

L'avanzata della resistenza agli antibiotici

L'inizio dell'era antibiotica ha coinciso con l'inizio dei fenomeni di resistenza dei batteri alla terapia. La quantificazione del fenomeno è difficile, la sorveglianza molto parziale ha prodotto idee confuse se non sbagliate. Oggi sappiamo per certo che la resistenza avanza inesorabilmente.

Alla fine degli anni '60 sembrava di aver "chiuso la partita" con le malattie da infezione batterica. Certo, lo stafilococco aureo era diventato subito resistente alla penicillina, ma la possibilità di usare in alternativa la gentamicina dava una certa tranquillità. La crescente disponibilità di nuove molecole mascherava il problema della resistenza crescente.

Ora le cose sono diverse. Dal 1961 in poi non è stata scoperta nessuna struttura molecolare decisamente nuova. Tutti i nuovi farmaci sono modifiche di prodotti pre-esistenti. La possibilità dei batteri di adattarsi alle piccole modifiche di struttura dei farmaci è cresciuta.

Dagli anni '60, inoltre, sono aumentati i casi in cui la terapia antibiotica viene utilizzata in modo massiccio, come i trapianti ed i pazienti neutropenici.

Emergono altresì fenomeni di resistenza in batteri prima ritenuti commensali, come *Acinetobacter baumannii*.

Le resistenze più importanti (MRSA e VRE) sono in realtà dirette verso un vasto spettro di farmaci (aminoglicosidi e fluorochinolonici compresi) e diffondono per lo più con meccanismi di proliferazione clonale che di trasmissione plasmidica. Non sono estranee al meccanismo le pratiche di raggruppare e trasportare i pazienti insieme tra loro.

Amyes SGB. The rise in bacterial resistance. BMJ 2000; 320:199

Reacher MH, Shah A, Livermore DM, Wale MCJ, Graham C, Johnson AP, et al. Bacteraemia and antibiotic resistance of its pathogens reported in England and Wales between 1990 and 1998: trend analysis. BMJ 2000; 320: 213-216.

Gli antibiotici in profilassi

L'incidenza delle infezioni ospedaliere e l'epidemiologia delle resistenze agli antibiotici sono fortemente influenzate dalle modalità di attuazione della profilassi delle infezioni in chirurgia.

Uno schema profilattico deve essere rivolto verso i più probabili microorganismi infettanti, non necessariamente sterilizzare tutto il Paziente.

In generale si raccomanda una cefalosporina di prima generazione ad emivita plasmatica prolungata (*cefazolina*), sostituita da *cefotaxima* o *cefotetan* per la chirurgia colo-rettale e appendicectomia, dove incombe il rischio degli anaerobi (compreso il *Bacteroides fragilis*).

La *vancomicina* dovrebbe essere riservata alle situazioni con documentazione di una elevata incidenza di stafilococco meticillino resistente (sia *aureus* che coagulasi-negativi) o ai casi con allergia ai beta-lattamici.

Le cefalosporine di terza generazione sono inadatte e rischiano di compromettere la loro efficacia nei casi in cui fossero indispensabili per la terapia.

La profilassi antimicrobica prima di procedure che possano causare una batteriemia transitoria (cavo orale, alte vie respiratorie, digerente, vie urinarie), largamente diffusa, non è però supportata da studi controllati.

Le possibili varianti all'approccio base con beta-lattamici sono tutto sommato poche:

1. chirurgia genitourinaria: *ciprofloxacina* (urocoltura positiva o ignota, catetere, approccio transrettale)
2. aborto: *penicillina G* o *doxiciclina* (primo trimestre, con pregressa malattia infiammatoria pelvica, gonorrea o partner sessuali multipli)
3. chirurgia orale o faringea: *clindamicina* + *gentamicina*
4. chirurgia oftalmica: *gentamicina*, *tobramicina* o altri, applicati localmente

Profilassi antimicrobica in chirurgia. The Medical Letter 1999;28:85-90

Gli antibiotici in terapia

Il trattamento empirico delle infezioni batteriche è di gran lunga più praticato del trattamento guidato dall'antibiogramma. Si basa sulla presunzione dell'eziologia dell'infezione e sulla probabilità di sensibilità agli agenti antibatterici delle specie più frequentemente responsabili.

