

UTILIZZO DEI DATI DI LABORATORIO PER LA FARMACOVIGILANZA POSSIBLE USE OF LABORATORY DATA FOR PHARMACOVIGILANCE

Marco Tamba, Maria Cristina Fontana, Lia Bardasi

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna - Sezione di Bologna

Parole chiave: Antibiogramma, farmacovigilanza, farmaco-resistenza

Keywords: Antibiogram, Pharmacovigilance, Drug-resistance

Summary

The Pharmacovigilance is defined as the control on the undesirable effects on animals and people, due to the use of drugs. Among undesirable effects, there are lack of efficacy and development of drug-resistance. In the present paper, we point out a possible use of data from Diagnostic Veterinary Labs activities for monitoring microbial drug-resistance.

We analysed the results of antibiograms carried out on *E. coli* strains isolated from bovine milk, rabbits, and pets (dogs and cats). For each species, we produced a table reporting tested drugs, resulting percentage of resistance, and variations in efficacy of the drug in respect to the previous 4-months period. Furthermore, we showed variations in the occurrence of multi-resistance strains (strains resistant to 4 or more drugs).

Our results showed that even remarkable variations of drug resistance may occur among 4-months periods. This result suggests that a continuous monitoring of drug-resistance is needed, in order to identify the more effective antibiotics *in vitro*, so to allow a correct rotation of drugs.

With the exception of *E. coli* strains isolated from bovine milk, our results do not indicate any increase in the occurrence of multi-resistance strains in the species analysed. Nevertheless, remarkable differences in the occurrence of multi-resistance strains were found between species: over 60% of the strains isolated from bovine milk resulted multi-resistant, slightly lower values were found in rabbits, while multi-resistant strains in pets were never above 30% of occurrence.

The latter result appears very important because the close relation between people and pets, may lead to of microbial exchange and drug-resistance transfer.

Introduzione

La Farmacovigilanza viene definita come l'attività di controllo sugli effetti indesiderati sugli animali e sull'uomo derivanti dall'uso di prodotti farmaceutici¹.

Tra gli effetti indesiderati dei farmaci vi sono gli effetti collaterali, la mancanza di efficacia e la induzione di farmacoresistenza.

In questa sede si tralascia la descrizione degli effetti collaterali e del flusso informativo attivato in Italia per la loro segnalazione e la registrazione² per illustrare una proposta di utilizzo dei dati dei Laboratori di Diagnostica Veterinaria volta alla evidenziazione dei fenomeni di farmaco resistenza nei confronti degli antibiotici.

Ai laboratori diagnostici, infatti, vengono costantemente inviati campioni di materiale patologico per una diagnosi eziologica e per avere indicazioni terapeutiche individuate, nel caso di malattie batteriche, per mezzo degli antibiogrammi.

Nella presente nota viene proposta una modalità di utilizzo dei dati degli antibiogrammi per il costante monitoraggio delle resistenze agli antibiotici.

Materiali e metodi

Sono stati analizzati i dati relativi agli antibiogrammi eseguiti su ceppi di *E. coli* isolati da bovine con mastite, da conigli e da pets (cani e gatti) presso la sezione di Bologna dell'IZSLER nel periodo 1.1.96 - 30.4.98.

Gli antibiogrammi sono stati effettuati secondo la procedura Kirby-Bauer³. La sensibilità agli antibiotici dei ceppi in esame è stata valutata in base alla misurazione dell'alone di inibizione (specifico per ciascuna molecola testata) ed espressa con S (sensibile), I (intermedio), R (resistente).

I risultati degli antibiogrammi sono stati archiviati su supporto informatico insieme ai dati relativi al ceppo isolato ed alla tipologia di campione esaminato.

I dati così archiviati sono stati elaborati mediante procedure automatiche appositamente preparate.

Per ciascun ceppo batterico sono quindi stati analizzati i dati, suddivisi per quadrimestre, e prodotte tabelle relative alle molecole testate ed alla percentuale di ceppi riscontrati resistenti. I risultati sono stati confrontati con quelli relativi al quadrimestre precedente per evidenziare eventuali variazioni di efficacia della molecola.

