

# IDENTIFICAZIONE E VALUTAZIONE DELLA SENSIBILITÀ AGLI ANTIBIOTICI DI BATTERI POTENZIALMENTE PATOGENI ISOLATI DA ANIMALI

ELISABETTA MAIOLI, ANNA MARCHESE, LORENZO ROSSI\*, FABRIZIO CAVALLINI, EUGENIO A. DEBBIA

\*Dipartimento di Oncologia, Università di Genova

## Riassunto

Presso il laboratorio di Microbiologia dell'Università di Genova sono stati analizzati 25 ceppi di batteri Gram-positivi, 21 Gram-negativi e 3 miceti, isolati da campioni provenienti da Studi Veterinari. *Staphylococcus aureus* ha evidenziato resistenza ai macrolidi (60%), tetracicline (40%) e come atteso alla penicillina (66,7%), mentre le altre molecole hanno dimostrato attività inibente. Gli stafilococchi coagulasi negativi hanno manifestato maggiori percentuali di resistenza in particolare verso oxacillina (37,5%) e tetraciclina (25%), mentre nei confronti degli altri farmaci saggiate i livelli di insensibilità sono stati intorno al 12% con l'eccezione di teicoplanina, fosfomicina e cotrimossazolo che hanno inibito tutti gli isolati. Nei confronti dei batteri Gram-negativi l'attività di tutti i principi attivi è stata inibente con l'eccezione delle penicilline non protette, cefalotina, cefamandolo e minociclina. Uno studio su un gatto affetto da otite e seguito per oltre tre mesi (tre prelievi) ha consentito l'isolamento finale di un ceppo di *Escherichia coli* produttore di biofilm che è stato trattato efficacemente con clorexidina in associazione con un aminoglicoside.

## Summary

A number of bacteria (25 Gram-negative, 21 Gram-positive strains and 3 mycetes) collected from animals were studied in the Microbiological Laboratory at the University of Genoa (Italy). Among Gram-positive isolates, *S. aureus* exhibited resistance to macrolides (60%), tetracyclines (40%) and as expected to penicillin (66.7%), while the other drugs demonstrated an useful activity against this species. Coagulase-negative staphylococci revealed a higher percentage of resistance, as compared to *S. aureus*, towards oxacillin (37.5%) and tetracyclines (25%), with respect to the other antibiotics the level of resistance was lower than 12% with the exception of teicoplanin, fosfomycin and cotrimoxazole which showed full activity towards the above isolates. Against Gram-negative strains all the drugs demonstrated an useful activity with the exception of ampicillin, cefoxitin, cefamandole and minocycline. From a cat affected by otitis 3 samples in three months were collected. A biofilm-producing *E. coli* strain was isolated from the last swab. The use of chlorohexidine in combination with an aminoglycoside eliminated the pathogen.

## INTRODUZIONE

La resistenza da parte dei batteri agli antibiotici maggiormente utilizzati in terapia ha ormai assunto una dimensione globale coinvolgendo anche l'ambiente comunitario, per lungo tempo esente da queste problematiche, ma ove le segnalazioni di ceppi resistenti sono ormai purtroppo sempre più frequenti<sup>1-3</sup>. La comunità scientifica si

chiede quali siano le misure più opportune da adottare per arginare questo fenomeno, pur individuando nello sviluppo di nuovi principi attivi unitamente ad un impiego più appropriato dei farmaci disponibili le soluzioni più valide.<sup>4-7</sup> Sul fenomeno della resistenza agli antibiotici sono emerse da più parti ipotesi che hanno chiamato in causa la grande adattabilità dei batteri ai più disparati ambienti, la loro rapida riproduzione, le possibilità che hanno di scambiarsi materiale genetico anche tra specie diverse e, soprattutto un uso intenso degli antibiotici per il trattamento delle infezioni sia nell'uomo, sia nell'animale e in molti contesti diversi dalla medicina<sup>8-15</sup>.

“Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 26/11/2004 ed accettato per pubblicazione dopo revisione il 25/2/2005”.