La **polmonite batterica di origine extraospedaliera** nei pazienti **ospedalizzati** può essere affrontata con cefalosporine di 3a generazione (*cefotaxime* o *ceftriaxone* o altre dosi di *penicillina* e.v.). La resistenza alla penicillina di *S.pneumoniae* non è ancora un problema in Italia. L'aggiunta di un macrolide (eritromicina, azitromicina o claritromicina) copre le leziologia da *Chlamydia*, *Mycoplasma* e *Legionella*. In alternativa, si propone la *levofloxacin*, chinolonico efficace contro il pneumococco.

In ambulatorio ritornano utili un macrolide o il chinolonico già citati o la *doxiciclina*.

Lo spettro delle eziologia cambia decisamente se la polmonite è acquisita in ospedale.

La meningite può di nuovo essere affrontata con *cefotaxime* o *ceftriaxone*. Questi farmaci vengono usati (con qualche rischio) anche nei soggetti allergici alla penicillina. L'alternativa del *cloramfenicolo* potrebbe non essere efficace per i gram negativi.

La **sindrome settica** va affrontata in base ai dati epidemiologici locali.

Le infezioni delle vie urinarie si possono avvalere del *co-trimossazolo* (schema di 3 giorni) prima ancora che sia noto l'esito delle indagini batteriologiche. Se l'epidemiologia rivela resistenza al farmaco, si può usare un chinolonico, la *nitrofurantoina*, una cefalosporina o l'amoxicillina, che a sua volta può presentare resistenze.

Nei pazienti ospedalizzati più compromessi l'arsenale deve disporre di cefalosporine di 3a generazione, *ticarcillina-ac. Clavulanico*, *piperacillina-tazobactam*, *imipenem* o *meropenem*.

Scelta dei farmaci antibatterici. The Medical Letter 1999;28:105-14

Sistema esperto e resistenza ai β -lattamici: bravo, ma può fare meglio

Il sistema esperto avanzato (Advanced Expert System, AES) del VITEK 2 è stato provato per la sensibilità ai β -lattamici di 196 ceppi di *Enterobacteriaceae* e di *Pseudomonas aeruginosa*. Si trattava di un pannello di ceppi provenienti da laboratori di tutto il mondo, già caratterizzati con tecniche biochimiche e molecolari.

Il sistema con AES ha individuato il fenotipo per 183 ceppi (93.4%), per 111 (60.7%) al primo tentativo.

Nel 14.2% dei casi il sistema ha fallito, ma per alcuni di questi si trattava di problemi risolvibili con piccole modificazioni del sistema esperto.

Sanders CC, Peyret M, Smith Moland E, Shubert C, Thomson KS, Boeufgras J-M et al. Ability of the VITEK 2 Advanced Expert System To Identify β -Lactam Phenotypes in Isolates of *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*. J Clin Microb 2000, 38: 570-4.

Enterobacter resistente alle cefalosporine a spettro esteso: difficoltà analitiche

68 ceppi di Enterobatteri (56 *Enterobacter cloacae* e 12 *Enterobacter aerogenes*) sono stati esaminati per la presenza di β -lattamasi a spettro esteso (ESBL). Nelle due specie il 25 ed il 58% dei ceppi è stato dimostrato produttore di una β -lattamasi di fenotipo SHV e pI 8.2. Il 14% dei ceppi di *E. cloacae* produceva una ESBL di nuovo riscontro, con pI a 6.9 e capace di trasferirsi a *Escherichia coli* dandovi resistenza al ceftazidime; 2 ceppi infine entrambi gli enzimi. Il sistema automatizzato per l'antibiogramma Vitek ha rilevato il 6.5% dei ceppi, il sistema convenzionale della sinergia con doppio disco in diffusione (amoxicillina-clavulanato, cefalosporine a largo spettro e aztreonam) non è salito oltre il 16% dei ceppi. Con alcune modifiche (dischi più vicini, inserimento del cefepime) fanno salire la sensibilità fino al 90%. Falsi positivi (su 37 casi) 1 per Vitek e 3 per la diffusione da dischi.

Tzelepi E, Giakkoupi P, Sofianou D, Loukova V, Kemeroglou A, Tsakris A, Detection of Extended-Spectrum β -Lactamases in Clinical Isolates of *Enterobacter cloacae* and *Enterobacter aerogenes*. J Clin Microb 2000; 38: 542-6.

