Recensioni

Resistenza agli antibiotici
Occorre costante vigilanza e sorveglianza

Nella città di New York, oggi fino al 60% dei ceppi di *Klebsiella pneumoniae* produce beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL). Nel resto degli USA le ESBL sono intorno al 7-8 % degli isolamenti di *K. Pneumoniae* e 3-4 % di *E.coli*. I ceppi di *Staphylococcus aureus* isolati in ospedale sono in percentuale variabile (dal 3 al 60%) resistenti alla meticillina (MRSA). I ceppi di enterococco resistenti alla Vancomicina (VRE) sono evidenziabili con i metodi molecolari. La resistenza ai glicopeptidi sta lentamente emergendo anche per gli stafilococchi (GISA). Persino le molecole più recenti (cefalosporine di IV generazione, come il cefepime) stanno perdendo efficacia contro *Enterobacter* e *Citrobacter*. Esiste il rischio che i plasmidi della resistenza vengano trasferiti a specie come il *Proteus*.
Questo, che sembra un bollettino di guerra, è ciò che emerge dai dati delle resistenze batteriche agli antibiotici. I laboratori possono attrezzarsi per sostenere onorevolmente la battaglia, senza per questo spendere eccessivamente le risorse a disposizione. Il *budget* della UCLA per gli antibiotici arriva a 2.5 milioni di dollari, mentre quello degli antibiogrammi in laboratorio non arriva a 53.000.

Le tecnologie dei laboratori

I laboratori di analisi dispongono di varie tecniche, tra cui non sempre è facile scegliere. Le tecniche tradizionali (diffusione a dischi o Bauer-Kirby) non sono adatte in alcuni casi (VRE, pneumococchi resistenti alla penicillina, GISA). Negli esercizi interlaboratorio (CAP Surveys) le tecniche in diffusione hanno dimostrato qualità inferiore e non possono essere considerate il “riferimento”;
Le tecniche in semi-automazione, con la diluizione in brodo a intervalli troncati, sono più veloci ma anche più costose. Costoso e da utilizzare selettivamente è anche il metodo per diffusione "E-test": per aggiustamenti fini della terapia o infezioni gravi (endocardite, meningite, osteomielite, batteriemia in neoplastici o immunodepressi).
Il Massachussets General Hospital (MGH), ad esempio, usa un metodo automatizzato in diluizione (Vitek) per gram negativi, specialmente enterici, mentre per i gram positivi ed i gram negativi non enterici, come *Psedtomonas*, si affida allo screening con metodi in diffusione. Per i pneumococchi si procede con un disco di oxacillina di screening ed una successiva valutazione della MIC con il sistema E-test. Purtroppo, la striscia E-test, che spesso è una valida alternativa alla MIC, non è disponibile per tutte le situazioni, specie i batteri più nuovi. Per alcuni microorganismi isolati dal sangue, come streptococchi *viridans* e pneumococchi, al MGH si procede direttamente alla microdiluizione, aggiungendo un disco per vancomicina e confermando con la microdiluizione per tutti gli MRSA.
Le tecnologie automatizzate consentono rapidità di risposta e sicurezza nella trascrizione dei risultati. Mentre i vantaggi della prima non sono ancora dimostrati definitivamente, per il secondo aspetto invece la convinzione è già diffusa. La maggior parte dei laboratori utilizza combinazioni di tecniche automatizzate e manuali, in diluizione ed in diffusione, in funzione degli obiettivi.
D'altra parte, NCCLS raccomanda (e il CAP esige, per l'accreditamento con il suo programma) che il laboratorio disponga di un meccanismo per verificare i risultati atipici (un sistema esperto, ad esempio, installato nello strumento).
NCCLS raccomanda altresì che il laboratorio sia in grado di rilevare fenomeni come le beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL). Negli USA si ritiene il ceftazidime preferibile per lo screening delle ESBL, mentre altrove si preferisce aztreonam o cefotaxime. NCCLS media tra questi approcci, affermando che un ceppo di *E.coli* o di *Klebsiella* con MIC per ceftazidime, aztreonam o cefotaxime superiore a 2 µg/mL deve essere considerato sospetto per ESBL.

Estratto da "How best to test for drug resistance" di William Check, (CAP TODAY, dicembre 1999), cronaca della 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, settembre 1999, Moscone Center, California, organizzato dalla American Society for Microbiology.
http://www.asmusa.org/mtgsrc/ic99main.htm;
http://www.amaassn.org/special/hiv/newsline/conferen/icaac99/icaac99.htma
Translated and reprinted with permission of the College of American Pathologists, Northfield, Ill.

