

ANTIMICROBICO RESISTENZA

# L'emergenza sommersa: come contrastarla con l'approccio "One-Health"



SILVIA FIORINA, MARCO CECCHETTO, ANTONIO SORICE  
*Gruppo di lavoro "Farmaco veterinario e Antibioticoresistenza" - SIMeVeP*

L'antimicrobico-resistenza è la capacità di un microrganismo di resistere all'azione di un antimicrobico ed è un fenomeno assolutamente naturale, così come lo sono gli antibiotici: è ben noto il fatto che i microrganismi produttori di antibiotici, al fine di difendersi dall'attività di essi, hanno sviluppato meccanismi di difesa, quali l'assenza della struttura target dell'antimicrobico, l'impermeabilità della cellula batterica al farmaco, la produzione di enzimi capaci di inattivare la molecola o la presenza di meccanismi di estrusione della stessa. Dal punto di vista microbiologico, la resistenza agli antimicrobici può essere suddivisa in due grosse categorie: la resistenza intrinseca, ovvero la capacità innata di una specie batterica di resistere all'azione di un certo antibiotico grazie alle sue peculiarità strutturali e funzionali e la resistenza acquisita, conseguente

a modificazioni genetiche endogene oppure al trasferimento di geni di resistenza da altri microrganismi tramite il passaggio di materiale genetico sotto forma di fagi, plasmidi, integroni, trasposoni o DNA libero. In riferimento all'acquisizione per via orizzontale dei così detti "geni di resistenza" è importante sottolineare come essa possa verificarsi anche tramite acquisizione di geni di resistenza presenti nell'ambiente: l'insieme dei geni di resistenza derivanti dall'ambiente, dalle piante, dall'uomo e dagli animali costituisce il così detto resistoma.

In un ambiente con presenza di antimicrobici, i ceppi batterici in possesso di fattori di resistenza risultano ovviamente favoriti dal punto di vista evolutivo e questo porta alla cosiddetta selezione clonale, ovvero al progressivo aumento dei ceppi antimicrobico resistenti rispetto a quelli suscettibili agli antibiotici.

Tale selezione ha portato alla comparsa di batteri con profili di resistenza sempre maggiori, per descrivere i quali sono stati conosciuti i termini di *Multi Drug Resistant* (MDR), ovvero batteri resistenti ad almeno tre categorie di antibiotici, *Extensively Drug Resistant* (XDR), cioè batteri sensibili solo a una o due categorie di antibiotici, e *Pan Drug Resistant* (PDR), caratterizzati dalla totale resistenza a qualsiasi gruppo di antibatterici.

Le cause principali dell'incremento costante dell'antimicrobico resistenza a livello mondiale sono da attribuirsi, in prevalenza, all'uso inappropriato di antimicrobici, compreso l'uso di antimicrobici per scopi non terapeutici, all'inadeguata igiene e prevenzione delle infezioni, all'incremento esponenziale delle movimentazioni internazionali di persone e degli scambi commerciali globali, al crescente inquinamento dell'ambiente con residui di antimicrobici.

Alcuni dati ci permettono di comprendere fino in fondo quanto la resistenza antimicrobica abbia un impatto diretto sulla salute umana e animale e comporti un pesante onere economico, a causa dei costi più elevati delle cure e della minore produttività causata dalla malattia. La resistenza antimicrobica è responsabile di circa 33.000 decessi all'anno nell'UE. Si stima inoltre che costi all'UE 1,5 miliardi di euro all'anno in costi sanitari e perdite di produttività.

Quanto premesso dovrebbe averci più che convinti dell'importanza di individuare strategie utili a razionalizzare l'uso di antimicrobici, al fine di ridurre il fenomeno dell'antimicrobico-resistenza.

### I batteri multiresistenti prioritari in sanità pubblica

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha pubblicato, nel 2017, una lista di «patogeni prioritari» resistenti agli antibiotici, nella quale sono incluse le 12 famiglie di batteri multiresistenti più pericolose per la salute umana.

L'elenco è stato sviluppato per cercare di guidare e promuovere la ricerca e lo sviluppo ("R & D") di nuovi antibiotici, nell'ambito delle attività dell'OMS per combattere il crescente problema mondiale della resistenza antimicrobica.

L'elenco evidenzia in particolare la minaccia rappresentata da batteri gram-negativi resistenti a diverse classi di antibiotici. Questi batteri hanno la capacità innata di trovare nuove modalità di resistenza ai trattamenti, nonché di trasmissione di materiale genetico che consente ad altri batteri di diventare resistenti ai farmaci.

La Lista OMS è divisa in tre categorie a seconda della urgenza di sviluppare e immettere sul mercato nuovi antibiotici efficaci: critica, alta o media priorità.

Il gruppo di priorità Critica comprende batteri multiresistenti che sono particolarmente pericolosi in ambito nosocomiale e devono essere affrontati con dispositivi come ventilatori e cateteri per via endovenosa; tra essi si annoverano batteri del genere *Acinetobacter*, *Pseudomonas* e *Klebsiella*, nonché diverse

Enterobacteriaceae come *E. coli*, *Serratia*, e *Proteus*, microrganismi che possono causare infezioni gravi e spesso letali, come la polmonite e la sepsi.

Il secondo e il terzo livello della lista, le categorie di priorità alta e media comprendono altri batteri che presentano una resistenza ai farmaci in crescita e causano malattie comuni come la gonorrea o la Salmonella, responsabile di tossinfezioni alimentari. La lista ha lo scopo di incoraggiare i governi a perseguire politiche che supportino la ricerca scientifica di base, nonché forme avanzate di ricerca e sviluppo, sia attraverso le agenzie di finanziamento pubblico, sia tramite il settore privato, a investire nello sviluppo di nuovi antibiotici.

#### Lista OMS di patogeni prioritari

##### Priorità 1: Critica

- *Acinetobacter baumannii*, resistente ai carbapenemi.
- *Pseudomonas aeruginosa*, resistente ai carbapenemi.
- *Enterobacteriaceae*, resistenti ai carbapenemi, produttori di ESBL.

##### Priorità 2: Elevata

- *Enterococcus faecium*, resistente alla vancomicina.
- *Staphylococcus aureus*, resistente alla meticillina, con sensibilità intermedia e resistenza alla vancomicina.
- *Helicobacter pylori*, resistente alla claritromicina.
- *Campylobacter* spp., resistente ai fluorochinoloni.
- *Salmonellae*, resistenti ai fluorochinoloni.
- *Neisseria gonorrhoeae*, resistente alla cefalosporina, resistente ai fluorochinoloni.

##### Priorità 3: Media

- *Streptococcus pneumoniae*, senza sensibilità alla penicillina
- *Haemophilus influenzae*, resistente all'ampicillina
- *Shigella* spp., resistente ai fluorochinoloni

### Piano d'azione dell'UE "One Health" contro la resistenza antimicrobica

L'OMS, in collaborazione con l'Organizzazione delle Nazioni Unite per l'Alimentazione e l'Agricoltura (Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO) e l'Organizzazione Mondiale della Sanità Animale (*World Organization for Animal Health* - OIE) ha elaborato il *Global Action Plan on Antimicrobial Resistance*, che riconoscendo l'importanza di un approccio "One Health", promuove l'applicazione di un sistema collaborativo e multidisciplinare per affrontare i rischi che hanno origine dall'interfaccia tra ambiente, animali e uomo. Nel giugno 2017 l'Unione Europea (UE) ha adottato il "Piano d'azione europeo One Health contro la resistenza antimicrobica" con l'obiettivo di armonizzare le iniziative messe in atto dai vari Stati Membri.

Gli obiettivi principali del piano si basano su tre pilastri essenziali:

- 1) fare dell'UE una regione in cui si applicano le migliori pratiche;

- 2) promuovere la ricerca, lo sviluppo e l'innovazione;
- 3) definire l'agenda mondiale.

Due volte l'anno la Commissione europea pubblica una relazione sui progressi compiuti per quanto riguarda il «piano d'azione dell'UE sulla resistenza antimicrobica» del 2017. Da quando il piano d'azione dell'UE sulla resistenza antimicrobica è stato attuato nel 2017, sono stati apportati importanti aggiornamenti per rafforzare ulteriormente la risposta dell'UE alla resistenza antimicrobica, quali i seguenti:

Nel marzo 2019 la Commissione ha adottato un approccio strategico ai prodotti farmaceutici nell'ambiente. L'obiettivo era affrontare le implicazioni ambientali di tutte le fasi del ciclo di vita dei farmaci (sia umani che veterinari), dalla progettazione alla produzione fino allo smaltimento. Diverse azioni dell'approccio strategico sono intese a contribuire agli obiettivi del piano d'azione dell'UE "One Health" contro la resistenza antimicrobica.

Il 25 novembre 2020 la Commissione ha adottato la strategia farmaceutica per l'Europa che affronterà diverse sfide in materia di resistenza antimicrobica, tra cui la mancanza di investimenti in antimicrobici e l'uso improprio degli antibiotici. Inoltre, la strategia riguarderà anche azioni volte a migliorare la consapevolezza degli operatori sanitari e dei cittadini europei in merito alla resistenza antimicrobica.

Un maggiore benessere degli animali migliora la loro salute, riduce la necessità di farmaci e contribuisce a preservare la biodiversità. La Commissione rivedrà la legislazione in materia di benessere degli animali per allinearla alle più recenti prove scientifiche, ampliarne il campo di applicazione, agevolarne l'applicazione e, in ultima analisi, garantire un livello più elevato di benessere degli animali.

In linea con le suddette iniziative, la *European Joint Action on Antimicrobial Resistance and Healthcare-Associated Infections* (EU-JAMRAI - <https://eu-jamrai.eu/>), iniziata nel settembre 2017, si propone di rafforzare e coordinare le azioni per fronteggiare la resistenza antimicrobica (*Antimicrobial resistance* - AMR) e le infezioni correlate all'assistenza (*Healthcare associated infections* - HCAI), seguendo sempre un approccio "One Health" e promuovendo sinergie tra i Paesi dell'UE.

EU-JAMRAI è coordinata dall'Istituto francese della Sanità e della Ricerca Medica (INSERM) e coinvolgendo 44 partner da tutta Europa, tra cui le principali autorità competenti, i più influenti decisori politici europei, e più di 40 stakeholder, inclusi rappresentanti di organizzazioni internazionali, di industria, società scientifiche e associazioni di pazienti. In linea con il Piano d'Azione Europeo, il Progetto garantisce un collegamento costante tra la ricerca, l'innovazione e le politiche di sanità pubblica.

L'Italia partecipa con l'Istituto Superiore di Sanità (ISS), in collaborazione con l'Università di Udine e con l'Università di Foggia. La Joint Action (JA) si compone di 9 Work Packages (WPs), ciascuno con obiettivi specifici, che coinvolgono i diversi partner. WP 1 diretto dall'INSERM, coordina e gestisce il Progetto nel

rispetto delle norme e dei regolamenti stabiliti dalla Commissione Europea.