La resistenza ai farmaci è spesso correlata con fallimenti terapeutici se si utilizza l'antibiotico non efficace in vitro, anche se in realtà il successo di una terapia dipende da molti fattori che includono la gravità dell'infezione, l'età e le condizioni generali dell'ospite, il patogeno in causa, le caratteristiche farmacocinetiche delle molecole, la sede dell'infezione, ecc. La scelta del farmaco da impiegare viene inoltre suggerita da considerazioni che tengono conto del patogeno più frequentemente coinvolto nella specifica infezione e della sua resistenza agli antibiotici<sup>16-18</sup>.

Le malattie infettive in campo veterinario non sono esenti da tali problematiche e la diagnostica di laboratorio, assai spesso tralasciata, dovrebbe essere finalizzata a identificare l'agente eziologico.

Molto spesso, mancando una precisa diagnosi microbiologica, il veterinario opta per una terapia antibiotica empirica basata sull'aspettativa del patogeno più frequentemente in causa in una determinata patologia e sulle sue più probabili resistenze ai farmaci antimicrobici. Sono stati documentati, ad esempio, fenomeni di antibiotico resistenza in coliformi isolati da animali domestici provocati dal crescente uso di farmaci antibatterici negli animali da compagnia e di mangimi animali addizionati con antibiotici nell'allevamento e nell'agricoltura<sup>14-15,19</sup>.

Questo studio rappresenta la prima comunicazione dei dati ottenuti sulla base dei campioni giunti al laboratorio di Microbiologia Veterinaria dell'Università di Genova.

## MATERIALI E METODI

Sono stati identificati 49 microorganismi, isolati da 79 campioni di diverso tipo di materiale patologico pervenuti da alcuni Studi Veterinari di Genova nel periodo 2002-2003, presso l'Istituto di Microbiologia dell'Università degli Studi di Genova e raccolti da 43 cani, 29 gatti e 7 cavalli. La distribuzione dei diversi materiali patologici è riportata in Tabella 1. I ceppi sono stati identificati mediante le classiche tecniche di batteriologia e l'utilizzo di test biochimici (API System, bioMérieux)<sup>20</sup>.

La valutazione della sensibilità agli antibiotici è stata effettuata con il metodo della diffusione da dischetto, Kirby-Bauer secondo le linee guida dell'NCCLS<sup>21</sup> come di seguito descritto.

**$\beta$ -lattamasi in *S. aureus*.** La  $\beta$ -lattamasi (penicillinasi) in *S. aureus* è stata individuata impiegando dischetti di penicillina e amoxicillina-clavulanato, il ceppo che ha evidenziato resistenza al capostipite dei  $\beta$ -lattamici e sensibilità all'associazione con l'inibitore dell'enzima è stato considerato portatore di questo carattere.

**Tabella 1**  
Suddivisione dei ceppi in base al materiale da cui sono stati isolati

	N. ceppi (%)	TA	TC	TV	TN	TF	TP	Urine	Feci
<b>Gram-positivi</b>									
<i>S. aureus</i>	6 (12,2)		3				3		
<i>S. xyloso</i>	5 (10,2)		3					1	1
<i>S. intermedius</i>	3 (6,1)		3						
<i>S. warneri</i>	3 (6,1)		3						
<i>S. hyicus</i>	2 (4,1)	1					1		
<i>S. lugdunensis</i>	1 (2,0)	1							
<i>S. epidermidis</i>	1 (2,0)	1							
<i>S. canis</i>	1 (2,0)	1							
OCNS	1 (2,0)		1						
<i>E. faecalis</i>	1 (2,0)	1							
<i>E. faecium</i>	1 (2,0)							1	
<b>Gram-negativi</b>									
<i>E. coli</i>	12 (24,5)	2	1					9	
<i>P. mirabilis</i>	3 (6,1)	1			1			1	
<i>P. aeruginosa</i>	3 (6,1)	2		1					
<i>K. oxytoca</i>	2 (4,1)	2							
<i>Moraxella</i> spp.	1 (2,0)					1			
<b>Miceti</b>									
<i>Candida</i> spp.		1							
<i>T. mucoides</i>		1							
<i>C. parapsilosis</i>									1

TA = tampone auricolare; TC = tampone cute; TV = tampone vaginale; TN = tampone nasale; TF = tampone faringeo; TP = tampone pus; OCNS = altri stafilococchi coagulasi-negativi.

