

Guida di microbiologia per l'interpretazione della concentrazione minima inibente (MIC)

Storicamente, i test di sensibilità in vitro venivano eseguiti mediante il metodo di diffusione su disco (Kirby-Bauer). La dimensione della zona esente da crescita determinava se il batterio era considerato sensibile, resistente o intermedio rispetto a un particolare antibiotico.

Benché si trattasse di un'utile guida per la selezione di un antibiotico efficace, il test di Kirby-Bauer non era in grado di indicare al medico l'esatta concentrazione di antibiotico necessaria per ottenere un risultato terapeutico. Il metodo quantitativo automatizzato alternativo dei test di sensibilità con la piattaforma Vitek utilizzato nei nostri laboratori di microbiologia supporta una refertazione dell'analisi di sensibilità antimicrobica (AST) quantitativa rapida e accurata, inclusa la concentrazione minima inibente (MIC). La MIC ha la possibilità di determinare la concentrazione di antibiotico necessario per inibire la crescita di un patogeno.

I risultati della microbiologia IDEXX comprendono l'identificazione dell'agente patogeno e il pattern di sensibilità antibiotica appropriato per ogni organismo. La maggior parte degli antibiogrammi includerà la MIC al fine di determinare l'antibiotico più adeguato che si tradurrà in un trattamento efficace.

Questa guida fornisce una spiegazione dettagliata dei seguenti concetti che sono importanti nell'implementazione della MIC:

- Il numero MIC rappresenta la concentrazione più bassa (in $\mu\text{g/mL}$) di un antibiotico in grado di inibire la crescita di un determinato tipo di batterio. (Si veda il paragrafo "Che cos'è una MIC?")
- Un numero MIC per un antibiotico NON PUÒ essere paragonato al numero MIC di un altro antibiotico. (Si veda il paragrafo "Come si utilizzano le MIC?")
- La scelta dell'antibiotico non deve basarsi esclusivamente sulla MIC. (Si veda il paragrafo "Selezione dell'antibiotico")
- Le tabelle allegate sono di ausilio per l'interpretazione della MIC e la selezione dell'antibiotico.

Che cos'è una MIC?

La MIC, o concentrazione minima inibitoria, rappresenta la concentrazione più bassa (in $\mu\text{g/mL}$) di un antibiotico in grado di inibire la crescita di un determinato tipo di batterio. Si tratta di un valore dipendente dal tipo di batterio che differirà notevolmente tra le diverse specie batteriche e persino all'interno di una specie a seconda del singolo tipo di batterio isolato nel rispettivo caso clinico, anche per lo stesso antibiotico esaminato. IDEXX si avvale di un sistema automatizzato per determinare le MIC, un metodo quantitativo di analisi di sensibilità. La MIC è riportata come un valore numerico. I valori superiori o inferiori all'intervallo di misurazione sono indicati con " \leq " (in caso di valori inferiori all'intervallo, nella categoria sensibile) o con " \geq " (in caso di valori superiori all'intervallo, nella categoria resistente).

Come è riportata la MIC?

Accanto a ciascun antibiotico è riportata l'interpretazione della sensibilità: S (sensibile), I (intermedio) o R (resistente) sono le tre categorie interpretative, elencate nella prima colonna dei risultati del rapporto di sensibilità. La rispettiva categoria è seguita dalla MIC in $\mu\text{g/mL}$ nella colonna successiva dei risultati del rapporto di sensibilità. "Sensibile" significa che l'organismo è inibito dalla concentrazione sierica del farmaco che si ottiene con la dose normale; "intermedio" significa che gli organismi sono inibiti soltanto quando si ottengono concentrazioni più elevate rispetto alle dosi normalmente consigliate; e "resistente" significa che gli organismi sono resistenti ai livelli sierici di farmaco solitamente raggiungibili. Questi standard interpretativi sono stati stabiliti dal Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Le categorie interpretative sono valutate in base ai cosiddetti breakpoint per ciascun antibiotico elencati nelle versioni attuali dei documenti CLSI.