Alle radici della variabilità

Tutta la complessa organizzazione che negli USA vorrebbe tenere sotto controllo la variabilità dei risultati dei laboratori clinici (CLIA 1988) è stata messa in piedi senza avere dati precisi sul fenomeno che si voleva controllare. Successivamente, dopo qualche tentativo andato a vuoto, sono stati iniziati finalmente studi sistematici con il metodo delle aliquote (*split specimen*) e del laboratorio di riferimento (*audit sample*).

L'esperimento condotto dal CDC di Atlanta è semplice ma molto originale. Per stimare la variabilità analitica 150 campioni sono stati divisi in aliquote, spedite ad altri laboratori ed a centri di riferimento. Dalle aliquote ne venivano ricavate altre, redistribuite in cieco. Dai risultati si evince che la variabilità analitica è bassa, come atteso (1-3.5% per il colesterolo, intorno a 0.01 mmol/L per il potassio). Il potassio, a differenza del colesterolo, mostra qualche fenomeno ascrivibile a fattori non analitici (tempo di contatto tra siero ed emazie). Da notare che negli USA la pratica di conservare aliquote dei campioni per eventuali controlli successivi, anche a scopo legale, è molto diffusa.

Gli schemi basati sulla distribuzione di aliquote sono utile complemento delle attività di monitoraggio della qualità analitica.

Shahangian S, Cohn RD. Variability of laboratory test results. Am J Clin Pathol 2000;

La qualità nei programmi interlaboratorio

I laboratori che partecipano alle valutazioni esterne di qualità vivono con apprensione l'arrivo dei risultati. Il gruppo del Dipartimento della Sanità dello stato di New York ha studiato un programma per la tossicologia. L'analisi delle cause dei risultati non soddisfacenti ha evidenziato in 7 casi per 1000 un fattore di errore analitico, in 0.3 un errore grossolano (di calcolo o di campionamento, ad esempio).

La metà dei laboratori partecipanti (380) aveva impostato il proprio controllo di qualità con limiti troppo larghi, basati un un errore massimo accettabile superiore a quello stabilito dal produttore dei sistemi analitici.

Jenny RW, Jacksin-Tarentino KY. Causes of unsatisfactory performance in proficiency testing. Clin Chem 2000;46:89-99

Problemi sul passaggio da sodio citrato 3,8% a 3,2% per i test coagulativi

In questi giorni, un'importante casa produttrice di sistemi di prelievo sta ritirando dal commercio le proprie provette per test coagulativi in plastica o con aspirazione parziale. Secondo la ditta, la plastica oppure un'ampia porzione d'aria al di sopra del sangue raccolto potrebbero attivare le piastrine e modificare i risultati, specialmente per il tempo di tromboplastina parziale attivato (APTT).

Questo fatto ha riproposto a molti laboratori la valutazione dei problemi pre-analitici per i test coagulativi. Tra le molte variabili che affliggono questi test, c'è la concentrazione di sodio citrato utilizzato come anticoagulante.

L'utilizzo di sodio citrato al 3,8% (0,129M) è una peculiarità italiana. In gran parte dei paesi europei si utilizzano concentrazioni pari a 3,2% (0,109M oppure 0,105M).

La concentrazione di sodio citrato modifica la sensibilità della tromboplastina per il test del tempo di tromboplastina (PT). L'Indice di Standardizzazione Internazionale (ISI) è circa il 10% più basso quando determinato in campioni raccolti in citrato 0,129M rispetto ai campioni in citrato 0,109M. Il fenomeno è anche amplificato quando si valutano diverse combinazioni reagente-strumento, con calcolo locale della sensibilità della tromboplastina.

Anche l'APTT è sensibile alla concentrazione dell'anticoagulante: concentrazioni più elevate (0,129M) provocano significativi allungamenti del tempo. Ciò è probabilmente dovuto ad una minore quantità di calcio disponibile nel plasma contenente 0,129M di citrato rispetto allo 0,109M.

La necessità di arrivare all'utilizzo di una sola concentrazione di sodio citrato è stata da più parti invocata.

Poiché le tromboplastine sono calibrate utilizzando campioni raccolti a 3,2%, concentrazioni di 3,2% sono sufficienti a garantire una completa scoagulazione ed in ambito europeo gran parte dei paesi utilizzano citrato al 3,2%, la scelta sembra obbligata.