Oxacillino-resistenza in *S. aureus*. L'oxacillino/meticillino-resistenza (OXA-R) inducibile (I) o costitutiva (C) in *S. aureus* è stata messa in evidenza utilizzando il saggio dell'agar screening su piastre di Mueller-Hinton agar con 6 mg/l di oxacillina in duplicato, con e senza il 2% di NaCl e un inoculo di  $5 \times 10^5$  CFU per spot. La lettura è stata eseguita dopo 24 ore di incubazione. I ceppi sono stati mantenuti ad una temperatura non superiore ai 35,5°C. In queste condizioni il ceppo inducibile è risultato sensibile al farmaco sul terreno privo di sale, mentre lo stipite costitutivo ha manifestato resistenza all'oxacillina su entrambi i terreni. Gli stafilococchi coagulasi-negativi (CNS) sono stati valutati mediante Kirby-Bauer con dischetto di oxacillina (1 µg) su terreno MH non contenente NaCl. I breakpoint per CNS adottati sono stati  $S \geq 18$  mm e  $R \leq 17$  mm. Lo stesso saggio con tecnica di Kirby-Bauer su MH privo di NaCl è stato utilizzato in alcuni casi anche per *S. aureus*. In questo caso i breakpoint sono stati  $S \geq 13$  mm e  $R \leq 10$  mm<sup>24</sup>.

Resistenza ai glicopeptidi negli enterococchi. Per l'accertamento della refrattarietà ai glicopeptidi è stato utilizzato sia il metodo Kirby-Bauer sia lo screening su agar contenente 6 mg/l di vancomicina e un inoculo di  $5 \times 10^5$  CFU per spot. Il test è stato letto dopo 24 ore di incubazione a 35,5°C.

Alto livello di resistenza agli aminoglicosidi negli enterococchi. L'alto livello di resistenza agli aminoglicosidi negli enterococchi è stato valutato in piastre di BHIA contenenti 500 mg/l di gentamicina o 2000 mg/l di streptomicina. Sono stati utilizzati inoculi di  $10^6$  CFU per spot. Quando il saggio è risultato negativo la piastra è stata incubata nuovamente per altre 24 ore. In alternativa la resistenza agli aminoglicosidi è stata identificata con le apposite strisce di E test.

Ampicillina-resistenza in *E. faecium*. L'insensibilità all'ampicillina in *E. faecium* è stata determinata mediante Kirby-Bauer.

Fenotipi di resistenza agli antibiotici nei batteri Gram-negativi. Tutti i fenotipi di sensibilità o resistenza sono stati valutati sempre mediante antibiogramma con particolare attenzione agli aloni registrati con le cefalosporine di III generazione per l'eventuale individuazione di ceppi produttori di  $\beta$ -lattamasi a spettro esteso (ESBL).

La produzione di biofilm è stata controllata utilizzando il terreno Rosso Congo descritto da Freeman *et al.*<sup>22</sup> e Cramton *et al.*<sup>23</sup>.

*E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 35218, sono stati utilizzati come controlli di qualità per i saggi includenti un  $\beta$ -lattamico e un inibitore di  $\beta$ -lattamasi, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 25923 per le prove di diffusione da dischetto, *S. aureus* ATCC 43300 come ceppo oxacillino-resistente (OXA-R o MRSA), *E. faecalis* ATCC 29212 per i saggi che includono la valutazione della sensibilità e della resistenza agli aminoglicosidi, mentre *E. faecalis* ATCC 51299 è stato inserito nelle prove che stimavano la sensibilità ai glicopeptidi.

## RISULTATI

Dei 79 materiali patologici analizzati 35 sono risultati negativi (44,3%); dai rimanenti campioni (44) sono stati isolati 46 ceppi batterici di cui 25 Gram-positivi (51%), 21

Gram-negativi (42,8%) e 3 miceti (6,2%).

In Tabella 1 sono evidenziati i campioni di materiale dai quali sono stati isolati i relativi ceppi. I prelievi più frequentemente inviati al laboratorio includono i tamponi auricolari e da cute (14), urine (12) e i tamponi da pus (4), mentre gli altri tipi di materiale analizzato sono stati limitati alle singole unità.

*E. coli* è stato il germe prevalentemente isolato (24,5%) seguito da *S. aureus* (12,2%), *S. xylosum* (10,2%), *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *S. intermedius* e *S. warneri* (6,1%), mentre altri stipiti, inclusi i miceti, si attestano su percentuali non superiori al 4%.