WP 2 diretto dall'Agenzia spagnola dei Medicinali e Dispositivi Medici (*antimicrobial resistance*), promuove la comunicazione interna per garantire la massima sinergia tra tutti i WPs e la comunicazione esterna per diffondere a beneficiari e stakeholders le attività e i risultati del Progetto assicurandone la massima visibilità.

WP 3 diretto dall'Istituto Superiore di Sanità, verifica l'attuazione della EU-JAMRAI, valutando il raggiungimento degli obiettivi e il soddisfacimento delle aspettative degli stakeholder nazionali e internazionali.

Il WP3 valuta inoltre l'impatto (principalmente come utilizzo e applicabilità) dei risultati, sia nell'ambito della JA che in una prospettiva futura, dopo la conclusione del Progetto.

WP 4 diretto dal Ministero francese della Solidarietà e della Sanità (MoH-FR), sostiene l'elaborazione e l'attuazione di piani nazionali, promuovendo l'integrazione delle strategie di prevenzione dell'AMR e delle HCAI nelle politiche degli Stati Membri dell'UE.

WP 5 diretto dal Ministero olandese della Salute, Welfare e Sport (VWS), coopera con gli Stati Membri per l'attuazione delle disposizioni stabilite nelle Conclusioni del Consiglio dell'UE sulle prossime iniziative "One Health" per contrastare l'AMR.

WP 6 diretto dall'Organizzazione di Sanità Pubblica greca (Ethnikos Organismos Dimosias Ygeias - EODY) e dall'Agenzia svedese di Sanità Pubblica (FOHM), promuove approcci "top-down" per l'implementazione di politiche e "bottom-up" per diffondere buone pratiche per la prevenzione e il controllo dell'AMR e delle HCAI, e rafforza la sorveglianza e la formazione di qualità ai professionisti sanitari.

WP 7 diretto dall'Istituto di Sanità Pubblica norvegese (FHI) e dall'Agenzia spagnola per Medicinali e Prodotti Sanitari (AEMPS), seleziona, revisiona e aggiorna le linee guida attualmente disponibili per un uso corretto degli antibiotici in tutti i settori dell'assistenza sanitaria, compresa la sanità animale.

WP 8 diretto dall'AEMPS, coordina le attività di sensibilizzazione e di comunicazione per l'uso corretto e responsabile degli antibiotici, e incoraggia le buone pratiche attraverso un continuo "dialogo" con i giovani e i mass media.

WP 9 diretto dall'FHI e dall'INSERM, sostiene attivamente gli Stati Membri per promuovere la ricerca e l'innovazione "One Health" in sanità pubblica.

Nella EU-JAMRAI l'ISS partecipa alle attività di:

- valutazione del Progetto coordinando il WP 3 e garantendo i requisiti di qualità dei risultati;
- sviluppo di politiche per la prevenzione e il controllo delle HCAI, partecipando a survey che hanno coinvolto strutture sanitarie e ospedaliere, per conoscere i programmi di prevenzione e il controllo dell'AMR e delle HCAI in atto e individuarne gli ostacoli all'implementazione;
- promozione dell'uso corretto degli antibiotici (*antimicrobial stewardship*) in ambito umano e animale attraverso la revisio-

ne di linee guida, la partecipazione a workshop e *site visit* per identificare barriere e possibili strategie di successo. Sviluppo di un sistema di sorveglianza *real time* dei consumi di antibiotici e delle resistenze batteriche in ambito umano e definizione dei principi della sorveglianza della resistenza nei batteri patogeni veterinari;

- sviluppo di ricerca e innovazione per il miglioramento della salute pubblica in tutta Europa secondo un approccio “One Health”, contribuendo all’implementazione di politiche e pratiche di sanità pubblica contro l’AMR e le HCAI basate sull’evidenza. La EU-JAMRAI propone strategie e azioni concrete che devono essere condivise da tutti, collaborando attivamente con i Paesi dell’UE per combattere l’AMR e le HCAI. L’azione congiunta ha inoltre contribuito allo sviluppo del Piano d’Azione Europeo sull’AMR e alle Conclusioni del Consiglio sulle prossime tappe dell’approccio “One Health” per assicurare la massima convergenza dei programmi e delle azioni intraprese dagli Stati Membri.

La EU-JAMRAI ha raccolto informazioni sullo stato dell’arte delle politiche nazionali e delle azioni di contrasto all’AMR e alle HCAI, con cui ha rivisto e prodotto linee guida e documenti di riferimento.

Nell’ambito della EU-JAMRAI sono state organizzate visite in una serie di Paesi partner, durante le quali esperti nazionali e della EU-JAMRAI hanno discusso “tra pari” i Piani d’Azione Nazionali per l’AMR e le HCAI e si sono confrontati in un’ottica di scambio di esperienze e di continuo miglioramento.

Durante il Progetto sono state realizzate numerose campagne di sensibilizzazione dirette all’opinione pubblica e ai professionisti, volte a promuovere un uso responsabile e appropriato degli antibiotici.

Il carattere distintivo della EU-JAMRAI è quello di riunire tutti gli attori chiave nella lotta contro l’AMR: 27 Stati Membri dell’UE, organizzazioni come ECDC, Organizzazione per la Cooperazione e lo Sviluppo Economico (OCSE) e OMS, e oltre 30 stakeholder (rappresentanti della società civile, operatori sanitari, associazioni di pazienti, attori dei settori e aziende animali e ambientali) coinvolti nel settore.

### Principi per l’uso prudente di antimicrobici

Nel settembre 2015 è stata pubblicata la Comunicazione della Commissione 299/2015 “Linee guida sull’uso prudente degli antimicrobici in medicina veterinaria”, resasi necessaria in relazione all’impiego massiccio di antimicrobici in medicina umana e veterinaria, che ha accelerato la comparsa e la diffusione di microrganismi multi-resistenti, con un ulteriore peggioramento della situazione a causa della mancanza di investimenti nello sviluppo di nuovi antibiotici efficaci.

Le indicazioni sull’uso prudente degli antibiotici proposte dalla Commissione nella Comunicazione suindicata, saranno riproposte in buona parte, ma questa volta in maniera dispositiva nei confronti degli Stati Membri e non più solo come racco-

mandazione, con la pubblicazione e la successiva entrata in vigore, il 28 gennaio 2022, del Regolamento (UE) 2019/6 sui medicinali veterinari.

Gli antimicrobici sono essenziali per le cure sanitarie e la salute delle popolazioni animali e di bestiame. Qualsiasi uso di antimicrobici (sia in medicina umana che veterinaria) può comportare lo sviluppo della resistenza antimicrobica. Il rischio aumenta se tali antimicrobici sono usati impropriamente, ad esempio in modo non mirato (trattamenti collettivi o uso per microrganismi non sensibili), a dosi sotto-terapeutiche, ripetutamente o per periodi di tempo inadeguati. I principi generali sull’uso prudente degli antimicrobici devono essere applicati sistematicamente nelle aziende zootecniche e nelle cliniche veterinarie.

### Elementi da considerare prima dell’utilizzo di medicinali antimicrobici

I documenti scientifici sugli antimicrobici prodotti dall’Agenzia europea per i medicinali contengono ulteriori raccomandazioni su come ridurre al minimo lo sviluppo della resistenza antimicrobica derivante dall’uso di tali sostanze negli animali. L’uso prudente degli antimicrobici deve favorire un impiego più razionale e mirato, ottimizzando in tal modo l’effetto terapeutico e riducendo al minimo lo sviluppo della resistenza antimicrobica. Tenendo conto della resistenza incrociata e della co-resistenza, ovvero del fatto che qualsiasi esposizione ad antimicrobici aumenta l’insorgenza della resistenza antimicrobica, il risultato finale dell’uso prudente deve essere una riduzione globale dell’uso di antimicrobici, limitato per lo più alle sole situazioni in cui sono necessari.

In tali situazioni, gli antimicrobici devono essere usati come trattamento mirato e conformemente alle migliori prassi, vale a dire sulla base di diagnosi cliniche e, ove possibile, dei risultati di test microbiologici di sensibilità, e usando un agente antimicrobico a spettro quanto più limitato. L’obiettivo finale è ridurre la necessità di ricorrere agli antimicrobici mediante la prevenzione delle malattie.

Occorre prevenire le malattie e le infezioni animali in primo luogo garantendo la biosicurezza, seguendo prassi di buona produzione e buona gestione, e attuando programmi integrati di controllo delle patologie per ridurre al minimo l’insorgenza ed eradicare le malattie endemiche. Nei casi in cui sia necessario usare antimicrobici per salvaguardare la salute e il benessere degli animali, occorre rispettare i principi di seguito indicati:

- la prescrizione e la somministrazione di antimicrobici devono essere giustificate da una diagnosi veterinaria conforme all’attuale stato delle conoscenze scientifiche;
- ove sia necessario prescrivere un antimicrobico, la prescrizione deve essere basata su una diagnosi formulata a seguito di un esame clinico dell’animale da parte del veterinario che prescrive. Se possibile, deve essere eseguito il test di sensibilità antimicrobica per determinare la scelta dell’antimicrobico;
- la metafilassi antimicrobica va prescritta solo quando vi è

una reale necessità di cure mediche. In tali casi, il veterinario deve giustificare e documentare il trattamento sulla base di risultati clinici relativi allo sviluppo di una malattia in un allevamento o branco. La metaflissi antimicrobica non dovrebbe mai essere usata in sostituzione di buone prassi di gestione;

- la profilassi non deve essere adottata in modo sistematico, ma deve essere riservata a indicazioni specifiche in casi eccezionali;
- la somministrazione di medicinali a un intero allevamento o branco deve essere evitata, ove possibile. Gli animali malati devono essere isolati e trattati individualmente (ad esempio somministrando preparati iniettabili);
- quando si decide in merito al trattamento antimicrobico, occorre considerare tutte le informazioni relative agli animali, alla causa e alla natura dell'infezione e alla gamma di antimicrobici disponibili;
- un antimicrobico a spettro limitato deve sempre essere la prima scelta, a meno che precedenti test di sensibilità - sostenuti se del caso da dati epidemiologici rilevanti - ne dimostrino l'inefficacia. L'uso di antimicrobici ad ampio spettro e di combinazioni di antimicrobici deve essere evitato (a eccezione di combinazioni fisse contenute in medicinali veterinari autorizzati);
- se un animale o gruppo di animali soffre di infezioni ricorrenti che richiedono un trattamento antimicrobico, è necessario intervenire per eradicare i ceppi di microrganismi stabilendo il motivo per cui la malattia è ricorrente e modificando le condizioni di produzione, la zootecnia e/o la gestione;
- l'uso di agenti antimicrobici che tendono a favorire la propagazione della resistenza trasmissibile deve essere evitato. Alcuni composti presenti nell'elenco di antimicrobici estremamente importanti dell'Organizzazione mondiale della sanità sono autorizzati soltanto nei medicinali per uso umano. Come stabilito nella legislazione dell'UE, i farmaci che non hanno autorizzazioni all'immissione in commercio come medicinali veterinari da utilizzare su animali destinati alla produzione di alimenti possono essere usati solo in deroga («a cascata») su tali animali se la sostanza in questione è elencata nella tabella 1 dell'allegato del regolamento (UE) n. 37/2010 della Commissione;
- l'uso off-label (a cascata) dei composti di cui sopra per animali non destinati alla produzione di alimenti (ad esempio animali da compagnia e animali utilizzati per gli sport) deve essere evitato e rigorosamente limitato a casi particolarmente eccezionali, ad esempio quando sussistono motivi etici e solo quando i test di laboratorio sulla sensibilità antimicrobica hanno confermato l'inefficacia di altri antimicrobici;
- il trattamento antimicrobico deve essere somministrato agli animali in base alle istruzioni dettate nella prescrizione del veterinario;
- la necessità di ricorrere a una terapia antimicrobica deve essere valutata nuovamente su base regolare per evitare terapie non necessarie;
- l'uso perioperatorio di antimicrobici deve essere ridotto al

minimo avvalendosi di tecniche asettiche;