Programmi per la qualità

Il CDC coordina da diversi anni programmi di VEQ per l'antibiogramma fin dal 1992. Negli esercizi per i VRE sono emerse fin da subito difficoltà sia per i metodi automatizzati che per quelli manuali, causati in parte dalla variazione dei *breakpoint* intervenuta nel 1994, di cui non tutti i laboratori hanno tenuto conto. I ceppi vanA non hanno dato problemi, quelli vanB invece si.
La WHO è partita nel 1995 con il WHO-EQAS, raggiungendo 360 laboratori in tutto il mondo. Il programma WHO ha dato buoni risultati per MRSA, analogamente al programma ICARE negli USA, nonostante che molti laboratori avessero usato i metodi in diffusione, della cui affidabilità da qualche parte si dubita. Nel 1998 venne realizzato un esperimento in 38 laboratori del Connecticut con alcuni ceppi di *K.pneumoniae*, in parte produttori di ESBL. Sorprendentemente, 20-30% dei laboratori non riuscì a rilevare almeno uno di 4 ceppi resistenti alle cefalosporine. 8 laboratori li fallirono tutti. 6 laboratori non provarono alcun beta-lattamico per ESBL, ignorando le indicazioni NCCLS. Alcuni laboratori ricercarono ESBL dopo aver riscontrato la resistenza alle cefalosporine di prima generazione, ma non tutti. Chi ha provato il ceftazidime, anche con i *breakpoints* tradizionali, ha riportato la resistenza dei ceppi. I laboratori con risultati insoddisfacenti avevano utilizzato protocolli insufficienti.
La resistenza per ESBL si dimostra secondo NCCLS con ceftazidime o cefotaxime con e senza acido clavulanico. Si tratta di un fenomeno per certi versi analogo a quello del MRSA. Un MRSA è ritenuto resistente a cefalosporine e carbapenemi in combinazione con inibitori della beta-lattamasi, indipendentemente dal risultato *in vitro*. Allo stesso modo, la resistenza ad una cefalosporina ES o all'aztreonam comporta la resistenza anche a cefotaxime o ceftriaxone, indipendentemente dalla MIC per questi.
In un'altro esercizio WHO-EQAS venne distribuito un ceppo di pneumococco con MIC per penicillina di 0.06 µg/mL a 130 laboratori. Il diametro di inibizione con oxacillina doveva essere di 13-15 mm, ma venne accettato qualsiasi risultato inferiore a 19 mm. Il 42% dei laboratori riportò diametri superiori ai 20 mm e le MIC oscillarono tra 0.01 e 2 µg/mL, dimostrando l'esistenza di rilevanti problemi nei test per la resistenza dei pneumococchi. Alcuni laboratori riportarono risultati per dischi di penicillina, cefotaxime o ceftriaxone, che non hanno *breakpoints* NCCLS per pneumococchi.
Fenomeni simili sono stati osservati nei *CAP Surveys*. Normalmente il 95% dei laboratori dimostra la resistenza alla penicillina del pneumococco, ma per gli utilizzatori di un sistema commerciale la percentuale calò a 85. Il produttore fu costretto a modificare il sistema per ottenere l'approvazione FDA. Anche nei *CAP Surveys* il 20% dei risultati in diffusione non rispettano le indicazioni NCCLS.
Un ceppo di *S.epidermidis* intermedio per vancomicina (un surrogato per GISA) fu inviato in un'altra occasione a 123 laboratori nel WHO-EQAS. Il 93% lo interpretò come sensibile, in gran parte usando i metodi per diffusione, non adatti allo scopo.
Le autorità sanitarie statunitensi sono preoccupate da due fenomeni: la difficoltà a rilevare la resistenza del pneumococco alla penicillina, pericolosa soprattutto per i casi di meningite, e l'ignoranza di molti circa l'inutilità dei metodi in diffusione per la resistenza alla vancomicina dello stafilococco. Entrambe le situazioni possono dare gravi conseguenze cliniche. Molti non sanno, ad esempio, che un metodo accettabile per trovare i GISA è la piastra screening per vancomicina, usata comunemente per gli enterococchi. Indagini sistematiche, come una che coinvolse 17 ospedali dello Iowa, hanno dimostrato incidenze di pneumococchi penicillino-resistenti fino al 20%.
La strumentazione automatizzata può aiutare. Sia MicroScan (convenzionale, *overnight*) che Vitek hanno rilevato i casi di GISA. I pannelli rapidi hanno invece qualche problema. Ma la chiave di tutto sta nella consapevolezza dei responsabili dei laboratori e dei microbiologi al banco di lavoro.
Paradossalmente (ma forse non tanto) le norme HCFA per l'accreditamento dei laboratori stanno causando qualche danno. Poichè infatti il risultato nei *proficiency test* è utilizzato per autorizzare le prestazioni, si manifesta una certa difficoltà ad eorganizzare esercizi difficili, che potrebbero dare indicazioni professionali utili, ma che darebbero risultati non accettabili per molti partecipanti. Per valutare un risultato individuale occorre il 90% del consenso, ma se un microorganismo è "difficile" questo risultato non viene raggiunto.
Ci sono ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* con due o tre morfotipi di colonie e profili di resistenza diversificati per ciascuno di essi. Si tratta di casi riscontrati nella pratica quotidiana, ma in un esercizio di VEQ un ceppo simile darebbe risultati imprevedibili.
Lo *Stenotrophomonas maltophilia*, un altro esempio, si isola in casi di fibrosi cistica e sepsi nosocomiali. I risultati degli antibiogrammi per questo microorganismo sono molto insodisfacenti. Non esistono criteri interpretativi per i metodi in diffusione. Un esercizio di VEQ con questo microorganismo darebbe risultati difficili da intepretare.

Marco Pradella