Esempio di refertazione dei risultati AST

Esame batteriologico, coltura aerobica:

- Gruppo *Staphylococcus intermedius*, moderata crescita (1)
- *Escherichia coli*, elevata crescita (2)

Antibiogramma per tipo	(1)		(2)		Commenti
	SIR	MIC	SIR	MIC	
Penicillina	R	>=0,5			
Ampicillina	R			<=2	valido anche per amoxicillina
Amoxicillina	R		S		valido anche per ampicillina
Amoxicillina/acido clavulanico	S	<=2	S	<=2	
Cefalexina	S		S	<=4	
Cefazolina	S		S		
Cefalotina	S	<=2		4	
Cefovecina	S	<=0,5	I	<=0,5	
Ceftiofur	S	<=0,5	S	<=1	
Cefpodoxime	S		S	<=0,25	
Cefoperazone	S		S		
Cefquinome	S		S		
Oxacillina	S	<=0,25	S		
Cloxacillina	S				
Gentamicina	S	<=0,5		<=1	
Kanamicina	S	<=4	S		valido anche per kanamicina
Eritromicina	S	0,5			
Tetraciclina	S	<=1		<=1	rappresenta tutte le tetracicline
Doxiciclina	S	<=0,5	S	1	
Enrofloxacin	S	<=0,5	S	0,5	rappresenta tutti i fluorochinoloni
Marboflossacina	S	<=0,5	S	<=0,5	
Pradofloxacin	S	<=0,5	S	0,25	
Nitrofurantoina	S	<=16	S	<=16	
Clindamicina	S	0,25			
Lincomicina	S				
Sulfametossazolo/trimetoprim	S	<=10	S	<=20	valido anche per altre combinazioni di sulfonamide/trim.
Cloramfenicolo	S	8	S	8	rappresenta tutti i fenicoli (ad es. florfenicolo)
Florfenicolo	S		S		
Imipenem	S		S	<=0,25	attenzione alle limitazioni d'uso
Meropenem	S		S		attenzione alle limitazioni d'uso
Amikacina	S		S	<=2	attenzione alle limitazioni d'uso
Tobramicina	S		S		attenzione alle limitazioni d'uso
Azitromicina	S				attenzione alle limitazioni d'uso
Clarithromicina	S				attenzione alle limitazioni d'uso

Chiave di interpretazione dell'antibiogramma:

S = sensibile; principio attivo normalmente efficace contro i microrganismi alla dose raccomandata.

I = intermedio; il principio attivo può essere efficace contro i microrganismi a una dose superiore a quella raccomandata.

R = resistente; principio attivo non efficace contro i microrganismi sia alla dose raccomandata sia a una dose più elevata a causa del meccanismo di resistenza.

Metodo: determinazione automatica della resistenza (MIC), secondo le linee guida del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Valori MIC (ove disponibili) espressi in µg/ml.

I risultati SIR e/o i valori MIC non sono riportati se non sono disponibili criteri di interpretazione CLSI (i cosiddetti breakpoint), se le condizioni di crescita del microrganismo non consentono la misurazione con il metodo utilizzato, o se la determinazione del singolo isolato non è stata possibile.

I risultati sono in parte ottenuti per derivazione secondo le linee guida internazionali (informazioni disponibili su richiesta presso il laboratorio). L'antibiogramma è compilato in base ai microrganismi. Un risultato SIR assente nell'antibiogramma indica in genere una combinazione inadeguata di microrganismo e principio attivo. Si prega anche di notare le informazioni relative ai principi attivi e alle resistenze crociate.

Si prega di osservare le eventuali restrizioni sull'applicazione e controindicazioni! La scelta dell'antibiotico è responsabilità del veterinario curante.

Il metodo di analisi si riferisce a livelli efficaci sistemici. Non è possibile testare i principi attivi applicabili a livello locale come l'acido fusidico e la polimixina B.

Per ulteriori informazioni sulla MIC, consultare il nostro sito web (parola chiave "MIC").

In quali casi non si eseguono le MIC?

Le MIC non si eseguono quando:

- Le linee guida CLSI non forniscono criteri interpretativi.
- Il farmaco è noto per essere clinicamente inefficace contro l'organismo, indipendentemente dai risultati in vitro.
- Il farmaco non è concepito per essere attivo contro il microorganismo, ad es. la clindamicina è progettata solo per i microrganismi Gram-positivi e quindi non è testata contro i microrganismi Gram-negativi (ad es. *Pseudomonas* sp.)
- Il risultato per la categoria interpretativa è stato raggiunto mediante deduzione secondo le linee guida internazionali.
- Alcuni antibiotici non sono disponibili per il sistema VITEK.
- I requisiti di crescita di alcuni organismi richiedono che il test di sensibilità venga eseguito con metodo diverso dal VITEK.