- ove possibile, al trattamento antimicrobico devono essere preferite strategie alternative per il controllo di malattie, che si sono dimostrate egualmente efficaci e sicure (ad esempio i vaccini);
- è opportuno avvalersi del sistema di farmacovigilanza per ottenere informazioni e riscontri sulle carenze terapeutiche, in modo da individuare potenziali problemi di resistenza qualora si utilizzino opzioni di trattamento esistenti, nuove o alternative;
- in ciascuno Stato membro deve essere creata una rete di laboratori in grado di eseguire test di sensibilità antimicrobica in microrganismi zoonotici e commensali e patogeni target al fine di garantire la disponibilità di test di sensibilità.

### **Elementi da considerare prima dell'utilizzo di medicinali antimicrobici "critici" ("CIAAs")**

Molti antimicrobici utilizzati sugli animali vengono impiegati anche sull'uomo. Alcuni di questi sono fondamentali per prevenire o curare infezioni con conseguenze letali nell'uomo. È opportuno prestare un'attenzione particolare al fine di garantire l'efficacia continua di tali antimicrobici e ridurre al minimo lo sviluppo della resistenza. Prima di usare questi antimicrobici negli animali, si deve tenere conto di quanto segue (in aggiunta ai punti già menzionati):

- questi antimicrobici devono essere usati soltanto in situazioni in cui un veterinario ha valutato, sulla base di test di sensibilità antimicrobica e di pertinenti dati epidemiologici, che non sono disponibili antimicrobici efficaci diversi da quelli estremamente importanti;
- in casi eccezionali in cui l'uso off-label di questi antimicrobici (a cascata) è inevitabile e legalmente consentito, la prescrizione e l'utilizzo finale devono essere sufficientemente giustificati e registrati. Tale utilizzo deve essere basato su motivi clinici, ovvero il veterinario che prescrive il medicinale ritiene che l'uso di un particolare antimicrobico estremamente importante sia necessario per evitare la sofferenza di animali malati, e deve tenere conto anche di questioni etiche e di sanità pubblica. L'uso di antimicrobici molto importanti deve essere limitato ai casi in cui non vi sono alternative disponibili. Somministrazione di antimicrobici per via orale a gruppi di animali attraverso mangimi e acqua potabile: il trattamento antimicrobico per via orale è spesso somministrato a gruppi di animali attraverso mangimi medicati o aggiungendo l'antimicrobico all'acqua potabile o ai mangimi nell'azienda zootecnica. Ove possibile, deve essere preferito un trattamento individuale degli animali infetti (ad esempio, trattamenti iniettabili) ai trattamenti collettivi o di gruppo. Quando si ricorre al trattamento di gruppo, si deve tenere conto dei punti di seguito elencati:
- i mangimi medicati contengono una premiscela di medicinali veterinari e richiedono, conformemente alla legislazione dell'UE, una prescrizione veterinaria;

- il trattamento antimicrobico somministrato per via orale attraverso mangimi medicati o acqua potabile deve essere eseguito soltanto se prescritto da un veterinario;
- gli antimicrobici devono essere somministrati a gruppi di animali attraverso mangimi o acqua potabile solo se sono comprovate malattie o infezioni microbiche; detto trattamento non deve essere praticato come trattamento di profilassi. La somministrazione di antimicrobici attraverso mangimi o acqua potabile deve essere limitata agli animali che necessitano del trattamento e i sistemi di somministrazione dei farmaci devono essere adeguati per il trattamento in questione;
- le quantità di antimicrobici somministrati in mangimi o acqua devono essere monitorate e documentate su base continua, specialmente in sistemi di produzione alimentare intensiva;
- le istruzioni fornite nelle informazioni del prodotto (SPC, foglietto illustrativo, etichettatura) e dal veterinario devono essere rispettate sia in termini di dosaggio che di durata del trattamento;
- quando un antimicrobico viene somministrato attraverso i mangimi è importante assicurare l'omogeneità della distribuzione del farmaco, di modo che ciascun animale ottenga la dose terapeutica necessaria per il trattamento della malattia in conformità della prescrizione veterinaria;
- l'uso off-label (a cascata) deve essere limitato allo stretto necessario e a casi eccezionali in cui non sono disponibili altre opzioni di trattamento autorizzate. — Nell'azienda zootecnica devono essere disponibili strutture di conservazione idonee e pulite, per garantire la corretta conservazione dei mangimi medicati. Dette strutture non devono essere liberamente accessibili.

### Principale normativa europea sul contrasto all'antimicrobico-resistenza

Nel maggio 2020 la Commissione europea ha adottato la strategia “Dal produttore al consumatore”, uno strumento per contribuire a definire il percorso dell'UE verso sistemi alimentari sostenibili. Il suo obiettivo è la riduzione del 50% delle vendite complessive nell'UE di antimicrobici per animali d'allevamento e acquacoltura entro il 2030.

Il conseguimento di questo obiettivo sarà sostenuto dall'attuazione negli Stati Membri del nuovo Regolamento (UE) 2019/6 relativo ai medicinali veterinari (Regolamento “VMP”) e del Regolamento (UE) 2019/4 sui mangimi medicati (Regolamento “MF”), entrati in vigore il 28 gennaio 2022.

I suindicati Regolamenti prevedono un'ampia gamma di misure per combattere la resistenza antimicrobica e promuovere un uso più prudente e responsabile degli antimicrobici negli animali, di seguito elencate:

- divieto di utilizzo dei medicinali veterinari ad azione antimicrobica e dei mangimi medicati a scopo di “profilassi”; con riferimento ai medicinali veterinari ad azione antimicrobica, è possibile derogare al divieto in casi eccezionali e limitati,

per trattamenti su un singolo animale o su un gruppo estremamente ristretto di animali, prescritti dal veterinario solo se supportati da una giustificazione scientifica e qualora il rischio di infezione e/o di diffusione di una malattia infettiva sia particolarmente elevato; inoltre i medicinali antimicrobici potranno essere prescritti per fini profilattici soltanto per una durata limitata al periodo di rischio;

- parimenti l'uso, sia dei medicinali veterinari ad azione antimicrobica che dei mangimi medicati, per “metafilassi” (ossia la prescrizione di un farmaco ad azione antibiotica o di un mangime medicato destinato a un gruppo di animali, a seguito della diagnosi clinica di un malattia infettiva in parte del gruppo stesso, per trattare gli animali malati e prevenire la diffusione della malattia agli animali clinicamente sani), dovrà avvenire unicamente in seguito a una diagnosi di malattia da parte del veterinario, a seguito di visita clinica degli animali, e qualora il rischio di diffusione della stessa sia particolarmente elevato e non esistano alternative adeguate.

La nuova normativa europea consente inoltre la possibilità di vietare l'uso in medicina veterinaria di alcuni antibiotici, selezionati per l'utilizzo esclusivo nell'uomo, al fine di preservarne il più a lungo possibile l'efficacia, nel trattamento di particolari infezioni sostenute da microrganismi multi-antibioticoresistenti (Klebsiella, Escherichia Coli e Campylobacter su tutti); il Regolamento ha lasciato il compito della Commissione, mediante atti delegati e di esecuzione del Regolamento, di individuare gli antimicrobici o i gruppi di antimicrobici riservati al trattamento di determinate infezioni nell'uomo, tenendo conto del parere scientifico dell' Agenzia Europea del farmaco e dell' EFSA.

Tale compito è stato portato a termine in seguito all'entrata in vigore, il 9 febbraio 2023 del Regolamento di Esecuzione (UE) 2022/1255 della Commissione del 19 luglio 2022, che designa **gli antimicrobici o i gruppi di antimicrobici riservati al trattamento di determinate infezioni nell'uomo.**

Il Regolamento prevede che tutti gli antimicrobici (antibiotici, antivirali e antiprotozoici) elencati nell'allegato non possano essere utilizzati nei medicinali a uso veterinario o nei mangimi medicati. Analogamente viene anche vietato l'utilizzo in deroga negli animali di medicinali a uso umano contenenti principi attivi elencati nel medesimo allegato.

La lista di antimicrobici comprende 18 antibiotici, altrettanti antivirali e un antiprotozoico.

Con riferimento agli antibiotici, gli stessi sono stati identificati nelle seguenti classi:

- a) Carbossipenicilline;
- b) Ureidopenicilline;
- c) Ceftobiprololo;
- d) Ceftarolina;
- e) Combinazione di cefalosporine e inibitori di beta-lattamasi;
- f) Cefalosporine siderofore;
- g) Carbapenemi;
- h) Penemi;

- i) Monobattami;
- j) Derivati dell'acido fosfonico;
- k) Glicopeptidi;
- l) Lipopeptidi;
- m) Ossazolidinoni;
- n) Fidaxomicina;
- o) Plazomicin;
- p) Glicilciline;
- q) Eravaciclina;
- r) Omadaciclina.

Nel novembre 2020 è stata pubblicata la nuova Decisione di Esecuzione (UE) 2020/1729 della Commissione relativa al monitoraggio e alle relazioni sulla resistenza agli antimicrobici dei batteri zoonotici e commensali. Questa decisione si basa sui pareri scientifici più recenti e affronta problemi di attuazione noti, fornendo nel contempo una risposta scientifica e garantendo la continuità nella valutazione delle tendenze future in materia di resistenza antimicrobica.

### Il monitoraggio dell'antimicrobico resistenza e del consumo di antibiotici

Caratteristica intrinseca del monitoraggio di un fenomeno è la possibilità di poterlo misurare, attività che potrebbe ingannevolmente apparire semplice, ma che si rivela essere uno dei punti più complessi nell'impostazione di una strategia di contrasto all'antimicrobico-resistenza.

