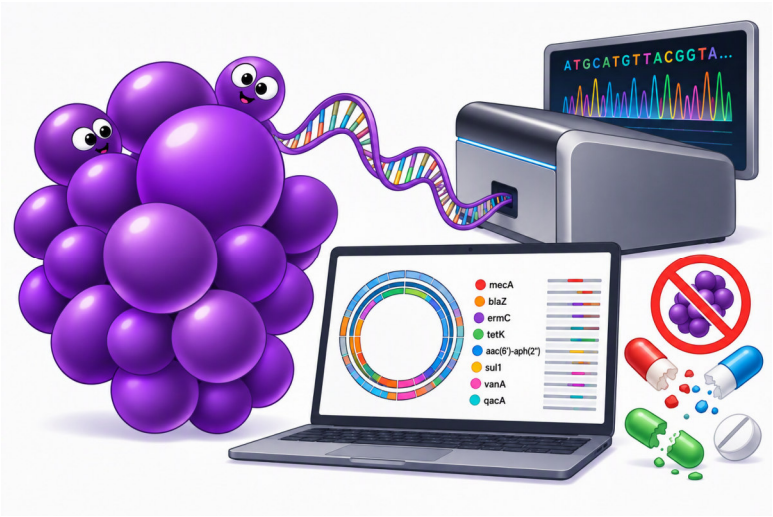
Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

CRAB
Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza



Applicazione del sequenziamento HTS per la caratterizzazione molecolare di *Staphylococcus aureus* e determinanti prioritari di antibiotico-resistenza in ottica *One Health*

Dott.ssa Elisa Cugini
Laboratorio di Riferimento nazionale (NRL-AR) e Centro di referenza nazionale per l'antibiotico-resistenza (CRN-AR)

Progetto IZS LT 06/25 RC
Responsabile scientifico dott.ssa M. Iurescia



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

CRAB
Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza

PNCAR

PNCAR: Piano Nazionale di Contrasto dell'antibiotico-resistenza 2022-2025

OBIETTIVO GENERALE

Ridurre e contenere la diffusione dei microrganismi resistenti agli antimicrobici e a preservare l'efficacia degli antibiotici

« Promuovere l'**uso appropriato** degli antibiotici e **contrastare** la diffusione dei microrganismi resistenti in ambito umano e animale, tramite la valutazione delle **interconnessioni** tra i ceppi batterici di origine umana, animale e degli alimenti derivati, in un'ottica integrata *One Health* »

- ☑ **Condivisione** e **integrazione** dei dati di antibiotico-resistenza
- ☑ Studi mirati per il **confronto** degli isolati resistenti
- ☑ **Armonizzazione** delle procedure per indagini intersettoriali

Fonte: https://www.salute.gov.it/new/sites/default/files/imported/C_17_pubblicazioni_3294_allegato.pdf



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

CRAB
Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza

Ricerca e innovazione

Il contrasto dell'antibiotico-resistenza non è un'attività isolata, ma si sviluppa attraverso una rete di **collaborazioni scientifiche e istituzionali** sia nazionali che europee

Iniziative per la ricerca e il contrasto all'antibiotico-resistenza:

☑ **Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza (PNRR) – Missione 4**

Mira a promuovere l'innovazione scientifica e tecnologica attraverso il potenziamento della ricerca di base e applicata in sinergia con università, enti di ricerca e soggetti pubblici o privati

→ **INF-ACT:** studio e contrasto delle malattie infettive emergenti e riemergenti

☑ **EU-JAMRAI**

☑ **EUPAHW**



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

CRAB
Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza

Come nasce questo progetto?

