

INDAGINE SU BIOSICUREZZA E CONSUMO DI ANTIMICROBICI IN 25 ALLEVAMENTI SUINI DA INGRASSO: CONFRONTO TRA DIVERSI STANDARD DI MISURAZIONE

SCALI F.^[1], GIACOMINI E.^[1], LAZZARO M.^[1], VEZZOLI F.^[1], ROSIGNOLI C.^[1],
PATERLINI F.^[1], NIGRELLI A.^[1], BOLDINI M.^[1], PRATI P.^[1], PAOLO P.^[2],
VITALI A.^[3], ALBORALI G.L.^[1]

^[1]Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lombardia Emilia Romagna ~ Brescia ~ Italy,

^[2]Istituto Superiore Sanità ~ Roma ~ Italy,

^[3]Unità Organizzativa Veterinaria - Regione Lombardia ~ Milano ~ Italy

Keywords: antimicrobials, biosecurity, DDD

Riassunto

Gli antimicrobici trovano largo impiego nell'allevamento suinicolo ed i fenomeni di antibiotico resistenza destano sempre più preoccupazione. La riduzione dell'uso di antimicrobici è possibile soltanto attraverso un efficace sistema di monitoraggio, basato su standard affidabili, che consideri anche di altri parametri che potrebbero influenzare i consumi. Lo scopo di questo studio è identificare potenziali standard e valutare il rapporto tra consumi, dimensioni aziendali e biosicurezza. I consumi di 25 allevamenti da ingrasso sono stati analizzati utilizzando tre unità di misura: milligrammi di principio attivo consumati per produrre un chilogrammo di carne (mg PA / kg carne), Defined Daily Doses Animal for Italy (DDDAit) e Defined Course Doses Animal for Italy (DCDAit). Quattro indicatori derivati da DDDAit/DCDAit sono stati identificati: giorni/anno, cicli/anno, DDDAit e DCDAit consumate per suino prodotto. La biosicurezza è stata analizzata con un questionario. I consumi medi sono risultati: 20,19 giorni/anno, 3,73 cicli/anno, 134 mg Pa / kg carne, 2.112 DDDAit e 390 DCDAit per suino. Nessuna correlazione è stata individuata tra biosicurezza, consumi e dimensioni aziendali. Gli indicatori basati su DDDAit/DCDAit forniscono utili informazioni sul consumo di antibiotici, tuttavia, sono necessarie ulteriori indagini con un campione più ampio ed un maggior approccio integrato che consideri nuovi parametri da analizzare ed ampli i dati raccolti su quelli già inclusi.

Abstract

Antimicrobials (Ams) are widely used in pig farms and antimicrobial resistance in an increasingly serious menace. A monitoring system is pivotal to reduce Ams consumption. An efficient system must be based on reliable standards and it should consider other parameters that can increase Ams usages. The aim of this study was to identify potential standards of measurement. Correlations between Ams consumption, biosecurity and farm size were also evaluated. Three units of measurement were used to assess Ams consumption in 25 fattening pig farms: milligrams of active ingredient consumed to produce a kilogram of meat (mg AI / kg meat), Defined Daily Doses Animal for Italy (DDDAit) e Defined Course Doses Animal for Italy (DCDAit). Four indicators, based on DDDAit/DCDAit, were also identified: days/year, cycles/year, DDDAit and DCDAit used per pig produced. Biosecurity levels were evaluated via questionnaire. Mean Ams consumptions were: 20.19 days/year, 3.73 cycles/year, 134 mg AI / kg meat, 2,112 DDDAit and 390 DCDAit per pig. No correlations were founded between Ams consumption, biosecurity and farm size. Indicators based on DDDAit/DCDAit can provide useful data on Ams

usages. Further studies with a larger sample size are required to assess correlations between Ams usages and other parameters. In addition, an integrated approach should be used, with the inclusion of new parameters analyzed and more data collected on the ones already considered in this study.