Come si utilizzano le MIC?

Il breakpoint antibiotico definisce la diluizione alla quale i batteri iniziano a mostrare resistenza. Il breakpoint e il range di diluizioni differiscono a seconda del farmaco e delle specie batteriche. Le tabelle che elencano i rispettivi breakpoint sono soggette a costante rivalutazione da parte del CLSI in base ai più recenti dati scientifici (dati farmacologici e clinici). Le versioni più recenti sono disponibili online (si veda <https://clsi.org/>).

Per i veterinari di lingua tedesca, una raccolta dei valori limite disponibili è stata pubblicata anche come allegato al *Deutsches Tierärzteblatt* (rivista ufficiale dei veterinari tedeschi) come reazione alla modifica del regolamento veterinario per le farmacie domestiche (TÄHAV) del 1/3/2018 (DTB, 2019, 67 (1)). Queste tabelle devono essere aggiornate con cadenza annuale dall'Ufficio federale per la tutela dei consumatori e la sicurezza alimentare (BVL) (DTB, 2019, 67 (1), 14-16). Presso la DVG (società tedesca di medicina veterinaria) è disponibile una sintesi in forma tabellare (<http://antibiotikaresistenz.dvg.net/index.php?id=1918>).

Il confronto clinico delle MIC di diversi antibiotici non si basa esclusivamente sul valore numerico, ma su quanto dista la MIC dal breakpoint, sul sito dell'infezione e su altre considerazioni, come età, specie e stato generale dell'animale. Anche le possibili controindicazioni di un farmaco, la frequenza e la via di somministrazione sono fattori importanti.

Ad esempio: Un tipo di batterio di *Staphylococcus pseudintermedius* ha una MIC di 0,5 µg/ml per l'eritromicina e di 0,25 µg/ml per la pradofloxacina. Considerando le diluizioni per l'eritromicina, a 0,5 µg/ml questo tipo di batterio di *Staphylococcus pseudintermedius* è distante quattro diluizioni dal breakpoint. Per la pradofloxacina, lo stesso tipo di *Staphylococcus pseudintermedius* a una MIC di 0,25 µg/ml è distante tre diluizioni dal breakpoint. Pertanto, sulla base delle MIC, questo tipo di batterio di *Staphylococcus pseudintermedius* è più sensibile all'eritromicina che alla pradofloxacina. Si veda anche il paragrafo "Selezione dell'antibiotico".

Guida rapida all'interpretazione della MIC

Si veda di seguito un approccio semplificato all'utilizzo dei valori MIC:

Se il risultato è:	MIC	Allora l'antibiotico è:	Ulteriori azioni/commenti:
Sensibile	≤ (qualsiasi numero)	efficace alla concentrazione più bassa testata	dovrebbe essere una scelta efficace
Sensibile	(qualsiasi numero)	efficace, ma non alla concentrazione più bassa testata	fare riferimento al range MIC per determinare in quale punto si trova il tipo di batterio e confrontarlo con le altre scelte
Intermedio	(qualsiasi numero)	può essere efficace a dosi elevate o se si concentra nel sito di infezione	fare riferimento al range MIC per determinare in quale punto si trova il tipo di batterio e confrontarlo con le altre scelte
Resistente	(qualsiasi numero)	improbabile che raggiunga livelli sierici efficaci	scegliere un antibiotico che all'analisi risulti sensibile
Resistente	≥ (qualsiasi numero)	improbabile che raggiunga livelli sierici efficaci	scegliere un antibiotico che all'analisi risulti sensibile

Efficacia in vitro di pradofloxacin ed eritromicina per un tipo di batterio di *Staphylococcus pseudintermedius*:

