

# Monitoring rezistence na antibiotika

- 2009 – 2012
- **Komora veterinárních lékařů ČR**
  - MVDr. Oto Huml
- doc. Ing. Luděk Müller, Ph.D.; Evropské centrum excelence NTIS – Nové technologie pro informační společnost, Fakulta aplikovaných věd, Západočeská univerzita v Plzni, Plzeň



MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ



# MATERIÁL A METODIKA

- **data byla získána z :**
  - Státního veterinárního ústavu Jihlava
  - Státního veterinárního ústavu Olomouc
  - Analytických laboratoří Plzeň, a.s.
  - Vedilabu Plzeň, s r.o.
  - Vedia Strakonice
- **statistické zpracování :**
  - doc. Ing. Luděk Müller, Ph.D.; katedra Kybernetiky Západočeské univerzity
  - MVDr. Oto Huml
- **metodika a zpracování :** MVDr. Oto Huml



# MATERIÁL A METODIKA

- Přehled registrovaných antibiotik byl každoročně aktualizován podle AISLP. Sledování rezistence bylo primárně provedeno podle druhů zvířat. Antibiotická politika se nejvíce liší právě podle druhů zvířat – liší se druhy registrovaných antibiotik, jejich lékové formy a především přístupem veterinárních lékařů.



MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ



# Statistické zpracování

- **Stanovení nulové hypotézy**
- Nulová hypotéza ( $H_0$ ) v našem případě předpokládá, že rezistence bakterií na jednotlivá antibiotika u jednotlivých vyšetřovaných zvířecích druhů se mezi lety 2009 a 2012 nezměnila.
- Alternativní hypotéza předpokládá, že rezistence se naopak změnila.
- V případě, že se změnila, je stanoveno, jakým směrem (tj., zda se zvýšila či snížila).



# Statistické zpracování

- V případě zamítnutí nulové hypotézy pro některý ze sledovaných druhů zvířat bylo naplánováno provedení sběru dalších podrobnějších dat a jejich následné statistické vyhodnocení :



# Statistické zpracování

- Sledování distribuce vyšetřovaných orgánů
- Sledování distribuce vyšetřovaných bakterií
- Sledování změn rezistence u nejčastěji se vyskytujících bakterií



MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ



# Sledované skupiny zvířat

- Skot dospělý
- Prasata
- Koně
- Hlodavci
- Telata
- Drůbež
- Psi, kočky



# Statistické zpracování

- **Statistické metody zpracování**

- Pro každý jednotlivý druh zvířat byly stanoveny pro každý vyšetřovaný rok počty rezistentních případů. Tyto údaje společně s celkovými počty vyšetření pro každý jednotlivý druh, každé jednotlivé antibiotikum a jednotlivý rok byly dále statisticky vyhodnoceny. Pro každý druh a každé jednotlivé antibiotikum byl proveden test shodnosti struktury (homogeneity) rozdělení relativních četností rezistencí (tj. procentuálního počtu rezistentních případů v daném roce) vzhledem k letům 2009 a 2012. Pokud je rozdělení relativních četností rezistencí vzhledem k jednotlivým rokům homogenní (tj. téměř „stejně“), nedochází ke změně rezistence (a počty rezistencí tedy nezávisí na jednotlivých letech – proto lze tento test chápat také jako test nezávislosti počtu rezistencí na jednotlivých letech).



MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ





# Statistické zpracování

- Test homogenity (resp. nezávislosti) je založen na [testu dobré shody](#) (chí kvadrát testu)<sup>2)</sup> a kontingenčních tabulkách, v nichž spočítané očekávané četnosti rezistencí za předpokladu, že relativní četnosti rezistencí se ve sledovaných letech nemění, jsou porovnávány se skutečnými četnostmi rezistencí. Pokud se očekávané a skutečné četnosti budou dostatečně lišit, bude moci být hypotéza homogenity zamítnuta, tj. budeme moci přijmout hypotézu, že relativní četnosti rezistencí se v daných letech významně liší.