Quando i ceppi isolati sono stati saggiati per la sensibilità agli antibiotici ne è emerso, come atteso, un quadro molto diversificato sia in considerazione della specie batterica studiata sia in termini di percentuali di resistenza. Sui Gram-positivi è stata registrata una percentuale del 16,6% di oxacillino-resistenza su *S. aureus* che diviene oltre il doppio su tutti i coagulasi negativi (37,5%). Altre molecole di modesta attività si dimostrano l'ampicillina, i macrolidi e le tetracicline, mentre gli altri antibiotici evidenziano capacità inibente (Tabella 2).

In *E. coli* (Tabella 3), il principale patogeno identificato nei campioni di urine, è stata osservata una percentuale di insensibilità del 45,5% all'amoxicillina che non è stata modificata dall'aggiunta di clavulanato, mentre il tasso di resistenza alla combinazione piperacillina-tazobactam è stato del 18,2%. Cefalotina e minociclina hanno fatto registrare percentuali di insensibilità pari al 42,8% degli isolati, mentre gli altri principi attivi hanno evidenziato incidenze di resistenza contenute nel 20%. Sugli altri Gram-negativi

**Tabella 2**  
Percentuali di resistenza agli antibiotici riscontrate nei ceppi Gram-positivi isolati

Antibiotici	Ceppi		
	<i>S. aureus</i>	CNS	<i>Enterococcus</i>
Oxacillina	16,6	37,5	n.a.
Penicillina	66,7	25,0	n.a.
Ampicillina	n.s.	n.s.	0,0
Amoxic/Clavul	16,6	12,5	n.s.
Cefamandolo	16,6	37,5	n.a.
Cefalotina	16,6	37,5	n.a.
Imipenem	0,0	37,5	n.s.
Eritromicina	60,0	12,5	100
Clindamicina	60,0	12,5	100
Gentamicina	0,0	12,5	0,0
Doxiciclina	40,0	25,0	50,0
Minociclina	40,0	25,0	50,0
Cloramfenicolo	0,0	n.s.	n.s.
Ciprofloxacina	0,0	12,5	100
Cotrimoxazolo	16,6	0,0	n.a.
Fosfomicina	0,0	0,0	0,0
Teicoplanina	0,0	0,0	0,0

n.a. = non applicabile; n.s. = non saggiato.

**Tabella 3**  
**Percentuali di resistenza agli antibiotici riscontrate nei Gram-negativi isolati**

Antibiotici	Ceppi		
	<i>E. coli</i>	Altri fermentanti	<i>P. aeruginosa</i>
Ampicillina	45,5	100	n.a.
Amoxic/Clavul	45,5	40,0	n.a.
Piper/Tazobac	18,2	20,0	33,3
Cefamandolo	27,3	60,0	n.a.
Cefalotina	42,8	100	n.a.
Cefotaxime	9,0	0,0	33,3
Ceftazidime	0,0	0,0	33,3
Cefepime	0,0	0,0	0,0
Imipenem	0,0	0,0	0,0
Aztreonam	9,0	20,0	0,0
Gentamicina	9,0	n.s.	n.s.
Netilmicina	9,0	0,0	n.s.
Amikacina	0,0	0,0	33,3
Ac. pipemidico	0,0	n.s.	n.a.
Norfloxacin	0,0	n.s.	n.s.
Ciprofloxacina	0,0	20,0	0,0
Nitrofurantoina	0,0	n.a.	n.a.
Cotrimoxazolo	9,0	20,0	n.a.
Fosfomicina	9,0	100	n.a.
Minociclina	42,8	80,0	n.a.
Cloramfenicolo	18,2	0,0	n.s.

n.a. = non applicabile; n.s. = non saggiato.

saggiati sono stati ottenuti risultati sovrapponibili. Nei confronti di un ceppo su tre di *P. aeruginosa*, amikacina, ceftazidime, cefotaxime e piperacillina-tazobactam non hanno mostrato attività inibente, mentre cefepime, imipenem, aztreonam e ciprofloxacina sono risultati capaci di prevenire la crescita di tutti gli isolati.