La quantificazione della perdita di efficacia degli antimicrobici disponibili nei confronti dei microrganismi, essendo più che associata la correlazione positiva tra l'uso di tali sostanze e lo sviluppo dell'antimicrobico-resistenza (AMR), deve inoltre essere affiancata da una corretta misurazione del consumo di antimicrobici (AMC). Rispetto a quest'ultima attività si sono purtroppo venute a creare molte diatribe, alcune scientificamente corrette, altre purtroppo connesse a pericolose strumentalizzazioni. Proprio per scongiurare il rischio di essere "ingannati" da troppo facili conclusioni è necessario acquisire gli strumenti base per un'analisi critica delle innumerevoli informazioni fornite dai mezzi di comunicazione odierni.

Non è intenzione di chi scrive annoiare il lettore con lunghe digressioni tra le numerose unità di misura elaborate per quantificare il consumo di antibiotici e la resistenza microbica verso di essi; tuttavia, risulta fondamentale acquisire una ferrea consapevolezza rispetto alla relatività di tutti questi strumenti.

#### AMC: i database

Il primo ostacolo che si incontra nell'elaborazione di un sistema di monitoraggio sul consumo di antimicrobici è l'individuazione di un'ideale fonte di dati: vendite industriali, acquisti ospedalieri, prescrizioni, dispensazioni, rimborsi da parte dei sistemi sanitari, registri nazionali... Una vera e propria Babilonia nella quale è fondamentale isolare e comprendere ogni singola voce, valutarne pregi e difetti e individuare

quella più idonea allo scopo prefissato. Sottovalutare questa fase potrebbe esporre tutta la successiva analisi dei dati a pericolosi bias statistici.

Facciamo qualche esempio: i dati relativi alle prescrizioni sono molto utili per valutare l'uso di uno specifico prodotto e l'andamento nel tempo delle scelte mediche che ne hanno determinato la prescrizione, ma non sono certo dati disponibili in modo omogeneo tra le diverse nazioni e pertanto non sono utilizzabili per un oggettivo confronto tra di esse. Più sicuri in tal senso sono i dati legati alle vendite all'ingrosso, ottenibili in modo piuttosto semplice anche nei Paesi con sistemi sanitari non particolarmente sviluppati, tuttavia, conoscere le vendite non dà garanzie sul destino dei prodotti immessi in commercio. Potremmo allora valutare le dispensazioni farmaceutiche, ma anche così non avremmo certezza sulla reale assunzione dei farmaci. Insomma, tante possibilità e poche certezze, condizione ben nota agli attori coinvolti nell'elaborazione di strategie di riduzione e razionalizzazione dell'uso dei farmaci.

In ambito veterinario la necessità di avere dati solidi e corretti sull'uso di antimicrobici negli animali, unita alla volontà di armonizzare le informazioni tra i diversi Paesi membri, ha portato all'elaborazione di uno dei principali obiettivi del regolamento (UE) 2019/6, che impone a tutti gli stati membri l'adozione di sistemi di raccolta dati inerenti sia alle vendite di farmaci antimicrobici, sia al loro utilizzo. L'Italia ha adempiuto a tale obbligo tramite il sistema REV, che, grazie all'integrazione con altre importanti banche dati (in primis le anagrafi zootecniche), ha permesso la tracciabilità informatizzata dell'intera filiera dei farmaci veterinari.

#### AMC: la misurazione dei consumi

Prima di illustrarvi i fondamenti delle principali unità di misura elaborate per monitorare il consumo di antimicrobici risulta doverosa una premessa: non esiste l'unità di misura perfetta, però possiamo individuare l'unità di misura più appropriata rispetto al contesto nel quale ci troviamo a indagare.

Le più diffuse (e discusse) unità di misura utilizzate in letteratura per quantificare il consumo di antimicrobici in ambito veterinario sono: mg/PCU e DDD.

La prima di esse esprime il consumo di antimicrobici, in una determinata area/settore, come il rapporto tra le masse (espresse in kg o suoi multipli/sottomultipli) di tutti gli antimicrobici venduti in un dato periodo rispetto alla biomassa animale "a rischio", ovvero potenzialmente oggetto di terapia antimicrobica, che viene "stimata" come PCU. Una singola PCU corrisponde approssimativamente a 1 kg di peso vivo e per calcolare la PCU di un determinato sistema, quale ad esempio uno Stato Membro, viene moltiplicato il numero medio di animali vivi (es. bovine da latte) o il numero di capi macellati (es. suini) per pesi standard prestabiliti.

Sebbene i mg/PCU siano l'unica unità di misura riconosciuta dagli standard internazionali, risulta immediato constatare come le informazioni fornite da tale indicatore possano talora

discostarsi notevolmente rispetto al reale consumo di antibiotici, sia per la notevole imprecisione del denominatore (che si basa su pesi standard spesso molto distanti dalle singole realtà produttive), sia per la riduzione a semplici “masse” dei principi attivi che costituiscono il numeratore, senza tener conto della differenza di dosaggio a cui risultano attive le diverse molecole.

Tali limiti rendono di fatto inutilizzabili i mg/PCU quale strumento di misura per studi comparativi tra diverse realtà produttive, quali ad esempio diversi Stati Membri, le cui filiere risultano essere particolarmente variegata e le tipologie di principi attivi utilizzati molto differenti. L'indicatore mg/PCU risulta invece un ottimo strumento per monitorare la tendenza dei consumi nel tempo in una specifica realtà territoriale.

La necessità di considerare come quantità di farmaco utilizzata non la semplice massa, bensì un'unità correlata alla sua posologia ha portato all'elaborazione del concetto di “Defined Daily Dose” (DDD), definita dall'OMS come la “*dose di mantenimento giornaliera media di un farmaco utilizzato per la sua indicazione principale nell'adulto*”; tale metrica, introdotta ormai quasi 50 anni fa dall'OMS per armonizzare taluni studi di monitoraggio sull'uso del farmaco in medicina umana, consente di superare le distorsioni legate alla differente massa dei principi attivi. Il consumo di antimicrobici in un dato sistema sarà pertanto calcolato come “peso totale terapia / peso DDD”.

Per quanto il sistema delle DDD sia decisamente più coerente con la visione “clinica” dell'uso del farmaco, in quanto espressione di una “terapia”, esso presenta alcuni problemi di standardizzazione della dose, che spesso non rappresenta quella realmente somministrata: in medicina umana, ad esempio, si evidenziano notevoli criticità in relazione all'utilizzo del farmaco in terapia intensiva, nei pazienti con disfunzioni renali, nella profilassi preoperatoria e nelle unità di pediatria. Tra i punti di forza delle DDD va sicuramente evidenziata la possibilità di effettuare confronti tra diverse realtà.

Tale unità di misura viene adottata anche ambito veterinario, dove il problema della standardizzazione è accentuato dall'enorme variabilità della popolazione a rischio, composta da animali di diverse specie allevati in differenti contesti. Questa condizione ha imposto la necessità di elaborare indicatori differenti per ogni specie e, sebbene un indicatore del consumo di antimicrobici negli animali ufficialmente riconosciuto a livello internazionale non risulti ancora disponibile, buoni risultati possono essere ottenuti tramite l'utilizzo delle DDDvet e delle DCDvet, elaborate da EMA e ufficialmente utilizzate per la prima volta nel rapporto ESVAC/2016.

DDDvet è la dose media giornaliera per kg di animale ed esprime il numero di dosi giornaliere utilizzate per un kg di una data specie animale presente in una specifica area territoriale; DCDvet è invece la dose di un ciclo standardizzato di trattamento per kg di animale e rappresenta il numero di dosi, intese come ciclo completo del trattamento, utilizzate

per kg di animale. Le DDDvet sono state sviluppate per suini, bovini e broiler sulla base delle caratteristiche delle specialità farmaceutiche vendute in Danimarca, Finlandia, Francia, Germania, Paesi Bassi, Spagna, Svezia, Regno Unito e Repubblica Ceca.

DDDvet e DCDvet presentano tuttavia alcuni importanti limiti, in particolare rispetto ad alcune tipologie di farmaci non considerati (es. antibiotici long-acting o intramammari) e per determinate tipologie di produzione non ricadenti negli standard (es. suino pesante italiano), motivo per cui talune nazioni hanno elaborato, basandosi sul medesimo razionale tecnico, standard differenti. L'Italia in particolare, al fine di ottenere dati quanto più possibile attinenti alla propria realtà produttiva, ha introdotto le DDDAit (Defined Daily Dose Animal for Italy).

Le DDDAit presentano la peculiarità di considerare una specifica unità di misura per ogni singolo medicinale, con il conseguente vantaggio di fornire dati più attinenti ai reali dosaggi utilizzati, a discapito tuttavia di una notevole complessità di confronto con altri indicatori standardizzati.

La formula generale per il calcolo è:

$$\sum_{i=1}^n \frac{PA_i \text{ consumato (mg)}}{DDD_{Ait_i} \text{ (mg/kg PV DIE)} \times \text{animali (n)} \times \text{peso standard (kg)}}$$

Le DDDAit sono attualmente utilizzate per il calcolo del consumo di antimicrobici attraverso l'elaborazione dei dati presenti nel sistema ClassyFarm: il consumo viene espresso come i giorni standard di trattamento a cui ciascun animale allevato in una data azienda è stato potenzialmente esposto.

### AMR: la misurazione della resistenza

Così come per una valutazione dei consumi di antimicrobico si è reso necessario identificare delle unità di misura idonee, anche il monitoraggio dell'AMR necessita di una specifica metrica. Quando si parla di valutazione dell'AMR il primo pensiero di un medico va certamente a quel lungo elenco di “R-S-I” tramite il quale i laboratori esprimono il risultato di un antibiogramma. Tale visione prettamente clinica risponde all'immediata necessità predittiva di successo o fallimento di una determinata terapia, mentre per la sanità pubblica il significato dell'antibiogramma è ben diverso: l'analisi dei dati ottenuti su un sufficiente numero test permette infatti di tracciare una “mappa epidemiologica” della resistenza antimicrobica e di stabilire così le più appropriate misure di controllo.

Per comprendere in modo adeguato i dati inerenti ai profili di resistenza di una determinata tipologia di microrganismi risulta essenziale conoscere con esattezza cosa sia l'antibiogramma e soprattutto come vengono stabiliti i valori oltre i quali un microrganismo viene considerato resistente a una molecola.

L'antibiogramma è, per definizione, il risultato di un test in cui viene saggiata, in vitro, la suscettibilità di un microrganismo a diversi antibiotici, testati in diverse concentrazioni. Dal punto di

vista tecnico può essere realizzato con diverse metodiche, caratterizzate da differenti gradi di complessità e di automatismo, tra le quali risulta fondamentale conoscere quella che tuttora viene considerata il gold standard, ovvero il test di diluizione basato sul concetto di Minima Concentrazione Inibente (MIC).