Piano Nazionale di Contrasto all'Antibiotico-Resistenza (**PNCAR**) 2022- 2025

✓ Strategia nazionale

⇨ Contrasto all'AMR e sorveglianza integrata secondo l'approccio *One Health*

Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza (**PNRR**)

✓ Ricerca e innovazione

⇨ Ricerca sulle infezioni emergenti e sui batteri resistenti agli antibiotici

«Sequenziamento HTS per la caratterizzazione molecolare di isolati di *Staphylococcus aureus* e determinanti prioritari di AMR»

☑ **Sorveglianza molecolare**
Caratterizzazione genomica

☑ **Ricerca sull'AMR**
Determinanti genetici di resistenza



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

CRAB
Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza

Perché il sequenziamento HTS di *Staphylococcus aureus*



- Infezioni nosocomiali
- Infezioni della cute
- Polmoniti, meningiti, endocarditi e osteomieliti



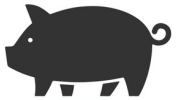
Occupational exposure to *Staphylococcus aureus* in the wastewater treatment plants environment

Anna Kozajda [1], Karolina Jeż
Affiliations + expand
PMID: 32401232 DOI: 10.1

Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) detected at four U.S. wastewater treatment plants

Rachel E Rosenberg Goldstein [1], Shirley A Micallef, Shawn G Gibbs, Johnnie A Davis, Xin He, Ashish George, Lara M Kleinfelter, Nicole A Schreiber, Sampa Mukherjee, Amir Sapkota, Sam W Joseph, Amy R Sapkota

Affiliations + expand
PMID: 23124279 PMCID: PMC3556630 DOI: 10.1289/ehp.1205436



- Impatto sulla salute animale
- Impatto sulle produzioni animali
- Trasmissione zoonotica uomo-animale



Alimenti di origine animale

- Impatto sulle produzioni alimentari
- Intossicazioni alimentari (enterotossine)

- ✓ **Identificare** la resistenza agli antibiotici
- ✓ **Comprendere** i meccanismi genetici alla base dell'AMR
- ✓ **Caratterizzare** i ceppi circolanti
- ✓ **Indagare** le correlazioni tra isolati di origine umana, animale e alimentare



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

CRAB
Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza

Rete operativa



UO1 (Coordinamento): IZSLT (Lazio/Toscana)

UO2: IZSLER (Lombardia/Emilia)

UO3: IZSPLV (Piemonte/Liguria/Valle d'Aosta)

UO4: IZSAM (Abruzzo/Molise)

UO5: IZSLT

UO6: ISS (Istituto Superiore di Sanità)

UO7: INMI Spallanzani

Approccio integrato One Health



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

CRAB
Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza

Struttura del progetto

3 WORK PACKAGES:

WP1: RACCOLTA
Mesi 1-6

Campionamento, selezione e phenotyping

WP2: GENOMICA
Mesi 6-18

Sequenziamento HTS e Analisi Bioinformatica

WP3:INTEGRAZIONE
Mesi 18-24

Database, Reporting e Disseminazione



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

CRAB
Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza

WP1: Raccolta e caratterizzazione fenotipica

Creazione file **`.xlsx`** condiviso per la raccolta standardizzata dei dati relativi agli isolati di origine animale, umana e alimentare in studio

Anno di isolamento	ID_isolato	Unità operativa	Regione provenienza isolato	Data di isolamento	Luogo di campionamento	Origine	Matrice	Origine e tipologia di campione
2021	21088281	IZSLT	Piemonte		commercio al dettaglio - 852	animale	carne	suino (Sus scrofa domesticus L.)
2021	21092301	IZSLT	Lombardia		commercio al dettaglio - 852	animale	carne	suino (Sus scrofa domesticus L.)
2021	21095462_15	IZSLT	Lazio		Allevamento	animale	encefalo	macako tonkeano (Macaca tonkeana)

MSSA / MRSA	mecA / mec	Disponibilità sequenza	Tipo di reads	Altri geni di resistenza	MLS
MRSA	mecA	SI	Short read /Long read	blaZ;grlA;gyrA	22
MRSA	mecA	SI	Short read /Long read	blaZ	22
	/	SI	Short read /Long read	blaZ;blaI;blaR1;catA;erm (B),ant(6)-Ia;sat4;aph(3')-	45
MRSA	mecA	SI	Short read /Long read	blaZ;tet(M);dfrK;erm(C);aac(6')-aph(2'')	753
MRSA	mecA	SI	Short read /Long read	blaZ;tet(M);dfrK;erm(B);vga(A)V	398