Pradofloxacin, *Staph. pseudintermedius*

MIC ($\mu\text{g/ml}$)	0,12	0,25	0,5	1	2	4
Categoria interpretativa	S	S	I	I	R	R

breakpoint per R

MIC = 0,25 $\mu\text{g/ml}$
3 diluizioni sotto il breakpoint

Eritromicina, *Staph. pseudintermedius*

MIC ($\mu\text{g/ml}$)	0,25	0,5	1	2	4	8
Categoria interpretativa	S	S	I	I	I	R

breakpoint per R

MIC = 0,5 $\mu\text{g/ml}$
4 diluizioni sotto il breakpoint

Ad esempio: L'eritromicina è distante 4 diluizioni rispetto al breakpoint, mentre la pradofloxacin è a sole 3 diluizioni dal breakpoint. Pertanto, in questo caso, benché il valore MIC assoluto misurato per la pradofloxacin (0,25 $\mu\text{g/ml}$) sia inferiore a quello misurato per l'eritromicina (0,5 $\mu\text{g/ml}$), il tipo di batterio dello stafilococco è più sensibile all'eritromicina.

I nostri consulenti sono a disposizione per fornire aiuto nell'interpretazione dei risultati del test.

A partire dal 1/3/2018, in seguito alla modifica del regolamento veterinario per le farmacie domestiche (TÄHAV) è obbligatoria nel referto, ai sensi del §13, l'attestazione del risultato quantitativo e della valutazione qualitativa del test di sensibilità. Il risultato quantitativo si riflette nei valori MIC, la valutazione qualitativa viene effettuata con l'interpretazione del risultato come sensibile, intermedio o resistente. Quest'ultima ripartizione in classi di efficacia assume rilevanza clinica diretta per il veterinario.

Il valore MIC è un parametro necessario per la valutazione del test di laboratorio, importante per valutare l'efficacia in vitro dell'antibiotico rispetto all'isolato. Come già illustrato sopra nell'esempio, i valori MIC di diversi principi attivi non possono essere confrontati direttamente l'uno con l'altro per l'uso clinico.

Un antibiotico con un valore MIC di 0,25 $\mu\text{g/ml}$ può essere meno efficace di uno con un valore MIC di 0,5 $\mu\text{g/ml}$. Questo può sembrare illogico, poiché per quest'ultimo farmaco sembra essere necessaria una doppia concentrazione del principio attivo per inibire la crescita batterica dell'isolato in vitro. Tuttavia, nel paziente, ossia in vivo, i parametri farmacocinetici e clinici sono rilevanti. Questi fattori sono stati presi in considerazione da parte del CLSI per stabilire i breakpoint clinici, e determinano la rispettiva classificazione clinica di un isolato come sensibile, intermedio o resistente a un principio attivo. Pertanto, un isolato può essere classificato come sensibile a un principio attivo alla stessa MIC o addirittura a una MIC più elevata, mentre lo stesso isolato deve essere considerato resistente a un altro principio attivo alla stessa MIC o a una MIC inferiore. Il valore MIC da solo non è sufficiente per una valutazione clinica. Il valore MIC non consente l'individuazione diretta della dose terapeutica necessaria. Soltanto con una conoscenza precisa dei parametri farmacologici, come la distribuzione del tessuto, le concentrazioni ottenibili nel tessuto bersaglio, i tassi di eliminazione, i limiti di tossicità ecc., il valore MIC può essere utilizzato per applicazioni terapeutiche. Per l'uso clinico diretto, l'interpretazione terapeutica (S, I o R) costituisce la base per il successo del trattamento.

Antibiotici di riferimento per la classe

Alcuni antibiotici sono utilizzati per determinare la sensibilità di altri antibiotici appartenenti alla stessa classe. Ad esempio, la presenza di stafilococchi resistenti alla meticillina (MRS) viene testata in laboratorio con oxacillina e/o cefoxitina e non con meticillina. Il nome MRS è utilizzato per convenzione dopo anni di uso in articoli scientifici e libri di testo.

Agente antimicrobico	Previsione di sensibilità per:
Amoxicillina	Ampicillina
Cefalexina	Tutte le cefalosporine di prima generazione, ad eccezione della cefazolina
Clindamicina	Lincosamidi (lincomicina, pirlimicina) (solo GP)
Eritromicina	Azitromicina e claritromicina (solo GP), macrolidi, (in parte) tilosina, spiramicina
Oxacillina	Meticillina (MRS) e isoxazolylicilline (cloxa-, dicloxacillina)
Tetraciclina	Doxiciclina, oxitetraciclina
Sulfametossazolo/trimetoprim	Sulfonamidici potenziati
Ampicillina	Aminopenicilline (ad es. amoxicillina); penicillina (GP)
Kanamicina	Neomicina, frameticina, paromomicina
Cloramfenicolo	Fenicoli (florfenicolo)