In un caso è stato possibile seguire con continuità l'evoluzione microbiologica sino a evidenziare le caratteristiche peculiari del patogeno responsabile dell'infezione. Da un gatto europeo, affetto da otite purulenta e in terapia con ciprofloxacina, è stato prelevato un primo campione dal quale è stato isolato un ceppo di *Escherichia coli*. Il germe presentava diverse resistenze agli antibiotici che includevano ciprofloxacina, cotrimoxazolo, cefalosporine di I e II generazione e penicilline con inibitore di  $\beta$ -lattamasi. Dopo circa un mese è giunto al laboratorio un secondo campione di pus con l'indicazione che l'infezione era stata trattata con cefotaxime. L'esame microbiologico ha evidenziato la presenza di un *Enterococcus faecalis* che veicolava resistenza ai macrolidi e alle tetraciline. Trascorso un periodo di circa 6 settimane al laboratorio è stato recapitato un nuovo campione di pus. Il gatto era stato trattato con amoxicillina in combinazione con rifampicina ma senza successo. Da questo campione è stato isolato un ceppo di *Escherichia coli* che è risultato sensibile al cotrimoxazolo, fluorochinoloni, aminoglicosi,

carbapenemici e resistente al cloramfenicolo, tetraciline e fosfomicina. Oltre ai saggi usuali per la valutazione della sensibilità agli antibiotici sono state eseguite ulteriori prove tese alla valutazione della produzione di biofilm. Il ceppo è risultato positivo per la sintesi di questo glicocalice e sulla base del responso dell'antibiogramma è stato suggerito l'impiego topico di clorexidina associata a un aminoglicoside che ha risolto l'infezione. L'esame sui ceppi precedentemente isolati non ha evidenziato alcun produttore di biofilm.

## DISCUSSIONE

L'indagine mette in luce il ruolo predominante degli stafilococchi, *Enterobacteriaceae* e *P. aeruginosa*, che prevalgono in frequenza di isolamento su tutti i rimanenti microrganismi.

I batteri appartenenti al genere *Staphylococcus* sono largamente diffusi nell'ambiente e costituiscono i più comuni saprofiti della cute e delle mucose dell'uomo e degli animali. La loro azione patogena è, per lo più, di tipo opportunistico, in presenza di fattori favorevoli, infatti, essi riescono a raggiungere le zone più interne dell'organismo ospite. Può verificarsi inoltre batteremia con formazioni di ascessi. Sono poi responsabili di malattie specifiche quali piodermite, mastite, endometrite, otite nel cane e nel gatto<sup>24-25</sup>.

Come è emerso da questa indagine ed è noto dai dati della letteratura, per *S. aureus* è prudente considerare inefficace la penicillina anche nei ceppi OXA-S a causa dell'elevata capacità di sintetizzare  $\beta$ -lattamasi<sup>8,26</sup>. Negli stafilococchi, la resistenza alla meticillina (ceppi MRSA), oltre a indicare la perdita di attività di qualsiasi  $\beta$ -lattamico, è usualmente accompagnata da elevati tassi di resistenza anche verso altri antimicrobici<sup>26-27</sup>. Teicoplanina, cloramfenicolo, cotrimoxazolo, fosfomicina e altri composti, tuttavia si pongono come valide alternative terapeutiche. Globalmente si assiste ad una evoluzione negativa di *S. aureus* verso la resistenza ai glicopeptidi<sup>28-30</sup>, con la descrizione dei primi ceppi resistenti alla vancomicina (VRSA) portatori del gene *vanA* acquisito dall'enterococco<sup>31-32</sup>, che fortunatamente non ha ancora invaso il campo veterinario<sup>33</sup>.

Vale la pena ricordare che per l'identificazione di questi fenotipi di resistenza sono necessari saggi specifici che vanno inclusi nella routine. Esistono ormai pubblicazioni accessibili a tutti, laboratori e clinici, perché da entrambe le parti si operi di concerto un'azione comune per accertare correttamente la resistenza agli antibiotici sia in *S. aureus*, sia in molti altri germi opportunisti<sup>27,34-35</sup>.

Sul piano della patologia veterinaria, le infezioni sostenute dalle *Enterobacteriaceae* assumono particolare importanza sia perché rappresentano una frequente causa di malattia negli animali domestici con elevata morbilità, sia perché le infezioni da essi provocate possono essere trasmesse dagli animali all'uomo<sup>10-15,36-37</sup>.