La MIC, ovvero la più bassa capacità di antibiotico in grado di inibire visibilmente in vitro la crescita di un determinato microrganismo, è quello che potremmo definire un “valore reale”: si tratta infatti di un preciso dato quantitativo, generalmente espresso in µg/ml (o mg/L), associato a una specifica coppia microrganismo-antimicrobico. Se prendiamo in esame uno specifico ceppo batterico, la MIC per un dato farmaco corrisponderà a un altrettanto specifico valore, che sarà tanto più elevato quanto più il clone batterico in esame risulta portatore di fattori di resistenza. Al fine di poter interpretare il valore della MIC, ovvero comprendere da esso se il microrganismo in esame sia resistente all'antimicrobico oggetto di saggio, il valore ottenuto deve essere confrontato con i “breakpoint clinici” standardizzati per le diverse combinazioni organismo-antibiotico.

I breakpoint (BP) vengono stabiliti da specifici organismi internazionali, tra i quali spiccano EUCAST e CLSI, e devono essere considerati come un compromesso tra aspetti clinici, epidemiologici e metodologici. Essi vengono ottenuti tramite un processo particolarmente complesso, che deve tener conto di numerosi parametri, quali le caratteristiche del microrganismo in esame, la posologia dell'antibiotico considerato, le indicazioni cliniche, i valori di farmacocinetica e di farmacodinamica, nonché i meccanismi di resistenza.

Dal punto di vista pratico i breakpoint hanno un valore “predittivo” rispetto a un esito migliore (sensibile) o peggiore (resistente) del trattamento di una data infezione con un dato antibiotico. Per ogni coppia microrganismo-molecola vengono identificati 2 breakpoint: quello della sensibilità, che divide i ceppi sensibili (S) da quelli intermedi (I), e quello della resistenza, che divide i ceppi intermedi (I) da quelli resistenti (R).

Risulta importante sottolineare come, a partire dal 2019, EUCAST, abbia modificato l'interpretazione del risultato “intermedio”: mentre precedentemente tale condizione era considerata corrispondente a un livello terapeutico incerto, attualmente deve essere interpretata come una “efficacia clinica associata a concentrazione ad alto dosaggio”. Tale nuova interpretazione è finalizzata ad ampliare le possibilità terapeutiche tramite variazioni nei dosaggi standard.

Al fine di ottenere una valida stima dell'efficacia di una terapia, la semplice categorizzazione di un microrganismo come sensibile, intermedio o resistente a un dato antibiotico non risulta tuttavia sufficiente. In ambito clinico è fondamentale il rapporto tra BP e MIC: quanto più il rapporto BP/MIC è elevato (ovvero tanto maggiore è la distanza del BP dalla MIC), tanto più l'antimicrobico sarà efficace verso il patogeno in esame.

In un'ottica di sanità pubblica, ovvero con lo scopo di quantificare il fenomeno dell'AMR in una “popolazione”, ciò che siamo chiamati a considerare non è tuttavia la specifica MIC di una

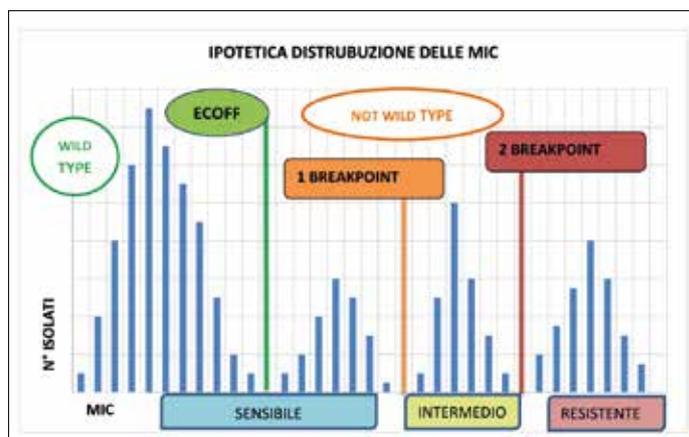


Figura 1

coppia antibiotico-patogeno, bensì la distribuzione delle MIC di diversi cloni batterici rispetto alla molecola in esame. Attraverso tale tipologia di analisi è possibile ottenere un importantissimo valore: il “Cut Off Epidemiologico” (ECOFF). Tale valore corrisponde alla minima concentrazione di antibiotico in grado di inibire tutti i ceppi “Wild Type” (WT) di una specie batterica, ovvero tutti i microrganismi fenotipicamente esenti da qualsiasi meccanismo di resistenza acquisita, mentre tale concentrazione non sarà sufficiente a inibire la crescita dei ceppi «Not Wild Type» (NWT), ovvero i microrganismi che hanno acquisito uno o più meccanismi di resistenza (figura 1).

### L'interpretazione e divulgazione dei dati di AMC e AMR: le Agenzie europee

Nodo fondamentale per rendere proficua un'analisi dati è la capacità di renderli facilmente fruibili. Il legislatore europeo, ben conscio di tale necessità, ha ormai da anni incaricato i principali organi tecnici coinvolti nel settore di produrre periodicamente report in materia.

Le principali agenzie europee che si occupano di ciò sono EFSA, ECDC ed EMA, che forniscono consulenza scientifica ai così detti “decisori” europei (Stati Membri, Commissione E Parlamento), occupandosi rispettivamente di sicurezza alimentare, malattie infettive e farmaci.

In ambito di contrasto all'AMR, EFSA svolge un ruolo di monitoraggio e valutazione del rischio, in particolare volta a rilevare profili di AMR in microrganismi zoonotici, indicatori o commensali isolati in animali DPA e in prodotti di origine animale. Noto è anche l'impegno dell'Agenzia nella divulgazione del rischio e nella pianificazione di interventi volti alla sua riduzione. Il coinvolgimento di ECDC nell'elaborazione dei dati inerenti al fenomeno dell'AMR ha invece inizio nell'anno 2010, quando l'Agenzia ha incorporato EARS-NET, un network creato nel 1999 dall'Istituto Olandese per la Salute Pubblica e L'Ambiente con l'obiettivo di raccogliere dati accurati e comparabili sul fenomeno dell'AMR, al fine di facilitare le decisioni politiche necessarie al controllo del fenomeno e di fornire indicazioni su

come adottare una corretta metodologia di sorveglianza. EMA, infine, nell'ambito della sua attività di promozione e protezione della salute pubblica e animale attraverso la valutazione scientifica dei farmaci, svolge un'intensa attività in materia di elaborazione e interpretazione dei dati inerenti al fenomeno dell'AMR. Con l'obiettivo di monitorare l'utilizzo degli antimicrobici negli animali, mandato attribuitole dalla commissione europea, EMA ha avviato, a partire dal 2009, il progetto ESVAC (*European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption*), che si occupa di raccogliere, elaborare e divulgare dati sull'utilizzo di agenti antimicrobici sulla base dei dati di vendita nazionali, nonché delle stime sui loro consumi nei principali gruppi di animali zootecnici.

Su esplicita richiesta della commissione EMA, EFSA ed ECDC producono ogni tre anni un report congiunto, noto come JACRA REPORT (*Joint Interagency Antimicrobial Consumption and Resistance Analysis*), nel quale vengono elaborati in modo integrato i dati inerenti ai consumi di antibiotico e quelli relativi all'insorgenza di fenomeni di AMR, sia in batteri di provenienza umana che animale. I report confermano una correlazione positiva tra l'uso di una determinata classe di antibatterici in una popolazione e la comparsa di forme di resistenza nei microrganismi in essa diffusi. Una nota fortemente positiva in tal senso per il settore veterinario, è contenuta nell'ultimo JACRA REPORT disponibile (triennio 2016-2018), che riferisce come nell'anno 2017 il consumo complessivo di antimicrobici negli animali d'allevamento, espresso in mg/kg di biomassa, è stato inferiore al corrispettivo in medicina umana (103,8 mg/kg contro 130 mg/kg), situazione mai verificatasi nei dati oggetto di analisi JACRA.

EMA, EFSA, ECDC hanno inoltre espresso la loro opinione congiunta su quali fossero i più appropriati indicatori disponibili per la sorveglianza dell'AMR e del consumo di antimicrobici nel settore umano e in quello degli animali da reddito.

L'indicatore primario di AMC in ambito veterinario è stato individuato nella vendita complessiva di antimicrobici espressa in mg/PCU, al quale si affiancano tre indicatori di tipo secondario espressi con la medesima unità di misura: le vendite di cefalosporine di 3<sup>a</sup>/4<sup>a</sup>, le vendite di polimixine e le vendite di chinoloni (specificando la percentuale di fluorochinoloni).

L'indicatore primario per AMR per gli animali produttori di alimenti è invece stato identificato come la percentuale di *E. coli* isolati da broiler, tacchini, bovine da latte e suini completamente sensibili a uno specifico pannello di antibiotici rispetto al totale degli isolati. Vi sono inoltre tre indicatori secondari, che valutano, rispetto al totale di ceppi dei *E. coli* isolati, rispettivamente:

- la percentuale di ceppi di *E. coli* resistenti a tre differenti molecole antimicrobiche (appartenenti a tre differenti classi);
- la percentuale di ceppi di *E. coli* resistenti alla ciprofloxacina;
- la percentuale di ceppi produttori di ESBL/AmpC;

Accanto alle tre grandi agenzie sopracitate, si sono sviluppati negli anni numerosi progetti di cooperazione, quali ad esempio AMEG (*Antimicrobial advice ad hoc expert group*) e RONAFa (*Reduction Of the Need for Antimicrobials in Food animals and*

*Alternatives*). Il gruppo AMEG è stato istituito con lo specifico compito di rispondere ai seguenti quesiti:

1. opportunità di utilizzo negli animali di "vecchi" antibiotici reintrodotti in medicina umana per la terapia di infezioni sostenute da batteri antibiotico-resistenti;
2. categorizzazione degli antimicrobici in base alle potenziali conseguenze per la salute pubblica conseguenti all'aumento dell'AMR indotto dal loro uso in medicina veterinaria;
3. parere in merito all'introduzione in medicina veterinaria di farmaci utilizzati nell'uomo per la terapia di infezioni sostenute da batteri antibiotico-resistenti;
4. parere sulle misure di gestione del rischio correlato all'uso di CIAA negli animali.

L'analisi aggregata delle risposte a questi quesiti ha portato a una categorizzazione degli antibiotici in quattro categorie: gruppo A (da evitare), gruppo B (da limitare), gruppo C (da utilizzare con attenzione), gruppo D (da utilizzare con prudenza). Questa classificazione rappresenta un compromesso volto a equilibrare i bisogni di salute umana e animale, in un'ottica di salute pubblica. Tra i fattori considerati da AMEG nel riservare alcuni specifici antimicrobici alla medicina umana, appaiono di particolare importanza le valutazioni in merito alla disponibilità o meno di alternative terapeutiche e la probabilità di trasferimento di resistenza dagli animali all'uomo, in particolare per via alimentare.