E' stata inoltre calcolata la percentuale di ceppi multiresistenti. Sono stati considerati multiresistenti i ceppi batterici risultati resistenti a 4 o più molecole ad antibiogrammi mirati (es. isolati da cani e gatti). Nel caso di germi isolati dal latte bovino, invece, poiché gli antibiogrammi vengono eseguiti su schemi prefissati, che prevedono l'utilizzo anche di molecole per le quali vi è resistenza "naturale" (es. Penicillina per *E. coli*) sono stati considerati multiresistenti i ceppi batterici risultati resistenti a 6 o più molecole.

Per valutare eventuali variazioni della incidenza di questi ceppi, infine, è stata calcolata la media mobile su base 3 (corrispondente ad un anno) delle percentuali di ceppi multiresistenti riscontrati ogni quadrimestre.

Risultati

Nelle tabelle da 1 a 3 sono stati rappresentati i risultati degli antibiogrammi effettuati su ceppi di *Escherichia coli* isolati rispettivamente da latte di bovine con mastite, da conigli e da pets (cani e gatti); i principi attivi esaminati sono quelli previsti da protocolli diagnostici standard del laboratorio o, nel caso del latte bovino, reperibili dal commercio. Questo spiega come talvolta vengano utilizzate per l'antibiogramma molecole per le quali il germe è naturalmente resistente.

Dall'esame delle tabelle si evince che l'efficacia di una molecola può variare sensibilmente da un quadrimestre all'altro, subendo variazioni anche notevoli in un senso o nell'altro.

Si può anche notare come sia limitato il numero di molecole efficaci su tutti i ceppi testati: nel I quadrimestre 1998, solamente l'acido oxolinico ha mostrato questa proprietà.

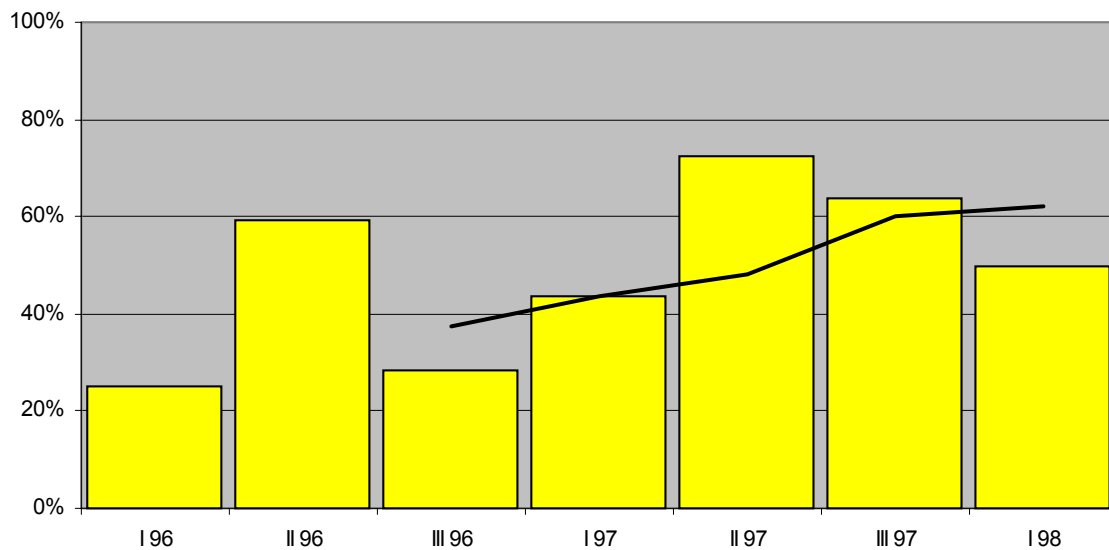
Nelle figure da 1 a 3 sono state riportate le percentuali di ceppi multiresistenti riscontrate nelle diverse specie negli ultimi due anni.