# Statistické zpracování

- Při testu byly uvažovány pouze případy, kdy očekávané četnosti nebyly menší než 5. Odpovídající kontingenční tabulky jsou typu 2x2. Rozhodnutí, zda došlo ke zvýšení či snížení počtu rezistencí se stanovilo na základě hodnoty čtyřpolního koeficientu korelace. (Pokud došlo ke vzestupu rezistencí, nabývá korelační koeficient kladné hodnoty, pokud k poklesu, pak záporné, nulová hodnota značí homogenitu a nezávislost výskytu rezistence na letech.) Nulová hypotéza o homogenitě byla zamítnuta, pokud jí příslušná tzv. dosažená hladina významnosti ( $p$ -hodnota) testu byla menší než 5 % ( $p < 0,05$ ).



# Statistické zpracování

- Test homogenity rozdělení relativního počtu rezistencí byl proveden i u některých skupin antibiotik (cefalosporiny, chinolony a tetracykliny).



MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ



# Statistické zpracování

- V případě zamítnutí nulové hypotézy  $H_0$  u skupiny PES\_KOČKA bylo provedeno druhové určení jednotlivých bakterií v jednotlivých sledovaných letech izolovaných u těchto zvířecích druhů za účelem zjištění homogenity rozdělení relativních četností vyšetření každé jednotlivé bakterie vzhledem ke sledovaným létům 2009, 2010, 2011 a 2012.



# Statistické zpracování

- Testovala se hypotéza  $H_{0b}$ , že výskyt dané bakterie vyjádřený v procentech (100 % značí součet počtů provedených vyšetření všech bakterií v daném roce) je homogenní vzhledem k vyšetřovaným letům 2009-2012 a očekávaná relativní četnost výskytu dané bakterie v daném roce byla dána jednou čtvrtinou celkového počtu výskytu této bakterie ve sledovaném čtyřletém období).



# Statistické zpracování

- Pokud by rozdělení relativních četností výskytu dané bakterie vzhledem k sledovanému období 2009-2012 nebylo homogenní, mohlo by odmítnutí nulové hypotézy  $H_0$  souviset ne se zvyšováním rezistence, ale se změnou četnosti výskytu dané bakterie v čase a tím i se zvýšeným podílem přirozené rezistence vůči této bakterii. Při vyhodnocení tohoto testu byla u malých četností alternativně použita Yatesova korekce.



# Statistické zpracování

- Současně bylo u těchto druhů zvířat (skupina PES\_KOČKA) pro každý biologický orgán, ze kterého byly vzorky odebírány, provedeno statistické vyhodnocení homogenity rozdělení četností těchto odběrů vzhledem k rokům 2009, 2010, 2011 a 2012, tj. bylo otestováno, zda počty odběrů vyjádřené v procentech (100 % značí součet počtů odběrů ze všech orgánů v daném roce) se pro daný orgán nemění v čase.



# Statistické zpracování

- Po potvrzení homogenity sledovaných souborů bylo provedeno statistické zpracování výsledků u nejčastěji vyšetřovaného druhu bakterie (u skupiny PES\_KOČKA se jednalo o *Staphylococcus intermedius*). U nejčastěji se vyskytující bakterie existuje největší pravděpodobnost, že právě u ní došlo k vzestupu rezistence. Pokud by se u této bakterie neprokázal vzestup rezistence, bylo by provedeno statistické vyhodnocení pro další bakterie podle četnosti výskytu.





# Statistické zpracování

- Kromě uvažované role náhody při hodnocení výsledků statistických testů je nutno uvažovat, zda zjištěná statistická signifikance spojení mezi hodnocenými jevy má taktéž biologickou přijatelnost. Je totiž rozdíl mezi statistickou a biologickou významností: např. při testování můžeme zjistit statisticky významný avšak nepatrný rozdíl mezi délkou palce na levé a pravé noze, ale biologicky tento rozdíl být nemusí vůbec významný.