Il secondo grande progetto inter-agenzia, noto come RONAFa, nasce invece a seguito di una specifica richiesta di parere della Commissione: quali potrebbero essere le misure possibili per ridurre l'uso di antibiotico negli animali allevati? E quale sarebbe il conseguente impatto sulla sicurezza alimentare? Gli esperti costituenti il gruppo hanno esaminato tutte le misure intraprese dagli Stati Membri per ridurre l'uso di antimicrobici con la conclusione che solo un approccio integrato e multidisciplinare, che tenga conto dei diversi settori produttivi locali e che coinvolga tutti i principali stakeholders, possa portare ai risultati attesi. La linea di condotta auspicata è stata espressa da RONAFa tramite l'iconografia di figura 2, finalizzata a divulgare efficacemente l'informazione a tutti i livelli.

Tra le azioni ipotizzate da RONAFa per attuare i tre macro-obiettivi fissati vi sono la graduale eliminazione dell'uso preventivo degli antibiotici, la ricerca di nuove alternative terapeutiche (affiancata a un idoneo quadro normativo in materia), l'incremento nelle misure di prevenzione e controllo delle malattie e l'introduzione di sistemi zootecnici innovativi.

### L'antimicrobico-resistenza nel settore ambientale

Sebbene un livello naturale di antimicrobico-resistenza sia presente in qualsiasi comunità microbica, l'uso eccessivo, protratto e improprio di antimicrobici in attività umane e veterinarie ha favorito lo sviluppo e la diffusione di resistenze antimicrobiche in tutto il pianeta.

L'abbondanza e la diversità dei geni di resistenza e dei batte-



Figura 2

ri resistenti presenti nell'ambiente sono strettamente correlate all'impatto locale delle attività dell'uomo che coinvolgono uso o emissione di antibiotici (allevamenti zootecnici e impianti di acquacoltura intensivi, scarichi fognari urbani e sanitari). Questi si diffondono nell'ambiente tramite molteplici vie di contaminazione, sia come principi attivi non utilizzati sia come metaboliti. In molti Paesi è assente un monitoraggio rappresentativo delle dinamiche di diffusione dell'AMR nell'ambiente, prerequisito fondamentale per sviluppare azioni di prevenzione e abbattimento. Molte attività antropiche esercitano un'azione favorente e selettiva sullo sviluppo delle resistenze nei microrganismi esistenti in natura.

A titolo di esempio, l'uso di antibiotici, soprattutto se inappropriato, induce una pressione selettiva sui batteri presenti nel nostro corpo, che possono sviluppare una resistenza a questi farmaci. Espulsi principalmente attraverso feci e urine, questi batteri resistenti possono contaminare l'ambiente e trasmettere i determinanti genetici dell'antibiotico-resistenza ad altri microrganismi presenti nell'ambiente e al microbioma di animali e piante. Inoltre, occorre considerare che il corpo umano espelle anche buona parte dei farmaci assunti.

Infatti, una quota consistente di un principio attivo terapeutico, variabile tra il 30% e il 90%, non viene assimilato ed è quindi escreto negli scarichi domestici e ospedalieri. Non solo, ogni anno vengono vendute nel mondo decine di migliaia di tonnellate di farmaci per uso umano o veterinario, ma le quantità non utilizzate non vengono smaltite in maniera adeguata, contribuendo così a contaminare l'ambiente.

Pertanto, batteri resistenti, metaboliti di antibiotici e residui di medicinali finiscono nelle acque reflue urbane e negli impianti di depurazione delle acque, e poiché neanche le tecnologie più avanzate riescono a eliminarli del tutto, contaminano corsi d'acqua, inclusi laghi e mari, acque irrigue e acqua potabile.

Una volta nell'ambiente, il farmaco, a seconda delle caratteristiche chimico-fisiche, viene degradato oppure può accumularsi. Alcuni antibiotici hanno una vita media nell'ambiente superiore a 1 anno, altri possono contaminare l'ambiente per decenni.

Nonostante le diverse caratteristiche di persistenza che variano da classe a classe, gli antibiotici e più in generale i farmaci, vengono generalmente definiti "semi persistenti" poiché il loro utilizzo è continuo e massiccio: quantitativi rilevanti vengono immessi quotidianamente nell'ambiente in seguito all'uso in medicina umana e veterinaria. In pratica, anche se alcune sostanze si de-

gradano rapidamente nell'ambiente, risultano sempre presenti a causa dell'immissione continua. Inoltre, molti principi attivi per il trattamento delle malattie infettive umane vengono utilizzati anche nella medicina veterinaria.

Numerose sostanze antimicrobiche sono quindi comunemente presenti nelle acque dei fiumi e dei laghi di aree densamente popolate, in concentrazioni relativamente basse, ma ancora potenzialmente tossiche, esponendo gli organismi acquatici a un contatto cronico. Anche molti processi di produzione industriale, fattorie agricole, operazioni per l'alimentazione animale, oltre a percolati di discarica e deflusso urbano contribuiscono a questo tipo di inquinamento ambientale. L'inquinamento da farmaci per uso umano e veterinario, documentato da decenni, ha dimensioni globali e correla con la presenza umana.

Alcuni studi hanno evidenziato come nelle acque del nord Europa si riscontri una maggiore presenza di sedativi e antidepressivi, mentre nelle aree più a sud del globo i contaminanti medicinali più rilevati sarebbero gli antibiotici. Questi prodotti possono favorire e selezionare resistenze antimicrobiche in alcuni microrganismi e, data la velocità di replicazione degli stessi, queste resistenze si diffondono nell'ambiente senza possibilità di controllo. A titolo di esempio, ceppi di *Escherichia coli* produttori di  $\beta$ -lattamasi a spettro esteso (*Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing E. coli*, ESBL-EC) o pAmpC (*plasmid-mediated AmpC-producing E. coli*, pAmpC-EC), resistenti ad antibiotici  $\beta$ -lattamici molto importanti per il trattamento di alcune infezioni umane e animali, sono stati isolati sempre più frequentemente, a partire dall'anno 2000, a livello globale, negli animali, negli alimenti, nell'ambiente e nelle infezioni umane acquisite in comunità o associate all'assistenza sanitaria.

Spesso le infezioni umane sono precedute da uno stato di portatore ESBL/pAmpC asintomatico, per cui è difficile stabilire l'origine di queste infezioni. In vari studi è stato valutato il contributo relativo di reservoir diversi allo stato di portatore intestinale di *E. coli* ESBL o pAmpC, e la trasmissione umana comunitaria risulterebbe la fonte di contaminazione principale, seguita dagli alimenti e dal contatto con animali da compagnia, mentre l'attività ricreativa in acque superficiali o il contatto con volatili selvatici contribuirebbero in minima parte. In anni recenti, è stato stimato che dal 10% al 30% degli isolati clinici di *E. coli* che producono ESBL possono provenire da allevamenti animali, anche se questa proporzione dipende dal livello di dettaglio con cui vengono studiate le relazioni genetiche dei ceppi isolati, ed è soggetta a variazioni di campionamento di tipo geografico, temporale e di fonte.

Pertanto, si ritiene che le fonti non-umane abbiano un ruolo molto importante nel mantenere la trasmissione di queste resistenze, e studi longitudinali e un monitoraggio continuo saranno indispensabili per stabilire rischi attribuibili e mettere in atto possibili interventi di sanità pubblica. I crescenti livelli di AMR nei comuni patogeni di origine alimentare hanno evidenziato la necessità di azioni per migliorare la sicurezza alimentare e il coordinamento tra i diversi settori.

Le autorità per la sicurezza alimentare svolgono un ruolo chiave nel rafforzare il quadro giuridico riguardante i residui di antimicrobici negli alimenti. Il *Codex Alimentarius*, che sviluppa standard e linee guida con l'obiettivo di proteggere la salute e facilitare un commercio equo e solidale nel settore alimentare, include le indicazioni per la gestione della resistenza antimicrobica lungo la catena alimentare e nei mangimi per gli animali. L'uso prudente di antimicrobici nella produzione agricola e zootecnica e in acquacoltura è fondamentale per ridurre il rischio di acquisire patogeni resistenti di origine alimentare. Il sostegno fornito dalla Commissione e dallo *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) all'approccio One Health degli Stati Membri non ha ancora prodotto risultati dimostrabili in termini di riduzione dell'AMR (Cortei dei Conti europee, 2019). A titolo di esempio, in Italia sono stati riportati isolati resistenti di *E. coli* anche in allevamenti di suini biologici, e la presenza di batteri Gram-negativi antibiotico-resistenti, soprattutto *Enterobacteriales*, è stata dimostrata in animali marini sia sani che malati, che contribuiscono alla loro diffusione. Anche gli uccelli selvatici sono stati identificati come fonte di ceppi batterici resistenti, per esempio di *Salmonella* spp.

È stato anche valutato il rischio per la salute umana durante lo svolgimento di attività ricreative nelle acque superficiali. L'impatto dell'AMR indotta dall'uomo nel settore ambientale rimane poco conosciuto e generalmente indagato soltanto a livello locale. In Europa, per la prima volta nel 1993, la Direttiva 93/39/CEE introduceva la necessità di segnalare ogni possibile rischio ambientale potenzialmente correlato all'utilizzo dei prodotti medicinali.

Successivamente, l'Agenzia europea per i medicinali (*European Medicines Agency*, EMA) introduceva il principio della valutazione del rischio ambientale per tutti i nuovi farmaci prima della registrazione. Mentre la valutazione annuale del Piano Nazionale Residui (Ministero della Salute, 2019) assicura che la popolazione non sia esposta a sostanze antibatteriche attraverso il consumo di alimenti di origine animale, rimane complesso stabilire quale sia l'impatto sulla salute umana dell'esposizione continua nel tempo a microrganismi resistenti e residui antimicrobici attraverso la matrice ambientale, e vari fattori possono influire sui risultati degli studi di valutazione del rischio, come la sensibilità degli strumenti analitici e la qualificazione del personale addetto ai rilevamenti, il grado di diluizione degli antimicrobici nell'ambiente e i tempi di degradazione ambientale, la possibilità di bioconcentrazione e di biomagnificazione. Per questi motivi, per il contrasto al fenomeno dell'AMR è necessaria una collaborazione globale trasversale, sia fra i Paesi sia tra le competenze dei diversi settori, e sviluppare un'agenda comune per la salute che includa il settore veterinario e ambientale.

L'AMR, data da geni di resistenza ad antibiotici sintetici e semisintetici, si diffonde nell'ambiente tramite molteplici vie di contaminazione e in seguito alle differenti attività antropiche in cui vi è un elevato utilizzo di antibiotici. I geni di resistenza possono raggiungere l'ambiente sia tramite fonti diffuse di con-

taminazione (aree ad agricoltura intensiva, distretti industriali, attività umane distribuite sul territorio) sia attraverso sorgenti puntiformi quali impianti zootecnici intensivi, acquacoltura e scarichi fognari urbani e ospedalieri.