L'incidenza di ceppi di *E. coli* multiresistenti è rimasta a valori costanti intorno al 20% nei pets, al 50% nei conigli, mentre è stato rilevato un aumento dei ceppi resistenti isolati da latte bovino: dal 48% registrato nel 1996 al 64% del I quadrimestre 1998.

Tab. 1 - Resistenza agli antibiotici di ceppi di *E. coli* isolati da latte bovino. I quadr. 98

Antibiotici	Tot. ceppi	Ceppi S	Ceppi R	% ceppi R	Delta ceppi R	Efficacia
Amoxicillina	35	20	11	31,4%	-2,9%	↑
Ampicillina	1	1	0	0,0%	-40,6%	↑
Cefalotina	34	29	3	8,8%	-3,7%	↑
Cefapirina	35	16	15	42,9%	-10,3%	↑
Cefoperazone	23	23	0	0,0%	0,0%	↔
Cloxacillina	35	0	35	100%	3,1%	↓
Enrofloxacin	29	29	0	0,0%	-3,3%	↑
Kanamicina	35	33	1	2,9%	-3,4%	↑
Lincosamide+ Spectinomicina	35	34	1	2,9%	-7,9%	↑
Mamyzin	34	33	1	2,9%	-3,5%	↑
Nafcellina+Pen. +Streptomicina	20	14	5	25,0%	-12,5%	↑
Neomicina	31	30	0	0,0%	-6,5%	↑
Penicillina	32	0	32	100%	6,3%	↓
Rifaximina	35	11	21	60,0%	16,3%	↓
Spiramicina	24	3	20	83,3%	15,5%	↓
Tetramicina	33	11	18	54,5%	-13,6%	↑
Tylosina	35	1	34	97,1%	-2,9%	↑

Fig. 1 - Incidenza di ceppi multiresistenti di *E. coli* isolati da latte bovino. I quadr. 96 - I quadr. 98