# Statistické zpracování

- Je třeba poznamenat, že pravděpodobnost nálezu statisticky signifikantních výsledků pomocí náhody samotné se zvyšuje při nárůstu počtů prováděných testů.<sup>11)</sup> V případech tzv. vícenásobného porovnávání je třeba výsledky ve formě dosažené hladiny významnosti ( $p$ -hodnoty) korigovat (např. Bonferroniho korekcí).



# Celkově byla statisticky vyhodnocena následující antibiotika :

- amikacin, amoxycillin, amoxycillin + k. klavulonová, amphotericin B, ampicilin, bacitracin, benzylpenicillin, cefadroxil, cefalexin, cefalotin, cefoperazon, cefovecin, cefquinom, ceftiofur, ciprofloxacin, clindamycin, cloxacillin, colistin, difloxacin, doxycyklin, enrofloxacin, erytromycin, florfenicol, flumequin, gentamycin, chloramphenicol, kanamycin, lincomycin, marbofloxacin, neomycin, norfloxacin, novobiocin, nystatin, oxacillin, orbifloxacin, piperacillin, polymyxin B, rifampicin, rifaximin, spiramycin, streptomycin, tetracyklin, tilmycosin, tobramycin, tulathromycin, tylosin, vancomycin.



# Výsledky

- Skupinově byly vyhodnoceny následující skupiny antibiotik :
- Cefalosporiny
- Tetracykliny
- chinolony



# Výsledky

- Při hodnocení podle jednotlivých druhů došlo ke zvyšování četností rezistentních nálezů na antibiotika u dospělého skotu a především u psů a koček.



# Výsledky

- Žádná změna nebyla zaznamenána u koní.



# Výsledky

- **Ke snižování četností rezistentních nálezů došlo u prasat, telat, drůbeže a hlodavců.** Tato snížení jsme dále nehodnotili – abychom si byli jistí, že jde o skutečné snižování rezistence, musely by se provést dodatečné analýzy na homogenitu souborů. Zastoupení jednotlivých bakterií v jednotlivých letech by se nesměla statisticky významně lišit. Skutečné zjišťování dynamiky by pak muselo být dokázáno u jednotlivých bakterií.



# Výsledky - skot





# Výsledky - skot

- Zvyšování četností rezistentních nálezů bylo zjištěno u cefquinomu, cloxacilinu, gentamicinu, rifaximinu,
- S výjimkou gentamicinu jde o antibiotika používaná v léčbě mastitid.
- Snižování četností rezistentních nálezů bylo zjištěno u cefalexinu, erytromycinu, streptomycinu.



# Výsledky - skot

- Mají zde vliv pravděpodobně dva faktory :



# Výsledky - skot

- - změna mikrobiálních původců mastitid. Již řadu let uplatňuje většina chovatelů důslednou léčbu v zaprahlosti. Ta je zaměřena na likvidaci infekčních mastitid, tedy na bakterie *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus agalactiae*.



# Výsledky - skot

- Četnost mastitid vyvolaných těmito antibiotiky se v posledních letech výrazně snížila, ale narostl počet mastitid vyvolaných environmentálními streptokoky, koaguláza negativními stafylokoky a enterokoky. Proti těmto bakteriím není léčba v zpráhlosti primárně určena, přirozená rezistence je tedy vyšší než u *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus agalactiae*.



# Výsledky - skot

- - volnějšší nakládání s antibiotiky při léčbě mastitid. U terapie akutních mastitid je důležitá rychlost první aplikace a proto mají obvykle chovatelé injektory pro léčbu akutních mastitid při sobě.



# Výsledky - skot

- Problémem v praxi je ale ukončení léčby. Často je terapie mastitidy ukončena před úplným uzdravením. To může být příčinou nárůstu rezistencí proti běžně používaným antibiotikům.