INTRODUZIONE:

Nell'allevamento suinicolo italiano viene fatto un ampio utilizzo di antibiotici e, nel corso degli anni, il fenomeno dell'antibiotico-resistenza ha subito un preoccupante incremento (3). I geni di resistenza possono essere trasmessi per via cromosomica o, in maniera molto più rapida e diffusiva, attraverso elementi genetici mobili (8). Le conseguenze di tali fenomeni non sono tuttavia limitate all'allevamento suino ma possono interessare anche la salute umana, come evidenziato anche dalla recente scoperta del gene di resistenza alle polimixine *mcr-1* identificato in campioni di origine sia suina che umana ed in grado di trasmettersi rapidamente, attraverso un plasmide, tra diverse enterobatteriacee (6). L'implementazione di azioni atte a ridurre l'uso di antibiotici è fondamentale per conservarne l'efficacia e per preservare la salute pubblica; tuttavia, tali azioni non possono essere intraprese senza un solido sistema di controllo (4). Durante l'ultimo decennio sono stati definiti diversi indicatori per il monitoraggio del consumo di antibiotici in ambito veterinario, tra questi, i principali (2, 5, 7, 9, 10, 12) sono derivati delle Defined Daily Dose (DDD) umane ideate dall'Organizzazione Mondiale della Sanità; ciò nonostante, allo stato attuale uno standard internazionale univoco per la medicina veterinaria non è ancora stato identificato. In fine, le politiche atte alla riduzione dei consumi, per essere efficaci, dovrebbe prevedere un approccio integrato che tenga conto di ulteriori parametri quali la biosicurezza, le produzioni, il benessere e la sanità animale (1). Lo scopo di questo studio è identificare potenziali standard per il monitoraggio dei consumi di antibiotici e valutare, in maniera preliminare, il rapporto tra tali consumi e altri parametri dell'allevamento quali dimensioni aziendali (sulla base delle produzioni annuali) e livelli biosicurezza.

MATERIALI E METODI:

Campionamento e raccolta dati Un campione di convenienza, costituito da 25 allevamenti, è stato selezionato per testare il sistema; tutte le aziende incluse nel campionamento dovevano rispettare tre criteri: indirizzo produttivo ingrasso, ubicazione in Regione Lombardia, produzione minima 900 suini per anno. Le aziende coinvolte nello studio sono state visitate, durante il 2015, da due operatori (un veterinario ASL ed uno IZSLER) che hanno provveduto a raccogliere retrospettivamente dati relativi al consumo di antibiotici per il 2014 e informazioni sulle produzioni, quali, il numero di animali allevati e macellati nel 2014 ed il loro peso alla vendita. Tali operatori, durante la visita aziendale, hanno inoltre somministrato all'allevatore un questionario sul tema della biosicurezza. La raccolta dati in campo è avvenuta tramite un'applicazione informatica compatibile con i principali sistemi operativi (Windows, iOS, Android) ed utilizzabile sia su tablet sia su computer portatile, secondo le preferenze dell'operatore. I dati così raccolti sono stati quindi immagazzinati in un apposito database XML. **Calcolo dei consumi di antibiotico** I consumi di antimicrobici a livello aziendale sono stati misurati attraverso tre indicatori: i milligrammi di principio attivo consumati per produrre un chilogrammo di carne (mg PA / kg carne), le Defined Daily Doses Animal for Italy (DDDAit) e le Defined Course Doses Animal for Italy (DCDAit). La DDDAit di un antibiotico è stata definita come la quantità (mg) giornaliera di principio attivo da somministrare per kg di peso vivo, secondo la prescrizione indicata dal prontuario ministeriale o dalle caratteristiche del prodotto (CP); qualora la posologia

fosse espressa in Unità Internazionali, si è proceduto alla conversione in mg seguendo gli standard dell'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA/88728/2012). La DCDAit è stata calcolata moltiplicando la DDDAit per la durata (giorni) del trattamento sempre secondo la prescrizione indicata dal prontuario ministeriale o dalle CP. Il database XML è stato impostato per il calcolo automatico dei consumi annuali di DDDAit e DCDAit, secondo la seguente formula: $(PA \text{ consumato [mg per anno]}) / (DDDAit \text{ o } DCDAit)$. I consumi annuali sono stati inoltre rapportati alle dimensioni aziendali calcolando sia la quantità di DDDAit e DCDAit consumate per suino prodotto sia il numero medio di giorni e cicli di trattamento cui ogni suino allevato è stato potenzialmente esposto. Tali calcoli sono stati effettuati con Microsoft Excel 2010, previa estrazione dei dati dal database XML; nel caso di DDDAit e DCDAit per suino prodotto secondo la seguente formula: $(DDDAit \text{ o } DCDAit [\text{consumo annuale}]) / (N^\circ \text{ di suini prodotti})$. Per quanto riguarda la stima dei giorni e dei cicli medi annuali è stato stabilito un peso mediano al trattamento pari a 100 kg ed i consumi sono stati calcolati secondo la seguente formula: $(DDDAit \text{ o } DCDAit [\text{consumo annual}]) / (N^\circ \text{ di suini allevati} \times 100)$.