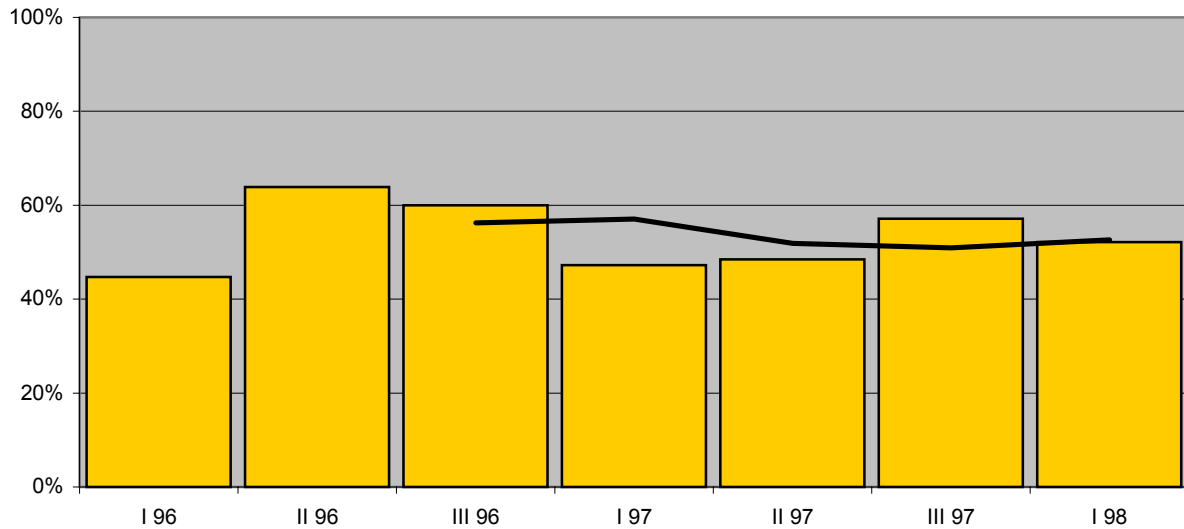
Come si leggono le tabelle

Tot. Ceppi = Numero ceppi esaminati per quella molecola
Ceppi S = N. ceppi riscontrati sensibili
Ceppi R = N. ceppi riscontrati resistenti
% ceppi R = Percentuale dei ceppi resistenti sugli esaminati
Delta ceppi R = Differenza con le percentuali di ceppi R riscontrate nel quadrimestre precedente
Efficacia = Variazione della efficacia della molecola rispetto al quadrimestre precedente (↑ in aumento; ↔ stabile; ↓ in diminuzione).

Tab. 2 - Resistenza agli antibiotici di ceppi di *E. coli* isolati da conigli. I quadr. 98

Antibiotici	Tot. ceppi	Ceppi S	Ceppi R	%ceppi R	Delta ceppi R	Efficacia
Aminosidina	23	18	5	21,7%	12,2%	↓
Apramicina	23	17	6	26,1%	21,3%	↓
Flumequina	23	19	4	17,4%	3,1%	↔
CAF	20	17	3	15,0%	-4,0%	↔
Colimicina	23	23	0	0,0%	0,0%	↔
Enrofloxacin	21	16	4	19,0%	4,0%	↔
Gentamicina	23	15	7	30,4%	16,1%	↓
Neomicina	20	13	6	30,0%	20,5%	↓
Ac.nalidixico	2	2	0	0,0%	-100%	↑
Ac.oxolinico	2	2	0	0,0%	-100%	↑
Spiramicina	13	0	13	100%	7,1%	↓
Sulfadimetossina + Trimethoprim	23	16	7	30,4%	-2,9%	↔
Tetraciclina	2	0	2	100%	0,0%	↔
Tiamfenicolo	2	0	0	0,0%	-100%	↑
Tilmicosina	21	1	18	85,7%	-14,3%	↔
Tiamulina	21	6	14	66,7%	-18,3%	↑

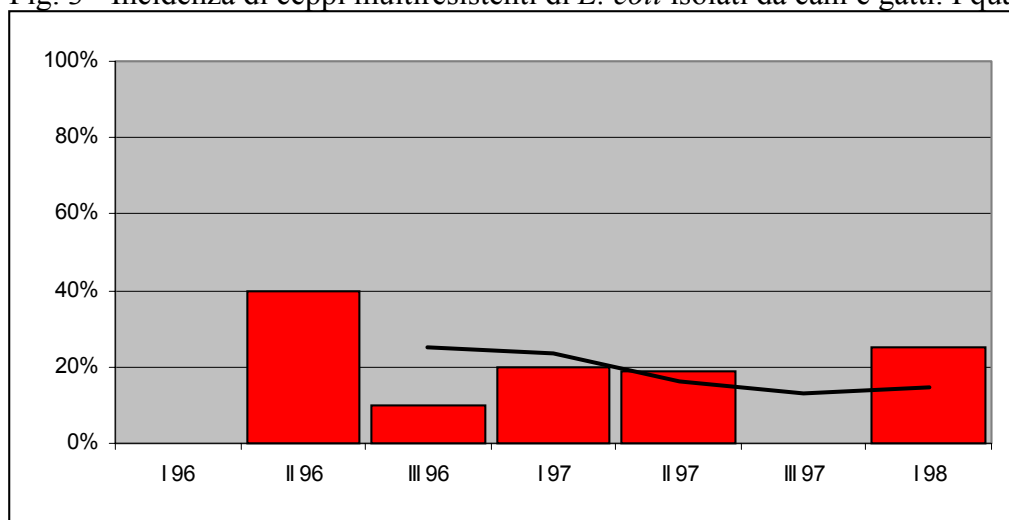
Fig. 2 - Incidenza di ceppi multiresistenti di *E. coli* isolati da conigli. I quadr. 96 - I quadr. 98



Tab. 3 - Resistenza agli antibiotici di ceppi di *E. coli* isolati da cani e gatti. I quadr. 98

