

■ Webinar report

## Le regole EUCAST e la gestione microbiologica e clinica di *Pseudomonas aeruginosa*

### EUCAST rules and microbiological management and *Pseudomonas aeruginosa* clinic

Fabio Arena

Professore di Microbiologia e Microbiologia Clinica,  
Università degli Studi di Foggia

Il giorno 29 giugno 2021 si è tenuto il webinar SIMPIOS, AMCLI, SIM, EUCIC IT, dal titolo “Le regole EUCAST e la gestione microbiologica e clinica di *P. aeruginosa*”. La prima parte dell’evento è stata incentrata sugli aspetti prettamente microbiologici della tematica. I relatori, Fabio Arena e Mario Sarti si sono alternati trattando i temi più attuali quali: i) significato del Cut-Off Epidemiologico; ii) metodi per un corretto antibiogramma; iii) applicazione delle regole EUCAST per la refertazione dell’antibiogramma e relative ricadute cliniche.

In questo articolo è riportata una sintesi dei concetti chiave trattati durante l’evento.

*P. aeruginosa* è una specie patogena responsabile di infezioni di gravità variabile, da lieve a potenzialmente letale, in pazienti immunocompromessi e/o con co-morbidità (e.g. diabete mellito, fibrosi cistica, malignità ematologiche etc...).

Dal punto di vista terapeutico, il trattamento delle infezioni da *P. aeruginosa* è reso complesso dalla capacità innata di questo patogeno di tollerare l’esposizione a numerose classi di molecole antibiotiche. Infatti, a causa della presenza di un gene cromosomiale codificante per una Beta-lattamasi di classe C e all’espressione di numerosi sistemi di efflusso di membrana, la specie deve essere considerata costitutivamente resistente ad ampicillina, amoxicillina, ampicillina-sulbactam, amoxicillina-ac.clavulanico, ceftriaxone, cefotaxime, ertapenem, cloramfenicolo e tetraciclina inclusa la tigeciclina. Inoltre, livelli sub-concentrazione minima inibente di chinoloni, aminoglicosidi e beta-lattamici sono tollerati grazie alla modulazione dell’espressione di sistemi di riparazione della parete e delle pompe di efflusso di tipo MexXY.

Oltre ai meccanismi di resistenza costitutivi appena menzionati, *P. aeruginosa* mostra una notevole tendenza ad acquisire nuovi meccanismi di resistenza mutazionali o trasferibili. Il valore di MIC (concentrazione minima inibente) che separa gli stipti senza meccanismi di resistenza acquisiti da quelli con meccanismi di resistenza, è detto “cut-off epidemiologico”. Quest’ultimo è un parametro biologico,

immutabile nel tempo, che non ha un significato clinico diretto. Tuttavia, può essere usato nella pratica clinica per intercettare quei ceppi batterici che, pur non presentando una resistenza fenotipica franca (sinonimo di alta probabilità di fallimento terapeutico), hanno iniziato a sviluppare strategie genetiche che possono preludere a quest’ultima.

Dal punto di vista clinico, i valori di riferimento che consentono di categorizzare un isolato come Sensibile, Intermedio o Resistente a una certa molecola sono detti “breakpoints”. Questi “livelli soglia” sono valori di MIC, rilasciati annualmente dal comitato EUCAST.

A partire dall’anno 2018, è iniziato un processo di “ammodernamento” delle tre categorie interpretative. In particolare, la categoria “Intermedio” è stata completamente spogliata della sua connotazione di incertezza tecnica ed è stata ridefinita con “Sensibile ad aumentata esposizione”. Il che significa che la categoria “I” deve essere attualmente letta come pienamente sensibile, a patto che si adottino delle strategie per aumentare l’esposizione al farmaco (ad es. utilizzo del dosaggio aumentato, ottimizzazione del regime di somministrazione e/o utilizzo per infezioni localizzate nei siti di accumulo del farmaco). I dosaggi convenzionali e aumentati dei farmaci sono esplicitati in una sezione dedicata delle tabelle breakpoints EUCAST.<sup>1</sup>

Questo cambiamento rispetto al passato ha una ricaduta particolarmente evidente sui test di sensibilità per *P. aeruginosa*. EUCAST, infatti, ha scelto di posizionare il breakpoint per molti dei farmaci più comunemente utilizzati (piperacillina-tazobactam, ceftazidime, cefepime e imipenem) in maniera che anche gli isolati senza meccanismi di resistenza acquisiti vengano categorizzati come “I”. La finalità principale di questa scelta è quella di indicare all’utilizzatore clinico di adottare regimi terapeutici ad “alta esposizione” per queste molecole. Questa scelta rischia tuttavia di risultare confondente per l’utilizzatore meno esperto che potrebbe essere spinto a preferire le molecole categorizzate come “S, sensibile”, rispetto a quelle categorizzate come “I, Sensibile a aumentata esposizione”. Pertanto, è importante comunicare agli utenti clinici che la categoria “I, Sensibile a aumentata esposizione” equivale ad una alta probabilità di successo terapeutico, a condizione che si utilizzi un dosaggio aumentato del farmaco o si sfrutti un sito di accumulo. La strategia di comunicazione deve essere concordata con l’utenza e può consistere di singoli interventi o di una combinazione di:

1. eventi formativi, dedicati alla tematica, organizzati a livello locale;

Corrispondenza: **Fabio Arena**  
E-mail: arena\_fabio@hotmail.it

2. utilizzo di note nel referto che evidenzino i cambiamenti salienti e fungano da “brevi reminder” sul nuovo significato della dicitura “I”;
3. utilizzo di periodi di transizione in cui la dicitura “I” viene sostituita da “S\*” o simili, con definizione dell’asterisco in legenda che comunichi la necessità di utilizzo di regimi terapeutici ad alta esposizione.

