

PUNTI CHIAVE PER RICHIESTA DI ANTIBIOGRAMMA PER MICOBATTERI NON- TUBERCOLARI ISOLATI DA CAMPIONI RESPIRATORI

1. L'antibiogramma per Micobatteri Non-Tubercolari (Non-Tuberculous Mycobacteria, NTM) deve essere eseguito su **ceppi selezionati** di micobatteri, valutando **specifici antibiotici** e utilizzando un **approccio validato**.
2. I ceppi su cui eseguire l'antibiogramma sono esclusivamente quelli responsabili di infezione e malattia respiratoria nell'uomo sulla base di criteri universalmente riconosciuti, ed includono: ***M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. xenopi*, e *M. abscessus***.
3. Il test deve essere eseguito **sull'isolato iniziale** e, in caso di mancata negativizzazione della coltura dopo 6 mesi di trattamento, **su un nuovo isolato**.
4. Il metodo da utilizzare per l'esecuzione dell'antibiogramma è quello della **microdiluizione in terreno liquido con determinazione della concentrazione minima di antibiotico capace di inibire la crescita batterica (MIC)**. I break-point da utilizzare sono quelli indicati da CLSI (1,2). L'esecuzione del test di sensibilità con determinazione delle MIC in terreno liquido è complessa ed oltre alla precisione tecnica è richiesta notevole esperienza al momento della lettura. Esistono laboratori di riferimento regionale per micobatteri che condividono tale esperienza e specifici programmi di controllo di qualità.
5. Gli antibiotici da testare variano a seconda della specie di NTM.
 - **MAC**. Il trattamento delle infezioni da *M. avium* e *M. intracellulare*, come pure degli altri micobatteri appartenenti al *M. avium* complex (MAC), prevede un farmaco principale (macrolide) e almeno due farmaci *companion*

che hanno come scopo primario la protezione del macrolide dallo sviluppo di resistenze. Nella stragrande maggioranza dei casi, i ceppi appartenenti al MAC sono sensibili ai macrolidi. In caso di resistenza ai macrolidi, o di mancata risposta al trattamento standard, l'amikacina può assumere un ruolo primario e la valutazione della sua sensibilità *in vitro* è raccomandata. La determinazione della sensibilità all'amikacina è un prerequisito indispensabile per la somministrazione dell'amikacina liposomiale per aerosol, farmaco approvato negli USA ed al momento prescrivibile in Italia "per uso compassionevole".

Tabella 1. Farmaci da testare per MAC con relativi break-point. In grigio i farmaci di seconda linea.

	S	I	R
Claritromicina	≤8	16	≥32
Amikacina (IV)	≤16	32	≥64
Amikacina (LAI)	≤64		≥128
Moxifloxacina	≤1	2	≥4
Linezolid	≤8	16	≥32

- ***M. kansasii***. Il trattamento delle infezioni da *M. kansasii* prevede come farmaco principale la rifampicina (o rifabutina), il cui antibiogramma è fortemente raccomandato. In caso di resistenza a rifampicina/rifabutina, come farmaco di prima linea può essere usato un macrolide purché attivo *in vitro*.

Tabella 2. Farmaci da testare per *M. kansasii* con relativi break-point. In grigio i farmaci di seconda linea. Gli stessi farmaci possono essere testati per le specie a crescita lenta diverse da MAC e *M. kansasii*; in quest'ultimo caso non ha più valore la distinzione fra molecole di prima e seconda linea.

	S	I	R
Claritromicina	≤8	16	≥32
Rifampicina	≤1		≥2
Amikacina	≤16	32	≥64

Ciprofloxacina	≤1	2	≥4
Doxiciclina	≤1	2-4	≥8
Linezolid	≤8	16	≥32
Minociclina	≤1	2-4	≥8
Moxifloxacina	≤1	2	≥4
Rifabutina	≤2		≥4
Co-trimossazolo	≤2/38		≥4/76

- ***M. xenopi***. *M. xenopi* è una specie a crescita molto lenta. Tale caratteristica, assieme all'optimum di crescita a 42°C, rendono problematico il saggio della farmaco-sensibilità che può richiedere fino a 4 settimane di incubazione. Il trattamento delle infezioni da *M. xenopi* prevede un protocollo standard che prescinde dalla sensibilità in vitro. L'esecuzione dell'antibiogramma non è pertanto necessaria. I farmaci che eventualmente possono essere testati sono quelli indicati nella Tabella 2 (con gli stessi break-point) senza tenere conto della distinzione fra molecole di prima e di seconda linea.

- ***M. abscessus***. *M. abscessus* è una specie a crescita rapida, caratteristica che rende più affidabili i risultati del test di sensibilità. La terapia prevede l'impiego di farmaci attivi in vitro scelti fra quelli riportati nella tabella.

- **Altri NTM a crescita lenta**. Il test non è raccomandato; eventualmente possono essere testati i farmaci della Tabella 2 (con gli stessi break-point) senza tenere conto della distinzione fra molecole di prima e seconda linea.

Tabella 3. Farmaci testabili per *M. abscessus* con relativi break-point.

	S	I	R
Clarithromicina	≤2	4	≥8
Amikacina	≤16	32	≥64
Cefoxitina	≤16	32-64	≥128
Ciprofloxacina	≤1	2	≥4
Doxiciclina	≤1	2-4	≥8
Linezolid	≤8	16	≥32
Imipenem	≤4	8-16	≥32
Meropenem	≤4	8-16	≥32
Moxifloxacina	≤1	2	≥4
Co-trimossazolo	≤2/38		≥4/76

- **Altri NTM a crescita rapida.** Il test non è raccomandato; eventualmente possono essere testati i farmaci della Tabella 3 (con gli stessi break-point).

6. Un'alternativa al test di sensibilità è rappresentata dal **rilevamento delle mutazioni responsabili di resistenza**. Per gli NTM tale possibilità è attualmente limitata a **macrolidi** ed **amikacina** che rappresentano i farmaci di primaria importanza per la terapia dei patogeni più comuni, MAC e *M. abscessus*. Il test è commercialmente disponibile ed è alla portata di tutti i laboratori che eseguono test molecolari di questo tipo.

BIBLIOGRAFIA

1. CLSI, Susceptibility testing of mycobacteria, Nocardiae and other aerobic actinomycetes; approved standard, 3rd Ed., CLSI Standard M24. Wayne, Pa: Clinical and Laboratory Standard Institute; 2018.
2. CLSI, Performane standard for susceptibility testing of mycobacteria, Nocardiae and other

aerobic actinomycetes; approved standard 1st Ed., CLSI Supplement M62. Wayne, Pa: Clinical and Laboratory Standard Institute; 2018.

3. Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, Catanzaro A, Daley C, *et al.* An official ATS/IDSA statement: Diagnosis, treatment and prevention of nontuberculous mycobacterial disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:367-416.
4. Mougari F, Loiseau J, Veziris N, Bernard C, Bercot B, *et al.* Evaluation of the new GenoType NTM-DR kit for the molecular detection of antimicrobial resistance in non-tuberculous mycobacteria. *J Antimicrob Chemother* 2017;72:1669-1677.