Antibiotici	Tot. ceppi	Ceppi S	Ceppi R	%ceppi R	Delta ceppi R	Efficacia
Acido nalidissico	2	1	1	50,0%	50,0%	↓
Acido oxolinico	2	2	0	0,0%	0,0%	↔
Aminosidina	3	3	0	0,0%	-16%	↑
Amoxicillina	1	1	0	0,0%	0,0%	↔
Apramicina	3	3	0	0,0%	0,0%	↔
Cefoperazone	2	2	0	0,0%	0,0%	↔
CAF	4	3	1	25,0%	25,0%	↓
Colimicina	2	1	1	50,0%	50,0%	↓
Enrofloxacin	3	3	0	0,0%	0,0%	↔
Flumequina	2	1	0	0,0%	0,0%	↔
Gentamicina	4	3	0	0,0%	0,0%	↔
Kanamicina	1	1	0	0,0%	n.v.	↔
Neomicina	2	2	0	0,0%	0,0%	↔
Nitrofuranci	3	1	2	66,7%	50,0%	↓
Sulfadiazina + Thrimetroprin	4	1	2	50,0%	33,3%	↓
Tetramicina	3	0	3	100%	66,7%	↓
Tiamfenicolo	3	1	1	33,3%	0,0%	↔

Fig. 3 - Incidenza di ceppi multiresistenti di *E. coli* isolati da cani e gatti. I quadr. 96 - I quadr. 98



Discussione

Dall'analisi delle tabelle è possibile evidenziare come vi possono essere variazioni di resistenza verso le singole molecole anche notevoli da un quadrimestre all'altro; il monitoraggio costante delle resistenze si rende pertanto utile nell'individuazione del momento in cui effettuare una corretta rotazione dei farmaci e nella definizione delle molecole da impiegare.

Le tabelle presentate possono inoltre essere utilizzate per gli animali da reddito non solo per la determinazione delle molecole più efficaci, ma anche per individuare quelle di più probabile utilizzo e che possono essere presenti come residuo negli alimenti di origine animale.

La selezione di ceppi multiresistenti mediante l'utilizzo indiscriminato di antibiotici nell'allevamento animale è un effetto indesiderato dell'uso degli antibiotici sempre più temuto; dall'analisi dei grafici, pur con i limiti dovuti all'esiguo numero di ceppi esaminati ed al

relativamente breve periodo di osservazione, non pare che vi sia un aumento dell'incidenza di questi ceppi negli animali, fatta forse eccezione per *E. coli* nel latte bovino.

Sono invece state rilevate importanti differenze nella percentuale di ceppi multiresistenti di questo batterio tra gli isolati provenienti dagli animali da reddito (bovini e conigli) e da animali da compagnia (cani e gatti): oltre il 60% dei ceppi isolati da bovini risulta multiresistente, su valori leggermente inferiori si attestano i ceppi isolati dai conigli, mentre le percentuali dei ceppi multiresistenti isolati da cani e gatti non superano mai il 30%; questo è molto importante in quanto la stretta convivenza di queste ultime specie con l'uomo può portare a scambi di flora microbica con relativo trasferimento delle farmacoresistenze.

Il sistema presentato vuole essere solamente un esempio di come sia possibile usare i dati di laboratorio per la farmacovigilanza, infatti, nei casi illustrati il numero di ceppi esaminati nel quadrimestre è esiguo e non permette di ricavare informazioni attendibili. Questo limite potrebbe essere facilmente superato attraverso l'elaborazione presso un unico Centro di dati provenienti da più laboratori collegati in rete (es. Sezioni Diagnostiche degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali di una Regione).

Bibliografia

¹ Atti del seminario sulla farmacovigilanza. 3-6 giugno 1996. ISS Roma.

² Nota Min. Sanità 5 maggio 1995, prot. 600.9/24320/ AG76/1367.

³ G.R. Carter, Cole J.R. (1990). Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology. Academic Press Inc., San Diego CA, USA, pagg. 483-486.