Le scelte terapeutiche per il trattamento di queste infezioni rimangono relativamente ampie. Risultano infatti efficaci in vitro molte classi di composti, come i  $\beta$ -lattamici con l'eccezione delle penicilline non protette, mentre non appaiono particolarmente attive le tetraciline.

Le *Enterobacteriaceae*, soprattutto quelle isolate in am-



biente ospedaliero da dove emigrano e si ritrovano in diversi ambienti, sono in grado di produrre  $\beta$ -lattamasi a spettro esteso (ESBL) capaci di inattivare le cefalosporine di III e IV generazione e piperacillina/tazobactam<sup>38</sup>. La diffusione di questi ceppi resistenti appare molto variabile dal punto di vista geografico. Numerose fonti documentano tuttavia l'elevata incidenza dei ceppi produttori di ESBL e delle resistenze alle cefalosporine<sup>6</sup>. Tali incidenze rischiano di essere sottostimate nel caso in cui il laboratorio non sia particolarmente ben addestrato, in quanto i ceppi produttori di ESBL possono non essere identificati in vitro e dar luogo a fallimenti in vivo<sup>21</sup>. Per quanto nella presente indagine non siano stati ritrovati germi dotati di queste caratteristiche, in ambito veterinario esistono già segnalazioni in proposito<sup>39</sup>.

*P. aeruginosa* è un germe frequentemente coinvolto in patologie sostenute in via primaria da altri microrganismi e solo di rado causa principale di malattia. Le forme morbose conseguenti all'infezione si traducono in fenomeni a carattere setticemico o in processi infiammatori circoscritti a vari organi e apparati quali dermatiti, piodermiti, otiti, flogosi urinarie (cistiti e pieliti)<sup>37,40</sup>. Il coinvolgimento di *P. aeruginosa* in varie situazioni patologiche può essere accertato soltanto per mezzo di esami batteriologici. Eventuali interventi terapeutici debbono tenere conto della resistenza che il germe manifesta e facilmente acquisisce nei confronti di diversi antibiotici; rimane buona norma affidare la giusta scelta del farmaco all'esito dell'antibiogramma<sup>6-7,9,37,40</sup>.

Il biofilm si dimostra un fondamentale fattore di virulenza in infezioni quali la carie dentale, le periodontiti, le colecistiti, le osteomieliti, la prostatite, le endocarditi, otite media acuta, la sinusite, la fibrosi cistica e riacutizzazioni infettive delle broncopneumopatie croniche ostruttive<sup>41</sup>. Il biofilm svolge inoltre un ruolo di prim'ordine nel promuovere la colonizzazione delle superfici di corpi estranei, come protesi, valvole cardiache o cateteri vascolari e urinari<sup>41</sup>. Esso infatti, tramite l'involucro polisaccaridico, protegge i microrganismi dall'azione degli antibiotici mantenendo vitali i germi al suo interno e si oppone anche alle difese aspecifiche e specifiche dell'organismo ospite quali la fagocitosi, l'attività degli anticorpi e del complemento<sup>41-42</sup>. Questo potrebbe spiegare la difficoltà nell'ottenere successi terapeutici quando sono coinvolti germi produttori di questo polisaccaride come nel caso riportato in questo studio.

Da queste osservazioni emerge un quadro della resistenza agli antibiotici non particolarmente preoccupante in termini di diffusione. Il campione ha una consistenza piuttosto modesta e dovrà irrobustirsi con indagini più ampie includenti un numero maggiore di batteri. Va ricordato che l'ambiente clinico in tutte le sue componenti vive una forte evoluzione verso la resistenza agli antibiotici che va tenuta presente considerando la disseminazione, la persistenza e lo scambio di microrganismi tra uomo e animali<sup>10-15,43-45</sup>.