È possibile approfondire questi concetti nelle pagine dedicate del website di EUCAST.<sup>1</sup>

Le problematiche relative ai test di sensibilità per *P. aeruginosa*, tuttavia, non si limitano ai cambiamenti interpretativi. Esistono infatti dei requisiti tecnici particolari che devono essere rispettati nel saggio della sensibilità per alcune molecole. Di seguito vengono dettagliate le problematiche tecniche relative alle singole molecole, derivanti dalle indicazioni EUCAST e dai dati di letteratura.

**a. Colistina.** La colistina è un polipeptide cationico che necessita di particolari accorgimenti per il test *in vitro*. In particolare, EUCAST considera la diluizione in brodo, secondo la tecnica di riferimento, l’unica metodica accettabile.<sup>2</sup> Il saggio di sensibilità alla colistina è cruciale in quanto, spesso, questo farmaco rappresenta l’ultima risorsa terapeutica contro i ceppi multi-resistenti (MDR). Oltre ai suddetti requisiti tecnici, è utile notare che le peculiari caratteristiche fisico/chimiche della molecola fanno sì che nel saggio di sensibilità a colistina sia presente un’Area di Incertezza Tecnica (ATU)<sup>3</sup> per il valore di MIC corrispondente a 4 mg/L. Ciò significa che, quando viene rilevato questo valore di MIC, i limiti intrinseci della metodica utilizzata e quelli dei relativi criteri interpretativi non consentono di categorizzare con ragionevole certezza il risultato. In pratica, non è possibile fornire al clinico una interpretazione attendibile. Questo ha un effetto limitato quando vi sono altre opzioni terapeutiche, ma assume particolare rilevanza per i ceppi MDR. In questi casi si deve instaurare una strategia di comunicazione tra clinico e laboratorio che consenta di intraprendere decisioni condivise, ricorrere alla ripetizione del saggio e/o richiedere il supporto di un Laboratorio di riferimento.

**b. Ceftazidime-avibactam:** per quanto riguarda il saggio di questa associazione beta-lattamico/inibitore, le indicazioni di letteratura e le indicazioni EUCAST depongono per la preferenza di utilizzo della metodica di riferimento (microdiluizione in brodo). Tuttavia, anche i sistemi automatizzati e le tecniche secondo gradiente di diffusione hanno mostrato un livello complessivo di performance accettabile.<sup>4</sup>

**c. Fosfomicina:** per questa molecola, clinicamente utile per l’ottimo profilo farmacologico nella terapia di associazione, l’unica tecnica attualmente accettabile per il test di sensibilità è quella dell’Agar diluizione.<sup>5</sup> L’utilizzo di questa metodica comporta un aggravio significativo dei costi e del carico di lavoro per il laboratorio. Tuttavia, utilizzando questa tecnica, si evita spesso di categorizzare come non trattabili molti ceppi MDR. Non esiste al momento un breakpoint specie-relato ma EUCAST indica di categorizzare secondo il cut-off epidemiologico (ECOFF=128 mg/L).

**d. Cefiderocol, meropenem-vaborbactam e imipenem-relebactam:** per queste tre nuove molecole non esistono ad oggi sistemi automatizzati per il saggio di sensibilità. Pertanto, è consigliabile ricorrere al saggio secondo la metodica di riferimento della micro-diluizione che, peraltro, per il cefiderocol, prevede l’uso di terreno di coltura depleto di ferro.

## Conclusioni

L’allestimento, l’interpretazione e la comunicazione dei saggi di sensibilità per *P. aeruginosa* rappresentano una vera sfida per il Laboratorio di Microbiologia. La necessità di effettuare saggi di diversa natura per differenti molecole comporta un notevole dispendio di risorse economiche e organizzative. La comunicazione con l’utenza clinica è fondamentale al fine di orientare al meglio il percorso diagnostico-terapeutico dei pazienti nei casi più complessi dal punto di vista interpretativo. ■

## Riferimenti bibliografici

1. [https://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](https://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)
2. [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Warnings/Warnings\\_docs/Warning\\_-\\_colistin\\_AST.pdf](https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Warnings/Warnings_docs/Warning_-_colistin_AST.pdf)
3. [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Breakpoint\\_tables/Area\\_of\\_Technical\\_Uncertainty\\_-\\_guidance\\_v2\\_2020.pdf](https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/Area_of_Technical_Uncertainty_-_guidance_v2_2020.pdf)
4. Humphries R, Campeau S, Davis TE et al. Multicenter Evaluation of Ceftazidime-Avibactam Susceptibility Testing of Enterobacterales and *Pseudomonas aeruginosa* on the Vitek 2 System. *J Clin Microbiol* 2021 Feb 18;59(3):e01870-20. doi: 10.1128/JCM.01870-20.
5. Smith EC, Brigman HV, Anderson JC et al. Performance of Four Fosfomycin Susceptibility Testing Methods against an International Collection of Clinical *Pseudomonas aeruginosa* Isolates. *J Clin Microbiol* 2020 Sep 22;58(10):e01121-20. doi: 10.1128/JCM.01121-20.