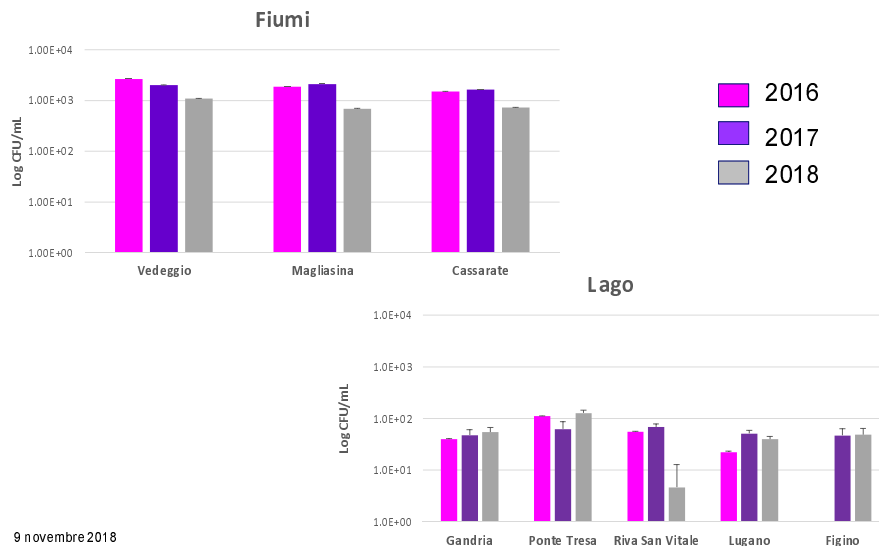
PCR e qPCR



Identificazione
mediante
spettrometria di
massa

9 novembre 2018

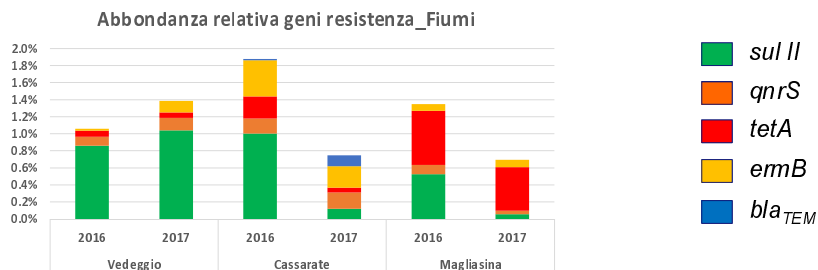
Conta totale batteri su piastra



Screening qualitativo: presenza- assenza

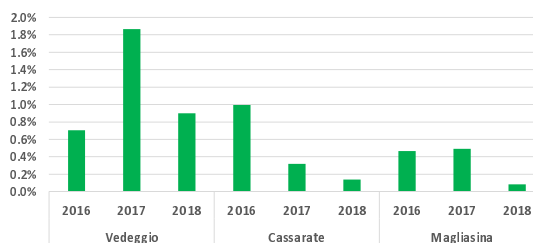
- Gene per **l'integrasi** molto frequente in fiumi e lago
- Tutti i geni ricercati sono presenti eccetto *bla_{OXA-48}*, *tetB* e *tetM*
- Geni di resistenza trovati maggiormente ***sul II*, *tetA*, *qnrS*, *ermB***
- Geni di resistenza **meno frequenti nel lago** rispetto ai fiumi

Abbondanza dei geni di resistenza relativa al gene 16S_Fiumi

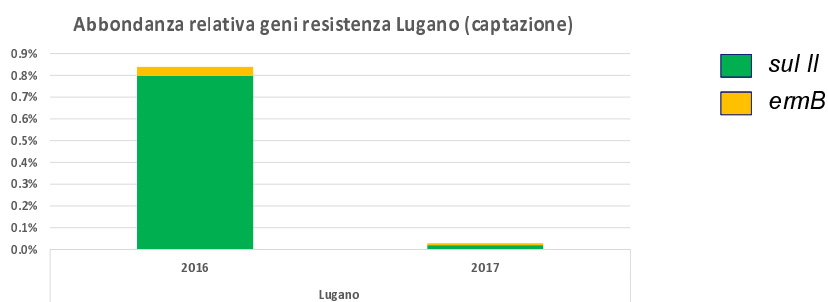


9 novembre 2018

Abbondanza relativa gene *sul II*_gen-apr



Abbondanza dei geni di resistenza relativa al gene 16S_Lago



	Riva S.Vitale		Gandria		Ponte Tresa		Figino	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017
<i>sul II</i>	-	0.01%	-	0.02%	-	0.02%		0.01%
<i>qnrS</i>	-	-	-	-	0.06%	-		-