Gli scarichi fognari urbani, che spesso ricevono scarichi ospedalieri trattati e non trattati, sono tra le principali fonti di immissione di determinanti di AMR nell'ambiente, per il tramite degli effluenti degli impianti di depurazione che, per come concepiti, sono attualmente poco o per nulla efficienti nella loro rimozione. Bisogna inoltre tener conto che la copertura di raccolta e trattamento dei reflui urbani non è completa e vi sono pertanto scarichi diretti di reflui non trattati in corsi d'acqua e laghi come dimostrato recentemente dall'analisi di alcuni marcatori antropici nel bacino del fiume Lambro.

Ulteriore sversamento diretto di reflui non trattati avviene in periodi di forte pioggia, quando i depuratori non riescono a collettare interamente i reflui che ricevono e sono costretti a scaricarne direttamente una parte senza trattamento. Studi recenti hanno evidenziato e quantificato in ambito nazionale sia la presenza di sorgenti di contaminazione diffuse che puntiformi, ponendo le basi scientifiche necessarie per possibili azioni di contenimento delle resistenze. L'impatto dell'utilizzo massivo di antibiotici non causa solo il rilascio in ambiente di batteri resistenti e di geni di resistenza (*Antibiotic Resistant Gene*, ARG), ma anche di notevoli quantitativi dei diversi antibiotici, che sono tra i farmaci più utilizzati in medicina umana e veterinaria e che possono avere un ruolo cruciale nello sviluppo di resistenze.

Le sostanze parentali non metabolizzate dal corpo umano e i rispettivi metaboliti vengono escreti per via urinaria e fecale, raggiungono le acque reflue urbane e gli impianti di depurazione delle acque, dove generalmente non sono rimossi totalmente. Antibiotici e metaboliti vengono quindi immessi in corsi d'acqua, laghi o mare con le acque trattate oppure in suoli tramite l'utilizzo dei fanghi di depurazione come concime nei campi. Dai suoli possono infine raggiungere nuovamente le acque superficiali o le acque di falda per percolazione.

L'Italia è uno dei paesi europei con più elevato consumo di antibiotici e sviluppo di resistenze sia in ambito veterinario che medico ospedaliero, che vengono monitorate sia come presenza sia per il loro destino ambientale sul territorio nazionale, in studi successivi al 2000. In particolare, in uno studio dedicato agli antibiotici è stato stimato che in Italia, circa 7–14 tonnellate di antibiotici sono immesse annualmente nell'ambiente tramite i reflui urbani trattati, mentre uno studio più recente ha mostrato come gli antibiotici siano tra i composti più abbondanti nei reflui urbani e nelle acque di superficie.

Gli antibiotici più abbondanti sono risultati macrolidi (claritromicina, deidro-eritromicina) e fluorochinoloni (ciprofloxacina, ofloxacina) che sono stati presenti nel range di alcune centinaia di nanogrammi/Litro (ng/L). Tracce di questi composti sono state rilevate anche nelle acque di falda indicando una presenza ubiquitaria degli antibiotici nell'ambiente.

La presenza di antibiotici e di ARG nei reflui trattati e nelle acque

di superficie può creare ulteriori potenziali rischi se queste acque vengono riutilizzate per l'irrigazione in agricoltura, Questa pratica è molto diffusa anche in Italia e viene adottata specialmente in zone ad alta intensità agricola e scarse risorse acquifere (es. Israele, Spagna).

Il problema è a oggi poco studiato e la ricerca dovrebbe focalizzarsi sullo studio dell'impatto del riuso delle acque trattate in agricoltura legato alla presenza di microinquinanti quali farmaci e antibiotici. Di fatto è dimostrata l'inefficienza dei sistemi convenzionali di trattamento e disinfezione ad abbattere in modo efficiente e selettivo i batteri resistenti e a distruggere o inattivare i geni di resistenza. Se le tecniche di disinfezione chimica tradizionale (es. clorinazione) non vengono utilizzate perché i loro sottoprodotti possono essere altamente tossici e inficerebbero la qualità dell'acqua per riuso, anche le metodologie alternative utilizzate (es. ozono, carboni attivi, radiazione UV) hanno grossi limiti tecnici che ne riducono l'efficienza.

Quando si considera la produzione di acqua reflua da riutilizzo agricolo, in accordo con la legislazione nazionale, si deve considerare che spesso il refluo forma canali irrigui che non si mescolano con altre acque superficiali per svariate centinaia di metri o addirittura per chilometri, e che generalmente questi canali terminano direttamente nei terreni da irrigare. La mancanza di "mixing" con acque superficiali fa sì che le comunità microbiche che escono dal depuratore non siano esposte ai fattori ecologici che ne limiterebbero la crescita e le possibilità di permanenza, che invece si stabilirebbero con il mixing con altre acque superficiali; di fatto questo permette la crescita incontrollata (in qualche ora) di batteri sopravvissuti ai trattamenti e potenzialmente molto pericolosi per la salute umana (batteri patogeni e antibiotico-resistenti).

È stato anche dimostrato che l'esposizione continuativa di comunità batteriche naturali ad acque reflue per riuso agricolo al più elevato stato di purezza attualmente ottenibile e di fatto prive di cellule batteriche, è risultato nella promozione di una crescita incontrollata di ceppi di *Pseudomonas* e *Acinetobacter* generalmente molto rari in comunità non disturbate. Questa situazione suggerisce l'applicazione di metodi di trattamento alternativi a oggi solo sperimentali (*Advanced Oxidation Processes*, come fenton o photo-fenton, possibilmente combinati a micro o nano-filtrazione) a oggi saggiati solamente in settaggi sperimentali.

Già da molti anni si riconosce che i sistemi di zootecnia e acquacoltura intensivi hanno determinato un notevole incremento della produzione di risorse alimentari. Per questa attività, però, vengono utilizzate consistenti quantità di farmaci, principalmente antibiotici, che vengono somministrati agli animali per curare ed evitare il diffondersi di malattie batteriche tra gli animali, fenomeno molto comune nelle condizioni di alta densità in cui sono mantenuti. I farmaci vengono somministrati per via orale, e per questa via vengono scarsamente assorbiti; sono quindi escreti in forma attiva con le deiezioni, da cui vengono veicolati nei vari comparti ambientali. Poiché i farmaci vengono scelti in

base alla loro efficienza farmacologica e alle loro caratteristiche fisiche e chimiche (es. stabilità e persistenza), una volta smaltiti nell'ambiente possono rappresentare contaminanti pericolosi per il biota degli ecosistemi in cui vengono introdotti. Infatti, i farmaci sono progettati per avere elevata affinità e attività biologica sugli organismi, proprietà che ne facilitano l'uptake nel biota e provocano anche effetti tossici sugli organismi.

Il destino e gli effetti dei farmaci che si accumulano nell'ambiente sono documentati già da molto tempo. La presenza di antibiotici nei reflui zootecnici di allevamenti terrestri è ampiamente dimostrata da fonti bibliografiche e riscontri analitici (es. la presenza di tetracicline e sulfamidici); questi reflui vengono spesso 'lagunati' e le concentrazioni di tetracicline nei lagoni mostrano una certa omogeneità per fasce di profondità, e aumentano con questa. Dall'analisi delle cinetiche di degradazione si può dedurre che nella situazione tipo di un lagone, la curva di degradazione è in fase di asintoto, e che quindi, il prolungamento del periodo di lagunaggio non è in grado di abbassare ulteriormente la concentrazione di farmaco. Dopo il periodo di lagunaggio i reflui vengono utilizzati nella pratica cosiddetta di 'fertirrigazione' per cui i reflui e il loro carico di antibiotici in forma attiva vengono sversati sui terreni agricoli.

La presenza di questi farmaci nei suoli e il loro trasferimento e/o accumulo nelle piante, è un processo comune e ben noto già da molto tempo. Anche la presenza di antibiotici nei reflui dell'acquacoltura è stata dimostrata da fonti bibliografiche e riscontri analitici. I reflui dell'acquacoltura vengono direttamente immessi negli ambienti dulciacquicoli e marini aprendo problemi quali il destino ambientale e gli effetti di questi farmaci sul comparto marino. Per questi allevamenti il problema è ulteriormente aggravato dall'alimento 'medicato' (cioè quello che contiene i farmaci) non utilizzato dai pesci che entra direttamente negli ecosistemi acquatici insieme al suo carico di nutrienti.

La contaminazione da antibiotici e determinanti di AMR coinvolge sicuramente la matrice ambientale acquatica (acque reflue, di superficie e di falda) e terrestre (suoli e sedimenti), ma non si esclude il coinvolgimento del biota (piante che accumulano i farmaci e animali), amplificando il rischio che organismi non-target (microrganismi, ma anche piante, animali e uomo) entrino in contatto con questi residui attivi di farmaci presenti nell'ambiente. Il comportamento ambientale e la persistenza degli antibiotici variano in base alle proprietà chimico fisiche delle differenti sostanze, ma questa classe di contaminati viene generalmente definita "semi persistente" poiché il loro utilizzo è continuo e massiccio e quantitativi rilevanti vengono immessi quotidianamente nell'ambiente a seguito d'uso in medicina umana e veterinaria.

La presenza di antibiotici, sia nelle matrici ambientali sia nel biota, è una presenza a basse concentrazioni, perché i farmaci si 'diluiscano' nelle matrici ambientali (abiotiche e biotiche). Pertanto, ci sono molti ambienti (es. acque reflue, fanghi, suolo e acque superficiali) in cui i batteri sono esposti per lunghi periodi di tempo a basse concentrazioni di antibiotici. Inoltre, durante

l'uso terapeutico basse concentrazioni di antibiotici (al di sotto della minima concentrazione inibente: *Minimal Inhibitory Concentration*, MIC) potrebbero trovarsi in determinati tessuti o comparti dell'ospite umano/animale trattato.

Diversi studi hanno dimostrato che bassi livelli di antibiotici (sub-MIC) possono selezionare mutanti resistenti preesistenti nelle popolazioni batteriche, indicando come queste situazioni possano contribuire all'evoluzione della resistenza anche a concentrazioni molto più basse della MIC. È dunque sempre più chiaro che bassi livelli di antibiotici presenti in molti ambienti possono selezionare batteri resistenti, ma i percorsi evolutivi per lo sviluppo di resistenza durante l'esposizione a basse quantità di antibiotici rimangono ancora poco definiti.

Oltre a questo fenomeno selettivo, già chiaramente previsto, va tenuto in considerazione un altro processo fisiologico, meno noto ma ampiamente accertato, l'ormesi. L'ormesi è una relazione dose-risposta bifasica, considerata una funzione adattativa e caratterizzata da una lieve stimolazione della funzione considerata (30-60%) a basse concentrazioni e dall'inibizione della stessa funzione a dosi più elevate. Molti organismi filogeneticamente distanti e sistemi biologici esposti a una vasta gamma di stimoli mostrano una risposta bifasica dose-dipendente. La definizione di ormesi non tiene conto del risultato (benefico o dannoso) della stimolazione, che deve essere dedotto dal contesto biologico o ecologico, ma in un ambiente variabile imprevedibile, il processo ormetico consente a un singolo individuo di superare una condizione di stress di bassa/media intensità. In questo contesto la risposta ormetica è in grado di favorire la crescita dei microrganismi in presenza di basse/medie concentrazioni di antibiotico, invece di limitarne la crescita. A titolo di esempio le dosi di tetraciclina che inducono la risposta ormetica in *E. coli* sono paragonabili alle concentrazioni comunemente rilevate nei suoli e nelle acque contaminate, così come quelle di sulfamidici ed eritromicina.