Prioritaria però rimane la necessità di utilizzare una singola concentrazione. In Italia la concentrazione 0,129M è quasi l'unica presente. Se si decide di spingere per in cambio, questo dovrebbe avvenire per gran parte dei laboratori (in linea teorica per tutti), contemporaneamente.

Il rischio che queste recenti pressioni sulle problematiche preanalitiche spingano alcuni laboratori a decidere il cambio della concentrazione di citrato in maniera indipendente, potrebbe portare ad un'importante perdita di trasferibilità dei risultati, almeno per l'INR, da in laboratorio all'altro.

Il coinvolgimento delle industrie a recepire una raccomandazione di consenso scientifico mondiale, potrebbe essere una via per evitare inutili rischi a pazienti in terapia anticoagulante.

Duncan EM, Casey CR, Duncan BM, Lloyd JV. Effect of concentration of trisodium citrate anticoagulant on calculation of the International Normalised Ratio and the International Sensitivity Index of thromboplastin. Thromb Haemost 1994; 72:84-8.

Chantarangkul V, Tripodi A, Clerici M, Negri B, Mannucci PM. Assessment of the influence of citrate concentration on the International Normalized Ratio (INR) determined with twelve reagent-instrument combinations. Thromb Haemost 1998; 80:258-62.

Adcock DM, Kressin DC, Marlar RA. Effect of 3,2% vs 3,8% sodium citrate concentration on routine coagulation testing. Am J Clin Pathol 1997; 107:105-10.

Lawrence JB. Laboratory monitoring of anticoagulant therapy: the key role-played by preanalytical variables. LabNotes 1999; 9:1-4.

Danielson CF, Davis K, Jones G, Benson J, Arney K, Martin J. Effect of citrate concentration in specimen collection tubes on the International Normalized Ratio. Arch Pathol Lab Med 1997; 121:956-9

Trasmissione dei risultati: di notte come di giorno (non invocabile l'“urgenza”)

Dopo la sentenza n. 685 del 4.6.1998 (TAR Lombardia), non si può più invocare l'urgenza per consentire al personale tecnico la trasmissione dei risultati di laboratorio.

La materia è oggetto di numerosi pronunciamenti (TAR Friuli Venezia Giulia n. 761/96, Consiglio di Stato n.322/92, TAR puglia n. 553/91, Corte Costituzionale n. 560/88, TAR Piemonte n. 246/80, TAR Emilia-Romagna n. 1456/92, etc..). Cinonostante si presenta ancora confusa.

Il principio di urgenza vale per situazioni *extra ordinem*, eccezionali, non quindi l'organizzazione dei turni notturni e festivi. L'emissione di risultati dovrebbe essere possibile sempre, di notte come di giorno, se si tratta del meccanico prodotto del corretto adempimento delle procedure analitiche.

In regime ordinario, invece, vale l'indicazione del DPR 745/94 (“profilo professionale del tecnico sanitario di laboratorio biomedico”), che all'articolo 1 comma 2 stabilisce l'“autonomia tecnico professionale” dell'operatore (lettera a) e la responsabilità del proprio operato (lettera b). Limitazioni all'autonomia ed alla responsabilità sono rispettivamente la “diretta collaborazione col personale laureato preposto” (lettera a) e l'applicazione “dei protocolli di lavoro definiti dai dirigenti responsabili”.

Il regime ordinario vale per il giorno come per la notte. La “definizione dei protocolli” avviene di giorno. La “diretta collaborazione” può avvenire sia di giorno che di notte, allorchè si rilevino elementi esterni od occasionali in grado di inficiare la validità del risultato. [La “diretta collaborazione” può ovviamente avvenire in “compresenza” dei due soggetti, ma eventualmente anche su chiamata, NdR.]

Questo è il corretto quadro normativo in cui può essere inserita l'autonomia del tecnico sanitario di laboratorio in specifiche situazioni operative, in cui possiamo comprendere il servizio notturno e festivo, senza peraltro doverci limitare a questo. [Si considerino ad esempio le attività nei *point of care*, NdR.]

Caravita di Toritto B. Trasmissibilità dei risultati delle analisi da parte dei tecnici di laboratorio. Sanità Pubblica 2000;XX:615-8