# Výsledky - skot

- Neměli jsme k dispozici data o mikroorganismech, izolovaných z mléčné žlázy. Namátkou byla provedena analýza dynamiky rezistence na antibiotika u bakterie *Staphylococcus aureus* z mléčné žlázy skotu. *Staphylococcus aureus* je nejčastější původce infekčních mastitid. U tohoto druhu nebylo zjištěno zvyšování rezistence.



# Výsledky - prasata





# Výsledky - prasata

- Zvyšování četností rezistentních nálezů bylo zjištěno u neomycinu.
- Snižování četností rezistentních nálezů bylo zjištěno u cefalotinu, erytromycinu, tetracyklinu.



# Výsledky - telata



# Výsledky - telata

- Zvyšování četností rezistentních nálezů nebylo zjištěno u žádného sledovaného antibiotika.
- Snižování četností rezistentních nálezů bylo zjištěno u ceftiofuru.



# Výsledky - koně



# Výsledky - koně

- Zvyšování četností rezistentních nálezů bylo zjištěno u clindamycinu.
- Snižování četností rezistentních nálezů nebylo zjištěno.



# Výsledky - drůbež



MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ



ČESKÁ ASOCIACE  
VETERINÁRNÍCH LÉKAŘŮ  
MALÝCH ZVÍŘAT



# Výsledky - drůbež

- Zvyšování četností rezistentních nálezů nebylo zjištěno u žádného sledovaného antibiotika.
- Snižování četností rezistentních nálezů bylo zjištěno u flumequinu.



# Výsledky – pes, kočka





# Výsledky – pes, kočka

- Zvyšování četností rezistentních nálezů bylo zjištěno u amoxicillinu a klavulonové k., ampicilinu, bacitracinu, cefalotinu, cefovecinu, clindamycinu, enrofloxacinu, florfenicolu, gentamycinu, kanamycinu, marboxloxacinu, neomycinu, rifaximinu, spiramycinu, streptomycinu, tetracyklinu.



# Výsledky – pes, kočka

- Zvýšené výsledky statistického hodnocení mohou být vyvolány skutečně zvyšující se četností rezistencí jednotlivých bakterií, ale také změnou struktury vzorků a změnou četností jednotlivých mikroorganismů ve vyšetřovaných souborech.



# Výsledky – pes, kočka

- Pokud nehodnotíme samostatně méně často izolované bakterie (tj. zvláště neuvažujeme *Clostridium perfringens* a *Pseudomonas putida*), pak pouze u *Proteus vulgaris* je u těchto zvířat určité podezření na statisticky významný rozdíl (nerovnoměrný vývoj) v jeho výskytu mezi lety 2009 a 2012 ( $p = 0,054$  bez Yatesovy korekce;  $p = 0,14$  po Yatesově korekci); toto podezření se tedy nedá dokázat na zvolené hladině významnosti 0,05). Pro tuto bakterii je navíc poměrně málo dat, takže nelze učinit příliš spolehlivý závěr.
- U *Clostridium perfringens* byla zjištěna tendence k relativnímu poklesu izolátů, ale výskyt této bakterie byl minimální a změny v jejím výskytu nemohly ovlivnit celkové výsledky.



# Výsledky – pes, kočka

- Poznamenejme, že přestože se nepodařilo vyvrátit hypotézu, že se relativní četnosti výskytu bakterií v čase mění, nelze jednoduše zamítnout ani hypotézu, že se tyto relativní četnosti v jednotlivých letech nemění. Pouze nemůžeme tvrdit, že se četnosti zastoupení jednotlivých bakterií v jednotlivých letech statisticky významně liší.



# Výsledky – pes, kočka

- Dále byl pro nejčastěji vyšetřované orgány psů a koček proveden test homogenity rozdělení relativních četností vzhledem k časovému faktoru (tj. bylo testováno, zda se zastoupení vyšetření těchto orgánů mění s časem). Bylo zjištěno, že četnosti se mění u vzorků odebraných z uší a ze střev ( $p < 0,02$ ) (vliv zde má patrně odlišnost prvního roku). U jiných orgánů se změna v rozdělení zastoupení jednotlivých bakterií v průběhu let nepotvrdila.