Biosicurezza

Il livello di biosicurezza aziendale è stato analizzato con l'ausilio di un questionario (disponibile su richiesta) costituito da 34 domande a risposta multipla, 29 di carattere generale e cinque specifiche per l'ingrasso. Il punteggio di un allevamento veniva espresso in percentuale sul massimo ottenibile ed era tanto più elevato quanto migliore era il livello di biosicurezza di tale azienda.

Analisi Statistica

La distribuzione delle variabili relative alla produzione di carne, i livelli di biosicurezza e gli indicatori di consumo del farmaco è stata verificata col test omnibus di D'Agostino e Pearson (K2); la presenza di eventuali valori anomali (outliers) è stata indagata col metodo ROUT (robust regression and outlier removal). La correlazione tra produzione, biosicurezza e consumi di antimicrobici è stata analizzata secondo l'indice di correlazione per ranghi di Spearman o l'indice di correlazione lineare di Pearson. Tutte le analisi statistiche sono state svolte con GraphPad Prism 6.05.

RISULTATI E DISCUSSIONE:

Caratteristiche aziendali

I risultati produttivi delle aziende incluse nello studio sono riportati in tabella 1. La produzione complessiva è stata, per l'anno in analisi, pari a 25.684 tonnellate di carne (media 1.027, minimo 163, massimo 2.685) e 150.424 suini (media 6.017, minimo 961, massimo 15.798) con un peso medio di 170,74 kg (minimo 160, massimo 180,63). I suini allevati, compresi scarti e morti, sono risultati in totale 157.853 (media 6.314, minimo 1.057, massimo 16.588). Il punteggio medio, conseguito dagli allevamenti, relativamente al questionario biosicurezza è stato 64,1 (minimo 48,9, massimo 82,6).

Consumo antibiotici

I consumi di antibiotico nelle aziende incluse nello studio sono riportati in tabella 1. I giorni medi di terapia annui sono stati pari a 20,19 (minimo 4,09, massimo 58,94); i cicli medi 3,73 (minimo 0,57, massimo 12,41) ed i mg di PA consumati per produrre un kg di carne si sono attestati in media a 134 (minimo 20, massimo 393). Gli allevamenti indagati hanno utilizzato in media 2.112 DDDAit (minimo 422, massimo 6.119) e 390 DCDAit (minimo 58, massimo 1.288).

	Totale	Media	Mediana	Minimo	Massimo
Carne prodotta (t)	25.684	1.027	963	163	2.686
Suini macellati	150.424	6.017	5.685	961	15.798
Suini prodotti	157.853	6.314	5.995	1.057	16.588
Biosicurezza	NA	64,1	64,1	48,9	82,6
PA consumato (kg)	3.885	155,4	95,5	5,6	759,8
DDDAit (migliaia)	350.275	14.011	9.220	693	68.208
DCDAit (migliaia)	64.704	2.588	1.864	96	14.362
Mg PA / kg carne	NA	134	108	20	393
Giorni / anno	NA	20,19	16,82	4,09	58,94
Cicli / anno	NA	3,73	3,03	0,57	12,41
DDDAit / suino	NA	2.112	1.812	422	6.119
DCDAit / suino	NA	390	322	58	1.288

Tabella 1: produzioni aziendali, livelli di biosicurezza e consumi farmaco

La distribuzione dei consumi, secondo la tipologia di somministrazione, e le differenze tra i vari indicatori sono riportate nella tabella 2. Nel caso delle DDDAit, le somministrazioni sono risultate così divise: 5,8% iniettabili, 11,2% polveri orali, 15,2% soluzioni orali, 67,8% premix. Le aziende in esame hanno utilizzato, nell'arco del 2014, complessivamente 28 PA diversi; di questi i cinque più consumati sono risultati amoxicillina, lincomicina, tiamulina, clortetraciclina e doxiciclina secondo tutti gli indicatori adottati. Tuttavia, si sono registrate delle differenze tra le modalità di misura dei consumi da un minimo dello 0,6% fino ad un massimo dell'86,5% (vedi tabella 2).