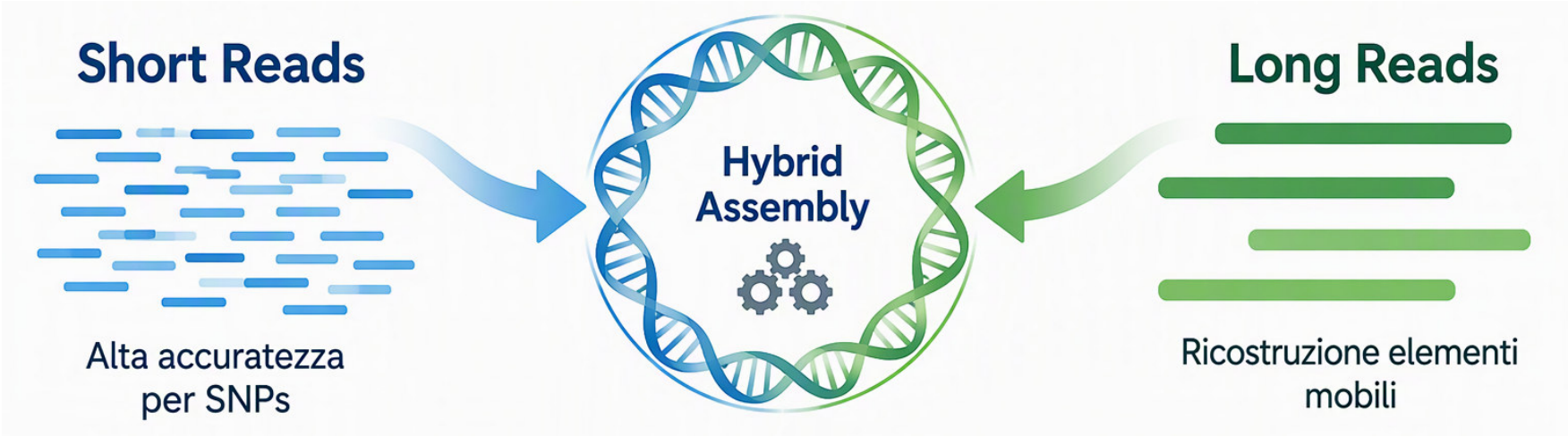


Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

CRAB
Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza

WP2: Sequenziamento e caratterizzazione genomica

- ☑ Estrazione del DNA ad alto peso molecolare (HMW)
- ☑ Sequenziamento Long Read & Short Read





Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

CRAB
Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza

Caratterizzazione genomica degli isolati



- ❑ Isolati di origine umana
- ❑ Isolati di origine alimentare
- ☑ Isolati di origine animale

Isolati sequenziati: **185**
- ✓ **143** isolati sequenziati Long read/Short read
- ✓ **42** isolati sequenziati Long read

- Multilocus sequence typing (MLST)
- Geni di resistenza antimicrobici (ResFinder)
- Mutazioni puntiformi associate alla resistenza agli antimicrobici (PointFinder)

In corso: PlasmidFinder, VirulenceFinder, spaTyper, SCCmecFinder



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

CRAB
Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza

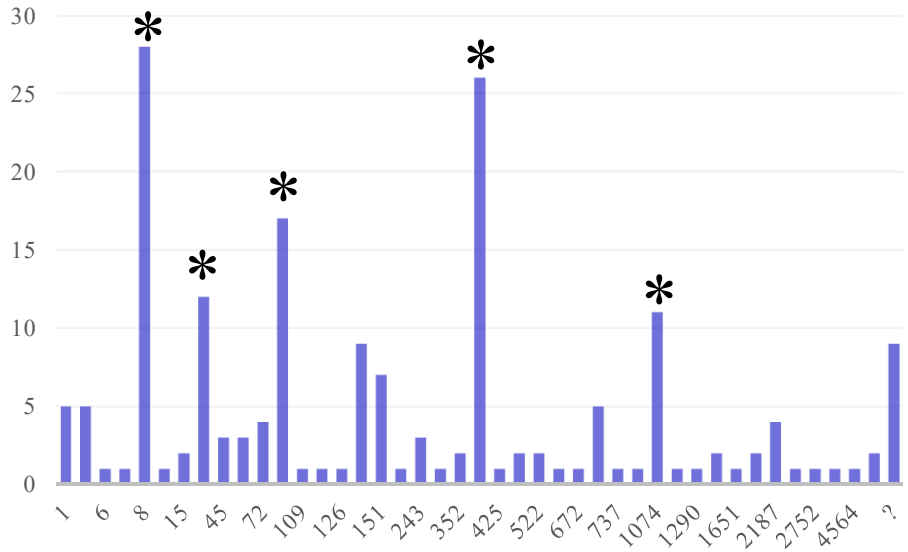
MLST: Risultati preliminari



Multilocus Sequence Typing (MLST)