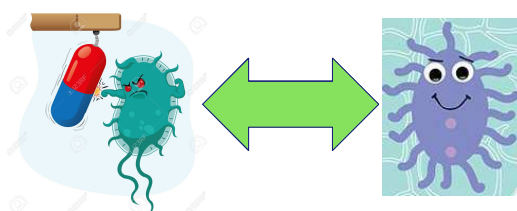
qnrS

9 novembre 2018

Batteri resistenti isolati

Pseudomonas
 Acinetobacter
 Enterobacteriacee
 Aeromonas
 Comamonas
 Flavobacteriaceae
 Brevundimonas
 Stenotrophomonas

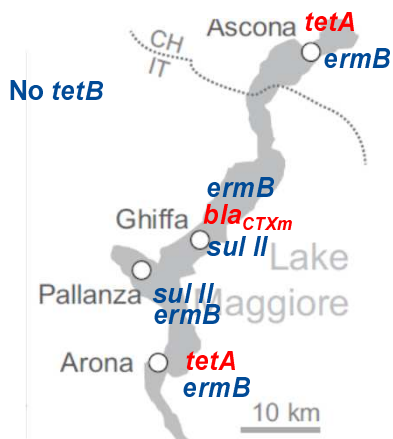
Klebsiella pneumoniae
ESBL



Immagini tratte da google

Confronti con i «vicini»

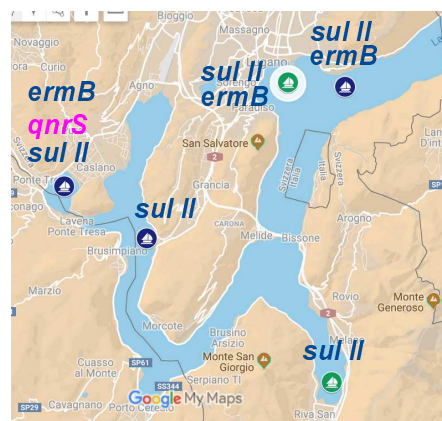
Lago Maggiore (dal 2013)



Di Cesare et al. (2015). Constitutive presence of antibiotic resistance genes within the bacterial community of a large subalpine lake. *Molecular Ecology*, 24(15), 3888–3900.

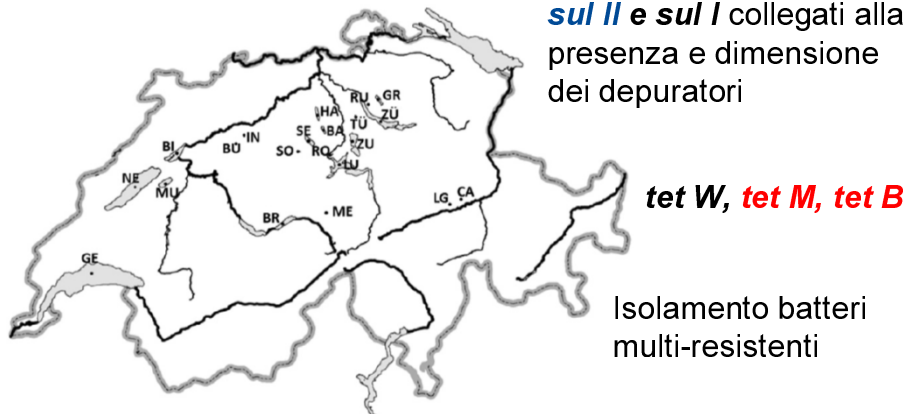
9 novembre 2018

Lago Ceresio (dal 2016)



Confronti con i «vicini»

21 laghi Svizzera interna



Cze kalski, N. et al. (2015). Does human activity impact the natural antibiotic resistance background? Abundance of antibiotic resistance genes in 21 Swiss lakes. *Environment International*, 81, 45–55.