	Mg (%)	DDDAit (%)	DCDAit (%)	Variaz. (%) DDDAit/mg	Variaz. (%) DCDAit/mg	Variaz. (%) DDDAit/DCDAit
Iniettabili	2,1	3,4	5,5	57,9	156,7	-38,5
Polveri OS	11,2	10,8	11,2	-3,4	0,5	-3,8
Soluzioni OS	9,9	12,7	14,2	27,9	42,7	-10,4
Premix	76,8	73,2	69,2	-4,7	-9,9	5,8
Amoxicillina	22,0	13,7	13,7	-37,5	-37,5	0,0
Lincomicina	15,0	15,1	8,1	0,6	-46,1	86,5
Tiamulina	13,8	25,7	28,6	85,9	106,9	-10,2
Clortetraciclina	14,4	7,0	7,9	-51,5	-44,7	-12,3
Doxiciclina	12,2	12,9	11,9	6,0	-2,7	9,0

Tabella 2: confronto tra distribuzioni e variazioni dei consumi secondo diversi standard di misurazione, stratificati per tipologia di somministrazione e cinque PA più utilizzati

Distribuzione dei risultati e correlazioni

La produzione di carne ed i punteggi relativi alla biosicurezza sono risultati normalmente distribuiti (p-value rispettivamente 0,3579 e 0,7328) mentre i consumi di farmaco hanno mostrato una certa asimmetria. Tuttavia, senza il riscontro di outliers.

La produzione di carne non è risultata correlata né con i livelli di biosicurezza né con i

consumi di antibiotico; inoltre, non si è rilevata alcuna correlazione tra biosicurezza e consumi per le aziende indagate.

Importanza e limiti degli standard DDDA/DCDA

Il limite principale degli indicatori di consumo tarati sul volume o sulla massa consumata, come nel caso dei mg PA / kg carne, è noto ormai da alcuni anni (5) ed è alla base di delle discrepanze tra mg utilizzati e DDDAit (o DCDAit) illustrate nella tabella 2. Gli standard di misura volumetrici, infatti, non tengono conto della potenza dei diversi PA, problematica particolarmente evidente per i farmaci iniettabili di più recente introduzione come marbofloxacina, tulatromicina o tildipirosina. Pertanto, a fronte di una riduzione dei mg consumati può, paradossalmente, verificarsi un aumento del numero di somministrazioni per capo. Un altro limite considerevole dei mg PA / kg carne è legato all'indirizzo produttivo dell'azienda, nelle aziende da riproduzione, ad esempio, dove la produzione di carne è relativamente limitata, i trattamenti sui riproduttori potrebbero far innalzare notevolmente l'indicatore mg PA / kg carne pur mantenendo, a livello di dosi somministrate, consumi inferiori ad un ingrasso.

La messa a punto di un sistema di monitoraggio che impieghi standard di misurazione basati sulle dosi giornaliere non presenta le problematiche legate agli indicatori volumetrici; inoltre, l'implementazione di misurazioni che tengano conto anche dei cicli terapeutici può fornire utili indicazioni sulla durata trattamenti utilizzati (vedi differenze DDDAit e DCDAit in tabella 2). Tuttavia, anche i sistemi basati sugli standard DDD/DCD presentano dei limiti rilevanti poiché sono impostati sulle posologie definite per legge e non tengono conto dei dosaggi realmente somministrati agli animali allevati. Studi effettuati in Germania e Belgio sulla relazione tra dosi reali e dosi definite hanno evidenziato una tendenza a sovradosare gli antibiotici iniettabili e sottodosare quelli somministrati per OS (7, 11); alcuni Autori hanno quindi proposto di adottare un ulteriore indicatore che prenda in considerazione il rapporto tra dosi reali e dosi definite (11), tuttavia, l'implementazione di tale indicatore in un sistema di monitoraggio dei consumi su larga scala (regionale o nazionale) non risulta tecnicamente possibile.