176
MLST identificati

9
MLST non disponibili



Animali da compagnia

ST22 (28%)

ST398 (24%)

25 isolati



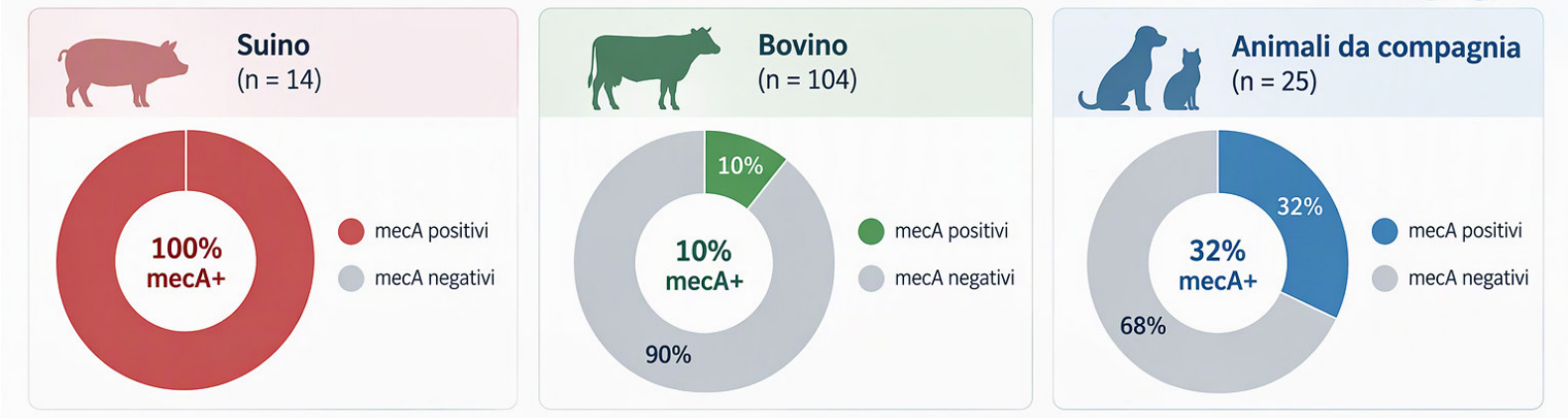
Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

CRAB
Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza

Antibiotico-resistenza: risultati preliminari



➡ *mecA* (**β-lattamici**)



➡ Altri determinanti di resistenza:

- *blaZ* (**β-lattamici**)
- *tet(M/K)* (**tetracicline**)
- *erm(A/C/T)* (**macrolidi, lincosamidi e streptogramine B**)
- *dfrG* (**trimetoprim**)
- mutazioni puntiformi nei geni *grlA* e *gyrA* (**fluorochinoloni**)



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

CRAB
Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza

CONCLUSIONI



- ✓ L'approccio *One Health* rappresenta uno strumento fondamentale per comprendere la diffusione dell'antibiotico-resistenza lungo l'interfaccia uomo-animale-ambiente.

- ✓ *S. aureus* costituisce un patogeno di interesse sanitario e veterinario, caratterizzato da una notevole capacità di acquisire e diffondere determinanti genetici di resistenza agli antimicrobici.

- ✓ L'applicazione del sequenziamento ad alta processività (HTS), permette la caratterizzazione genomica dettagliata degli isolati di *S. aureus*.

Il completamento delle attività progettuali consentirà di integrare dati epidemiologici, fenotipici e genomici contribuendo al **rafforzamento della sorveglianza molecolare** e delle **strategie di contrasto dell'antibiotico-resistenza** in piena coerenza con la prospettiva *One Health*



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

CRAB
Centro di Referenza Nazionale
per l'Antibioticoresistenza

GRAZIE PER L'ATTENZIONE