La risposta ormetica a queste concentrazioni apre nuove preoccupazioni sugli effetti della contaminazione ambientale da antibiotici. In contesti ambientali (acque libere, suoli) è ancora da dimostrare una diretta correlazione tra la presenza di antibiotici (generalmente in dosi bassissime, nell'ordine di pochi ng/L) e lo sviluppo o la permanenza di resistenze.

Infatti, diversi studi sperimentali hanno dimostrato che in presenza di dosi bassissime (ma comunque uguali o superiori a quelle ambientali) di diversi antibiotici, la risposta della comunità batterica è stata fenotipica o comportamentale, con un aumento di aggregazione e biofilm, senza però uno sviluppo di determinanti genetici di resistenza se non si considerasse un aumento relativo del gene *IntI1* (integroni dell'integrasi 1) che è considerato un proxy di adattamento della comunità microbica a un inquinamento di origine antropica, o anche di potenziale sviluppo di antibiotico-resistenza. Ricerche più dettagliate, che siano in grado di modellizzare e contestualizzare i sistemi ambientali così come fatto per i sistemi batterio/organismo ospite, sono necessari per chiarire questo importante aspetto del ciclo dell'antibiotico-resistenza in ambiente. Per preservare l'efficacia dei farmaci è dunque

necessario imporre una regolamentazione più severa sull'uso (e l'abuso) di antibiotici ma, in definitiva, è solo attraverso la ricerca – in particolare attraverso la comprensione degli effetti biologici degli antibiotici su singoli ceppi microbici e sulle comunità microbiche nel loro complesso – che si potrà continuare la corsa contro la diffusione della resistenza agli antibiotici.

#### **Direttiva acque e “watch list”**

La direttiva 2013/39/UE ha predisposto un nuovo meccanismo per fornire informazioni attendibili sul monitoraggio di sostanze emergenti che potenzialmente possono inquinare l'ambiente acquatico europeo. Questo strumento, chiamato elenco di controllo (Watch List), monitora tutto il territorio europeo e viene aggiornato ogni 2 anni. Cinque sono gli antibiotici a oggi considerati: tre macrolidi (Eritromicina, Claritromicina e Azitromicina), e poi amoxicillina e ciprofloxacina.

Il processo di valutazione di un medicinale per uso umano sotto il profilo ambientale, in base alle linee guida predisposte dall'EMA, consiste schematicamente nella stima delle concentrazioni ambientali previste (PEC) delle sostanze attive e dei loro metaboliti nel comparto acquatico e nei sistemi di depurazione delle acque reflue, nella valutazione degli effetti sulle popolazioni animali potenzialmente esposte e, infine, nella valutazione del rischio che scaturisce dal porre a confronto le concentrazioni stimate (PEC) con le concentrazioni ambientali previste di non effetto (PNEC). Quando un farmaco presenta rischi significativi per l'ambiente (PEC > PNEC), l'azienda farmaceutica deve proporre misure di precauzione e di riduzione dei rischi ambientali, che possono riguardare sia la fase di somministrazione del farmaco che la fase di smaltimento. La valutazione del rischio ambientale è comunque obbligatoria anche per ogni nuovo farmaco veterinario immesso sul mercato europeo e le modalità per effettuare tale valutazione sono indicate nelle linee guida dell'EMA.

#### **Linee guida dell'EMA per la valutazione del rischio ambientale dei farmaci a uso umano e veterinario, con particolare riferimento agli antimicrobici**

Per i medicinali veterinari (*Veterinary Medicinal Products*, VMP) a seguito del primo documento di orientamento del 1997 (EMEA/CVMP/055/96-Final) entrano in vigore due linee guida successive, rispettivamente nel 2000 e nel 2005, che descrivono in modo specifico le valutazioni di rischio di Fase I (CVMP/VICH/592/98-Final) e di Fase II (CVMP/VICH/790/03-Final). Sinteticamente, la Fase I consiste nell'identificazione della natura della sostanza in esame (sostanza attiva, eccipienti, metaboliti) e nella valutazione del potenziale di esposizione ambientale. Mediante l'applicazione di un albero decisionale vengono escluse dalle successive analisi le sostanze a basso potenziale di esposizione ambientale, quindi con un probabile rischio ridotto per l'ambiente.

Vengono valutati rischi per l'ambiente acquatico o terrestre a seconda dell'utilizzo di ciascuna sostanza, in caso di superamento dei valori soglia di *Expected Introduction Concentration* (EIC) per l'ambiente acquatico e di PEC per l'ambiente terrestre

è prevista la prosecuzione alla Fase II. La Fase II è divisa in due Tier. Il Tier A prevede la valutazione di emissioni, distribuzione, esposizione, effetti e rischi ambientali della sostanza in esame. Complessivamente il Tier A prevede una valutazione conservativa del rischio, basata sui dati di esposizione e sugli effetti di tipo acuto, nel comparto ambientale critico. Nel caso la valutazione indichi per la sostanza in esame un possibile rischio per alcune specie ambientali, sono allora richiesti test più specifici, nell'ambito del Tier B. Le informazioni sulla valutazione di rischio vengono infine raccolte in un'unica linea guida (EMEA/CVMP/ERA/418282/2005-Rev.1) (EMEA CVMP, 2005) che entra in vigore nel 2009 mantenendo lo stesso schema delle precedenti ma fornendo informazioni tecniche più dettagliate sulla metodologia per condurre la valutazione di rischio.

La valutazione di rischio per la presenza di antimicrobici nell'ambiente viene analizzata in dettaglio per la prima volta nella recente revisione della linea guida per la valutazione di rischio dei farmaci a uso umano (EMEA/CHMP/SWP/4447/00 Rev.1, pubblicata nel 2018). Si prevede in Fase I una valutazione specifica (tailored assessment) per alcune classi di sostanze, in particolare per gli antimicrobici la valutazione di rischio richiesta si focalizza sui livelli trofici inferiori come batteri (Cianobatteri), alghe (alghe verdi) e invertebrati acquatici come *Daphnia magna* di cui è nota la sensibilità agli antibiotici che ne alterano il microbiota intestinale compromettendo l'alimentazione e la crescita. Se si evidenziano effetti di tossicità, la sostanza passa direttamente alle valutazioni di Fase II descritte precedentemente.

## Conclusioni

Il presente lavoro è stato realizzato con l'obiettivo di fornire una panoramica delle attuali conoscenze in materia di antimicrobico-resistenza, con particolare riguardo alle possibili misure attuabili per la gestione di uno dei più importanti problemi di sanità pubblica a livello mondiale, in un'ottica one-health. Pur consapevoli che gli aspetti tecnico-scientifici affrontati e proposti nella trattazione non sono completi, condizione inevitabile vista la complessità della materia e la sua rapida e costante evoluzione, l'obiettivo degli autori è quello di colmare, per quanto possibile, nella nostra categoria, alcune lacune nelle conoscenze sulla comparsa e sulla diffusione della resistenza antimicrobica, al fine di garantire, come sempre, il proprio contributo professionale a tutela della salute dell'uomo, degli animali e del loro ecosistema.

## Sitografia e bibliografia

1. <https://www.efsa.europa.eu/en/howwework/workingpractices>
2. <https://ecdc.europa.eu/en/about-us/partnerships-and-networks/disease-and-laboratory-networks/ears-net>
3. <https://ecdc.europa.eu/en/food-and-waterborne-diseases-and-zoonoses>
4. <https://ecdc.europa.eu/en/antimicrobial-consumption/surveillance-and-disease-data/database>

5. <https://ecdc.europa.eu/en/healthcare-associated-infections>
6. ESVAC reports on [www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu)
7. Advice on impacts of using antimicrobials in animals | European Medicines Agency ([europa.eu](http://europa.eu))
8. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/categorisation-antibiotics-european-union-answer-request-european-commission-updating-scientific\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/categorisation-antibiotics-european-union-answer-request-european-commission-updating-scientific_en.pdf)
9. <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4666>
10. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/third-joint-interagency-antimicrobial-consumption-and-resistance-analysis-report>
11. [https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/efs2\\_4872\\_final.pdf](https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/efs2_4872_final.pdf)
12. [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Report/2017/10/WC500237745.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Report/2017/10/WC500237745.pdf)
13. European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption (ESVAC) | European Medicines Agency ([europa.eu](http://europa.eu))
14. <https://www.ecdc.europa.eu/en/antimicrobial-consumption/surveillance-and-disease-data/report-protocol>
15. [http://www.eucast.org/mic\\_distributions\\_and\\_ecoffs/](http://www.eucast.org/mic_distributions_and_ecoffs/)
16. [https://www.eurl-ar.eu/CustomData/Files/Folders/21-protocols/529\\_esbl-ampc-cpeprotocol-version-meat-v7-09-12-19.pdf](https://www.eurl-ar.eu/CustomData/Files/Folders/21-protocols/529_esbl-ampc-cpeprotocol-version-meat-v7-09-12-19.pdf)
17. <https://mic.eucast.org/Eucast2/>
18. <https://ecdc.europa.eu/en/about...networks/...networks/ears-net>
19. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2019>
20. Data from the ECDC Surveillance Atlas - Antimicrobial resistance ([europa.eu](http://europa.eu))
21. JIACRA-III-Antimicrobial-Consumption-and-Resistance-in-Bacteria-from-Humans-and-Animals.pdf ([europa.eu](http://europa.eu))
22. <https://www.who.int/en/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
23. [https://health.ec.europa.eu/antimicrobial-resistance/eu-action-antimicrobial-resistance\\_it](https://health.ec.europa.eu/antimicrobial-resistance/eu-action-antimicrobial-resistance_it)
24. <https://www.iss.it/documents/20126/0/EU-JAMRAI+azione+europea+contro+AMR+e+HCAI+2020.pdf/1ccafa1c-1ac6-214f-6369-3615204e85bc?t=1603879751534>
25. [https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:52015XC0911\(01\)&from=IT](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:52015XC0911(01)&from=IT)
26. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32019R0006&from=IT>
27. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32019R0004&from=IT>
28. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32022R1255&from=IT>
29. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32020D1729&from=it>
30. Giardina S, Castiglioni S, Corno G, Fanelli R, Maggi C, Migliore L, Sabbatucci M, Sesta G, Zaghi C, Zuccato E. Approccio ambientale all'antimicrobico-resistenza. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2021. (Rapporti ISTISAN 21/3).