(GP = microrganismi Gram-positivi)

Scelta dell'antibiotico

Nel selezionare un antibiotico è necessario tenere presente altri fattori importanti oltre alla MIC. Il sito dell'infezione è importante perché i farmaci liposolubili raggiungono livelli più elevati nel tessuto di quanto non facciano nel siero. I farmaci escreti dal rene raggiungono nella vescica livelli molto più elevati rispetto ai livelli sierici. Inoltre, alcuni farmaci sono più efficaci contro i batteri Gram-negativi rispetto ai batteri Gram-positivi e viceversa. Altrettanto importanti sono le considerazioni sulle specie, anche perché alcuni antibiotici sono tossici per determinate specie.

Pertanto, la scelta dell'antibiotico non deve basarsi esclusivamente sulla MIC ma su molti altri criteri.

I fattori per la selezione dell'agente più appropriato includono:

- il valore numerico MIC
- il breakpoint dell'antibiotico (quanto dista la MIC dal breakpoint)
- il sito di infezione (livelli di farmaco ottenibili al sito di infezione)
- età del paziente, specie animale, stato generale dell'animale (disturbi d'organo noti, stato immunitario)
- meccanismo d'azione (batteriostatico/battericida), spettro (ampio spettro contro spettro stretto)
- farmacocinetica (volume di distribuzione, biodisponibilità, via di eliminazione)
- restrizioni nell'applicazione (linee guida antibiotiche a seconda dei paesi o restrizioni per l'uso negli animali da allevamento, restrizioni per antibiotici di importanza critica)
- sicurezza/controindicazioni, possibili effetti indesiderati del farmaco, margine di tossicità
- facilità d'uso, frequenza e via di somministrazione

Considerare i criteri appropriati per ogni caso clinico quando si determina l'antibiotico ottimale.

E infine: perché a volte non è disponibile alcuna relazione sulla sensibilità?

In IDEXX seguiamo le linee guida internazionali stabilite dal Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) associate alla nostra esperienza pluriennale nell'esecuzione dei test di sensibilità. Pertanto, di seguito è riportata una sintesi della nostra procedura di analisi degli antibiotici:

- I test di sensibilità non vengono eseguiti su flora normale e microrganismi non patogeni.
- I patogeni privi di standard interpretativi internazionali saranno refertati con un elenco raccomandato di antibiotici (se disponibili da fonti scientifiche). Ad esempio le specie *Corynebacterium* e *Campylobacter*.
- Nel caso in cui il test di sensibilità non sia possibile (ad es. metodo VITEK non applicabile, mancata crescita generale o individuale) verrà riportato un elenco raccomandato di antibiotici (se disponibile da fonti scientifiche).
- Non si analizzano agenti topici, in quanto non esistono linee guida internazionali per test di sensibilità e breakpoint su questi agenti. Qualsiasi test di questo tipo può portare a risultati fuorvianti. Si tratta ad esempio di agenti inclusi nelle preparazioni oftalmiche e auricolari.
- Non analizziamo associazioni inappropriate di organismi/antibiotici, come clindamicina contro organismi Gram-negativi o penicillina contro *E. coli* (presenza di meccanismi di resistenza intrinseca contro questi antibiotici).

Servizi di supporto clienti

IDEXX sostiene l'attività dei propri clienti con team di supporto al cliente, assistenza tecnica e servizi di consulenza medica, inclusi veterinari e specialisti per consulenza diagnostica.

Per ulteriori domande, si prega di contattare il servizio di Consulenza Medica IDEXX:

 02 87103676 opz 2

 Italy-IntMed@idexx.com

Le informazioni riportate nel presente documento hanno lo scopo esclusivo di fornire una guida generale. Come per qualsiasi diagnosi o trattamento, è necessario utilizzare discrezione clinica con ciascun soggetto sulla base di una valutazione completa del paziente che includa anamnesi, esame obiettivo e dati di laboratorio completi. In merito a qualsiasi terapia farmacologica o programma di monitoraggio, è necessario fare riferimento alle informazioni sul prodotto per una descrizione completa di dosaggi, indicazioni, interazioni e precauzioni.