# Výsledky – pes, kočka

- *Staphylococcus intermedius* byl každý rok nejčastější izolát. Proto byl vybrán jako indikátorový mikroorganismus (Lze předpokládat, že bakterie s nejvyšším výskytem má největší vliv na dynamiku změn.)



# Výsledky – pes, kočka

- Byla tedy provedena analýza dynamiky rezistence na antibiotika u *Staphylococcus intermedius*. Bylo zjištěno zvyšování rezistence na antibiotika celkově. Pro relativně malý počet výsledků nebylo možno vyhodnotit rezistenci na jednotlivá antibiotika.



# Výsledky - hlodavci





# Výsledky - hlodavci

- Celkově byl zjištěn trend ke snižování rezistentních nálezů, ale u žádného z antibiotik individuálně nebyl tento trend statisticky významný.



# Výsledky – skupiny antibiotik

- Bylo provedeno statistické vyhodnocení výsledků podle vybraných skupin antibiotických, konkrétně u cefalosporinů, tetracyklinů a chinolonů.
- U cefalosporinů bylo zjištěno snižování četností rezistentních nálezů u prasat a telat a zvyšování četností rezistentních nálezů u zájmových zvířat (pes, kočka). U ostatních druhů zvířat nebyly změny četností rezistentních nálezů zjištěny.



# Výsledky – skupiny antibiotik

- Bylo provedeno statistické vyhodnocení výsledků podle vybraných skupin antibiotických, konkrétně u cefalosporinů, tetracyklinů a chinolonů.
- U tetracyklinů bylo zjištěno snižování četností rezistentních nálezů **u prasat** a zvyšování četností rezistentních nálezů **u drůbeže a u zájmových zvířat (pes, kočka)**.



# Výsledky – skupiny antibiotik

- Bylo provedeno statistické vyhodnocení výsledků podle vybraných skupin antibiotických, konkrétně u cefalosporinů, tetracyklinů a chinolonů:
- U chinolonů bylo zjištěno snižování četností rezistentních nálezů u **prasat a telat** a zvyšování četností rezistentních nálezů u **zájmových zvířat (pes, kočka)**. U ostatních druhů zvířat nebyly změny četností rezistentních nálezů zjištěny.



# Výsledky monitoringu

- Za nejvýznamnější lze považovat změny u zájmových zvířat. U těchto zvířat byla prokázána zvyšující se četnost rezistentních nálezů u řady antibiotik.



# Výsledky monitoringu

- Vyšetřovaná mikroflóra je na rozdíl od patogenní mikroflóry mléčné žlázy většinou apatogenní nebo jen potencionálně patogenní a obvykle se jedná o komplikaci jiných onemocnění, v případě dermatologických vzorků často hypersensitivních reakcí.



# Výsledky monitoringu

- Velká část antibiotik, u kterých jsme zjistili u psů a u koček zvyšující se četností rezistentních nálezů, se používá k lokální terapii při otitis externa. Podíl „ušní“ mikroflóry se pohyboval mezi 15 – 20 % z analyzovaných vzorků.



# Výsledky monitoringu

- Nedostatečnou nebo neadresnou antibiotickou terapii otitis externa tak považujeme za jedno z hlavních rizik antibiotické politiky ve veterinární medicíně malých zvířat.





# Říjen 2014

- ČAVLMZ
- Nové směry v dermatologii a otologii
- John Angus, Animal Dermatology Clinic, Pasadena, USA



# Antibiotic Use Guidelines for Companion Animal Practice



MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ



# FECAVA advice on responsible use of antimicrobials



MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ





- **FECAVA Advice to Companion Animal Owners on responsible Use of Antibiotics and Infection Control**



MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ



# FECAVA Recommendations for Appropriate Antimicrobial Therapy



MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ



Děkuji za pozornost