Prospettive future verso uno standard comunitario ed un approccio integrato

L'adozione di un sistema di monitoraggio del consumo di antibiotici basato sulle DDD/DCD rappresenterebbe un utile compromesso per ovviare da un lato alla scarsa precisione degli indicatori basati sulla massa e dall'altro ai limiti tecnici delle misurazioni sui consumi reali per singolo animale. Inoltre, tale sistema preparerebbe il nostro Paese all'adozione dei futuri standard Comunitari, DDDvet e DCDvet, i cui principi fondanti sono già stati stabiliti dall'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA/710019/2014). Lo studio attuale non ha evidenziato correlazioni statisticamente significative tra produzioni di carne (parametro scelto come indicatore delle dimensioni aziendali), biosicurezza e consumi; tuttavia, un campionamento limitato a soli 25 allevamenti non può essere considerato rappresentativo della realtà suinicola italiana. I rapporti tra utilizzo di antibiotici e gli altri parametri necessitano pertanto di ulteriori indagini su un campione più numeroso. Nelle future ricerche sarebbe inoltre opportuno puntare ad un maggiore approccio integrato inserendo nuovi parametri da analizzare (benessere animale, stato sanitario dell'allevamento, campionamento al macello) ed ampliando le informazioni raccolte su quelli attuali (biosicurezza, dati produttivi) così da fornire un quadro più chiaro sia della situazione aziendale sia delle eventuali misure da intraprendere per ridurre i consumi di antimicrobici.

BIBLIOGRAFIA:

1. Aarestrup F.M., 2015. The livestock reservoir for antimicrobial resistance: a personal view on changing patterns of risks, effects of interventions and the way forward. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*. Vol. 370 (issue 1670).
2. Bos M.E.H., Taverne F.J., van Geijlswijk I.M., Mouton J.W., Mevius D.J. and Heederik D.J.J., 2013. Consumption of Antimicrobials in Pigs, Veal Calves, and Broilers in The Netherlands: Quantitative Results of Nationwide Collection of Data in 2011. *Plos One*. Vol. 8 (issue 10).
3. Garcia-Migura L., Hendriksen R.S., Fraile L. and Aarestrup F.M., 2014. Antimicrobial resistance of zoonotic and commensal bacteria in Europe: The missing link between consumption and resistance in veterinary medicine. *Veterinary Microbiology*. Vol. 170 (issue 1-2); pag. 1-9.
4. Harbarth S., Balkhy H.H., Goossens H., Jarlier V., Kluytmans J., Laxminarayan R., Saam M., Van Belkum A. and Pittet D., 2015. Antimicrobial resistance: one world, one fight! *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. Vol. 4 (issue 1).
5. Jensen V.F., Jacobsen E. and Bager F., 2004. Veterinary antimicrobial-usage statistics based on standardized measures of dosage. *Preventive Veterinary Medicine*. Vol. 64 (issue 2); pag. 201-215.
6. Liu Y.Y., Wang Y., Walsh T.R., Yi L.X., Zhang R., Spencer J., Doi Y., Tian G., Dong B., Huang X., Yu L.F., Gu D., Ren H., Chen X., Lv L., He D., Zhou H., Liang Z., Liu J.H. and Shen J., 2016. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis*. Vol. 16 (issue 2); pag. 161-168.
7. Merle R., Robanus M., Hegger-Gravenhorst C., Mollenhauer Y., Hajek P., Kasbohrer A., Honscha W. and Kreienbrock L., 2014. Feasibility study of veterinary antibiotic consumption in Germany - comparison of ADDs and UDDs by animal production type, antimicrobial class and indication. *Bmc Veterinary Research*. Vol. 10 (issue 7).
8. Michael G.B., Freitag C., Wendlandt S., Eidam C., Fessler A.T., Lopes G.V., Kadlec K. and Schwarz S., 2015. Emerging issues in antimicrobial resistance of bacteria from food-producing animals. *Future Microbiol*. Vol. 10 (issue 3); pag. 427-443.
9. Postma M., Sjolund M., Collineau L., Losken S., Stark K.D.C. and Dewulf J., 2015. Assigning defined daily doses animal: a European multi-country experience for antimicrobial products authorized for usage in pigs. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. Vol. 70 (issue 1); pag. 294-302.
10. Taverne F.J., Jacobs J.H., Heederik D.J.J., Mouton J.W., Wagenaar J.A., van Geijlswijk I.M. and SDA N.V.M.A., 2015. Influence of applying different units of measurement on reporting antimicrobial consumption data for pig farms. *Bmc Veterinary Research*. Vol. 11; pag. 250-259.
11. Timmerman T., Dewulf J., Catry B., Feyen B., Opsomer G., de Kruif A. and Maes D., 2006. Quantification and evaluation of antimicrobial drug use in group treatments for fattening pigs in Belgium. *Preventive Veterinary Medicine*. Vol. 74 (issue 4); pag. 251-263.
12. Trauffer M., Griesbacher A., Fuchs K. and Kofler J., 2014. Antimicrobial drug use in Austrian pig farms: plausibility check of electronic on-farm records and estimation of consumption. *Veterinary Record*. Vol. 175 (issue 16); pag. 402-410.