## Parole chiave

*Identificazione patogeni, sensibilità agli antibiotici, biofilm.*

## Key words

*Identification of pathogens, susceptibility to antibiotics, biofilm.*

## Bibliografia

1. Tenover FC. Development and spread of bacterial resistance to antimicrobial agents: an overview. *Clin Infect Dis* 33 (Suppl 3):S108-S115, 2001.
2. Cooper BS, Medley GF, Stone SP, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitals and the community: Stealth dynamics and control catastrophes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 101:10223-8, 2004.
3. Howard DH, Scott RD, Packard R and Jones DA. The global impact of drug resistance. *Clin Infect Dis* 36 (suppl 1):S4-10, 2003.
4. Chopra I, Hodgson J, Metcalf B and Poste G. To search for antimicrobial agents effective against bacteria resistant to multiple antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 41:497-503, 1997.
5. Hughes JM and Tenover FC. Approaches to limiting emergence of antimicrobial resistance in bacteria in human populations. *Clin Infect Dis*. 24 (Suppl.1):S131-135, 1997.
6. Livermore DM. Bacterial resistance: origins, epidemiology, and impact. *Clin Infect Dis* 36 (suppl 1):S11-23, 2003.
7. Wood MJ and RC Moellering. Microbial resistance: bacteria and more. *Clin Infect Dis* 36 (suppl 1):S2-3, 2003.
8. Davies J. Inactivation of antibiotics and dissemination of resistance genes. *Science* 264:375-382, 1994.
9. O'Brien TF. Emergence, spread and environmental effect of antimicrobial resistance: how use of an antimicrobial anywhere can increase resistance to any antimicrobial anywhere else. *Clin Infect Dis*. 34, (Suppl 3) s78-84, 2002.
10. Guardabassi L, Schwarz S, Lloyd DH. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. *J Antimicrob Chemother* 54:321-332, 2004.
11. Phillips I, Casewell M, Cox T, et al. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *J Antimicrob Chemother* 53: 28-52, 2004.
12. Turnidge J. Antibiotic use in animals-prejudices, perceptions and realities. *J Antimicrob Chemother* 53: 26-27, 2004.
13. Bywater RJ. Veterinary use of antimicrobials and emergence of resistance in zoonotic and sentinel bacteria in the EU. *J Vet Med B* 51:361-363, 2004.
14. Mølbak K. Spread of resistant bacteria and resistance genes from animals to humans - the public health consequences. *J Vet Med B* 51:364-369, 2004.
15. Angulo FJ, Nargund VN, Chiller TC. Evidence of an association between use of anti-microbial agents in food animals and anti-microbial resistance among bacteria isolated from humans and the human health consequences of such resistance. *J Vet Med B* 51:374-379, 2004.
16. Jones RN and Masterson R. Determining the value of antimicrobial surveillance programs. *Diagn Microbiol Infect Dis* 41:171-175, 2001.
17. Kahlmeter G and Brown DFJ. Resistance surveillance studies comparability of results and quality assurance methods. *J. Antimicrob Chemother* 50:775-77, 2002.
18. Debbia EA, Mezzatesta ML, Stefani S, et al. Spettro di resistenza agli antibiotici in patogeni isolati da reparti di terapia intensiva: studio policentrico retrospettivo italiano. *GIMMOC V*: 99-110, 2001.
19. Greene CE. Environmental factors in infectious diseases. In Greene CE(Ed). *Infectious diseases of the dog and cat* 2<sup>nd</sup> Ed. p 673-683, WB Saunders Company Philadelphia USA, 1998.
20. Dumler JS, Funke G, Janda JM, vonGraveniz A. *Bacteriology*. Baron EJ (Ed) In Murray PR, Baron EJ, Jorgensen J.H., Tenover FC, Tenover FC, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. P. 280-1036. Washington, DC: American Society for Microbiology Press, 2003.
21. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that grow Aerobically-Fourth Edition: Approved Standard M7-A5 (2000) and M100-S10 (2000)*. NCCLS, Wayne, PA.
22. Freeman DJ, Falkiner FR, Keane CT. New method for detecting slime production by coagulase-negative staphylococci. *J Clin Pathol*, 42:872-4, 1989.
23. Cramton SE, Gerke C, Catz F. In vitro methods to study biofilm formation. In. *Methods in Enzymology*. 336:239-255, 2001.
24. Ruffo G. *Staphylococcus*. In Farina R. e Scatozza F. *Trattato di Malattie Infettive degli animali* 2° Ed. p 243-254, UTET, Torino, 1998.
25. Cox HU, *Staphylococcal Infections*. In Greene CE(Ed). *Infectious diseases of the dog and cat* 2<sup>nd</sup> Ed. p 214-217, W.B. Saunders Company Philadelphia USA, 1998.