Per concludere

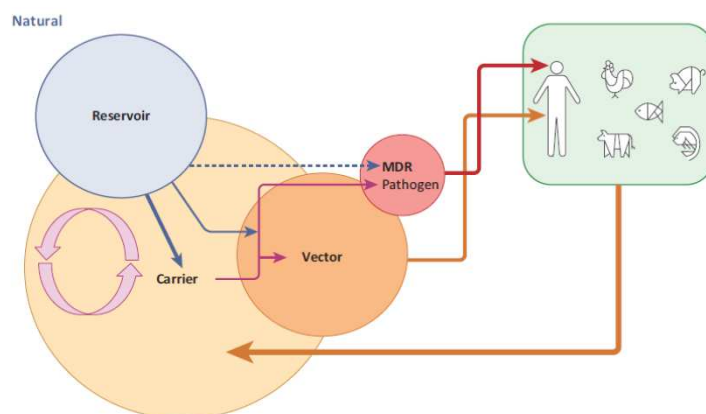
- **Ruolo dei depuratori** nella diffusione delle resistenze
 - Aumento nel Vedeggio
 - Presenza gene *sulII* = sulfamidici > 10 ng L⁻¹ (rapporto CIPAI 2013)
 - Diminuzione nel Cassarate (chiusura dell'impianto)
 - Riduzione resistenze nel punto di Lugano



Per concludere

- Valutazione del rischio
 - Abbondanza relativa? (2% sul totale)
 - Abbondanza assoluta? (10^4 copie/mL)
 - Presenza?

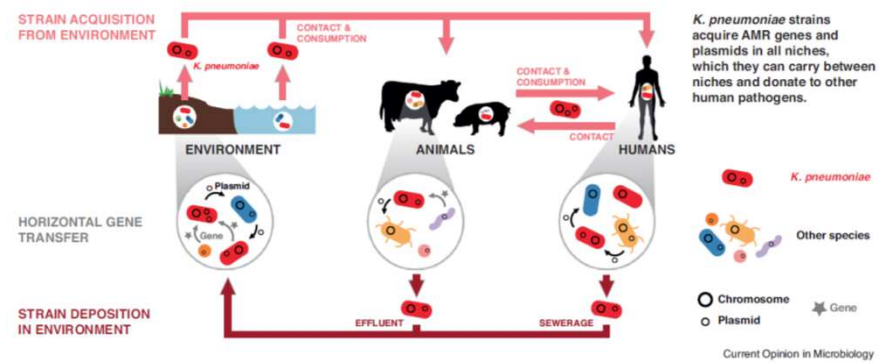
9 novembre 2018



Manaiia, C. M. (2017). Assessing the Risk of Antibiotic Resistance Transmission from the Environment to Humans: Non-Direct Proportionality between Abundance and Risk. *Trends in Microbiology*, 25(3), 173–181.

9 novembre 2018

Reservoirs	Mainly strictly environmental, harbour ARG that occasionally may be transferred, directly or indirectly, to clinically relevant bacteria
Carriers	Mainly environmental, with high capacity to acquire and transfer by horizontal gene transfer clinically relevant ARG
Vectors	Ubiquitous human-commensal and clinically relevant bacteria with high capacity to receive clinically relevant ARG by horizontal gene transfer
MDR pathogens	Vectors that may combine ARGs with virulence factors and that have a high capacity to infect and cause disease



Klebsiella pneumoniae

Wyres, K. L., & Holt, K. E. (2018). *Klebsiella pneumoniae* as a key trafficker of drug resistance genes from environmental to clinically important bacteria. *Current Opinion in Microbiology*, 45, 131–139.

9 novembre 2018

Per concludere

Come intervenire:

- Implementazione impianti di depurazione
- Monitoraggio
 - Geni rilevanti
 - Persistenti (*sull II*, *tetA*)
 - Frequenti (*qnrS*, *ermB*)
 - Emergenti (*bla_{OXA}*, *KPC*, *CTX-m*)
 - Batteri resistenti
 - Conosciuti (ESBL)
 - Emergenti (KPC)
 - Vettori (*Aeromonas*)

9 novembre 2018

SUPSI

23

Grazie per l'attenzione!



9 novembre 2018

SUPSI

24

Per discussione

- Portate dei fiumi diverse tra loro ma costanti negli anni
<http://www.oasi.ti.ch/web/dati/drologia.html>
- Precipitazioni <http://www.oasi.ti.ch/web/dati/meteo.html>
 - Lugano 2016 > 2017 > 2018
 - Bioggio 2016 < 2017 < 2018
- Abitanti allacciati ai depuratori
 - Lago Maggiore ~ 200
 - 172 impianti con < 10.000 abitanti allacciati
 - 14 impianti con allacciati tra i 10.000 e i 100.000 abitanti
 - 2 con > 100.000 abitanti allacciati
 - Lago Lugano ~ 21
 - 11 impianti con < 10.000 abitanti
 - 6 impianti con > 10.000 abitanti
 - 4 impianti con > 50.000 abitanti

9 novembre 2018