26. Marchese A, Debbia EA, Bacca D, et al. Multidrug-resistant Gram-positive pathogens. *Drugs*. 54, Suppl. 6:11-20, 1997.
27. McGowan JE and Tenover FC. Confronting bacterial resistance in healthcare settings: a crucial role for microbiologists. *Nat Rev Microbiol* 2:251-258, 2004.
28. Marchese A, Balistreri G, Tonoli E, et al. Heterogeneous vancomycin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in a large Italian hospital. *J Clin Microbiol* 38:866-869, 2000.
29. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother*. 40:135-136, 1997.
30. Sieradzki K, Villari P, Tomasz A: Decreased susceptibilities to teicoplanin and vancomycin among coagulase-negative methicillin-resistant clinical isolates of staphylococci - *Antimicrob Agents Chemother* 42:100-107, 1998.
31. Tenover FC, Weigel LM, Appelbaum PC, et al. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from a patient in Pennsylvania. *Antimicrob Agents Chemother*. 48:275-80, 2004.
32. Whitener CJ, Park SY, Browne FA, et al. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in the absence of vancomycin exposure. *Clin Infect Dis*. 38:1049-55, 2004.
33. Witte W. Glycopeptide resistant *Staphylococcus*. *J Vet Med B* 51:370-373, 2004.
34. Raoult D, Fournier PE, Drancourt M. What does the future hold for clinical microbiology. *Nat Rev Microbiol* 2:151-159, 2004.
35. Livermore DM, Winstanley TG, and Shannon KP. Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. *J Antimicrob Chemother* 48 (Suppl. S1): 87-102, 2001.
36. Ruffo G. Enterobatteri. In Farina R e Scatozza F. *Trattato di Malattie Infettive degli animali* 2° Ed. p 115-134, UTET, Torino, 1998.
37. Kruth SA. Gram-negative bacterial infections. In Greene CE(Ed). *Infectious diseases of the dog and cat* 2nd Ed. p 217-222, W.B. Saunders Company Philadelphia USA, 1998.
38. Paterson DL. Recommendation for treatment of severe infections caused by Enterobacteriaceae producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs). *Clin Microbiol Infect* 6:460-463, 2000.
39. Costa D, Poeta P, Briñas, Sàenz Y, Rodrigues J, Torres C. Detection of CTX-M-1 and TEM-52  $\beta$ -lactamases in *Escherichia coli* strains from healthy pets in Portugal. *J Antimicrob Chemother* 54:960-961, 2004.
40. Farina R. *Pseudomonas*. In Farina R. e Scatozza F. *Trattato di Malattie Infettive degli animali* 2° Ed. p 135-142, UTET, Torino, 1998.
41. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol*. 2:95-108, 2004.
42. Mah TF, O'Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol*. 9:34-9, 2001.
43. Scanvic A, Denic L, Gaillon S, Giry P, Andremont A, Lucet JC. Duration of colonization by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* after hospital discharge and risk factors for prolonged carriage. *Clin Infect Dis* 32:1393-1398, 2001.
44. Smith DL, Dushoff J, Perencevich EN, et al. Persistent colonization and the spread of antibiotic resistance in nosocomial pathogens: resistance is a regional problem. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:3709-3714, 2004.
45. Witte W. International dissemination of antibiotic resistant strains of bacterial pathogens. *Infect Genet Evolut* 4:187-191, 2004.

## LIBRETTI DI VACCINAZIONE DEL CANE E DEL GATTO



**500 COPIE = Euro 87,80**

Richiedere a:



Via Cagnola 35 - 20081 Abbiategrasso

Tel. 02/9462323 - 02/94965467 - Fax 02/94969304

Email: fulvio@presspoint2000.it

Cari Colleghi,

i libretti di **vaccinazione del cane e del gatto**, realizzati dalla SCIVAC, secondo le indicazioni della FSA e della FECAVA, sono nuovamente disponibili. Nella loro versione originale, senza inserzioni pubblicitarie, i libretti possono essere richiesti alla tipografia **Press Point**, al puro costo di stampa e con contributo di spese di spedizione. Non sono invece più disponibili le copie sponsorizzate che, in collaborazione con alcune aziende farmaceutiche e mangimistiche, la SCIVAC distribuiva gratuitamente negli anni scorsi.