

# Percorso diagnostico delle micobatteriosi

***GLaMic***

XLVIII Congresso Nazionale AMCLI – Rimini, 10 Novembre 2019

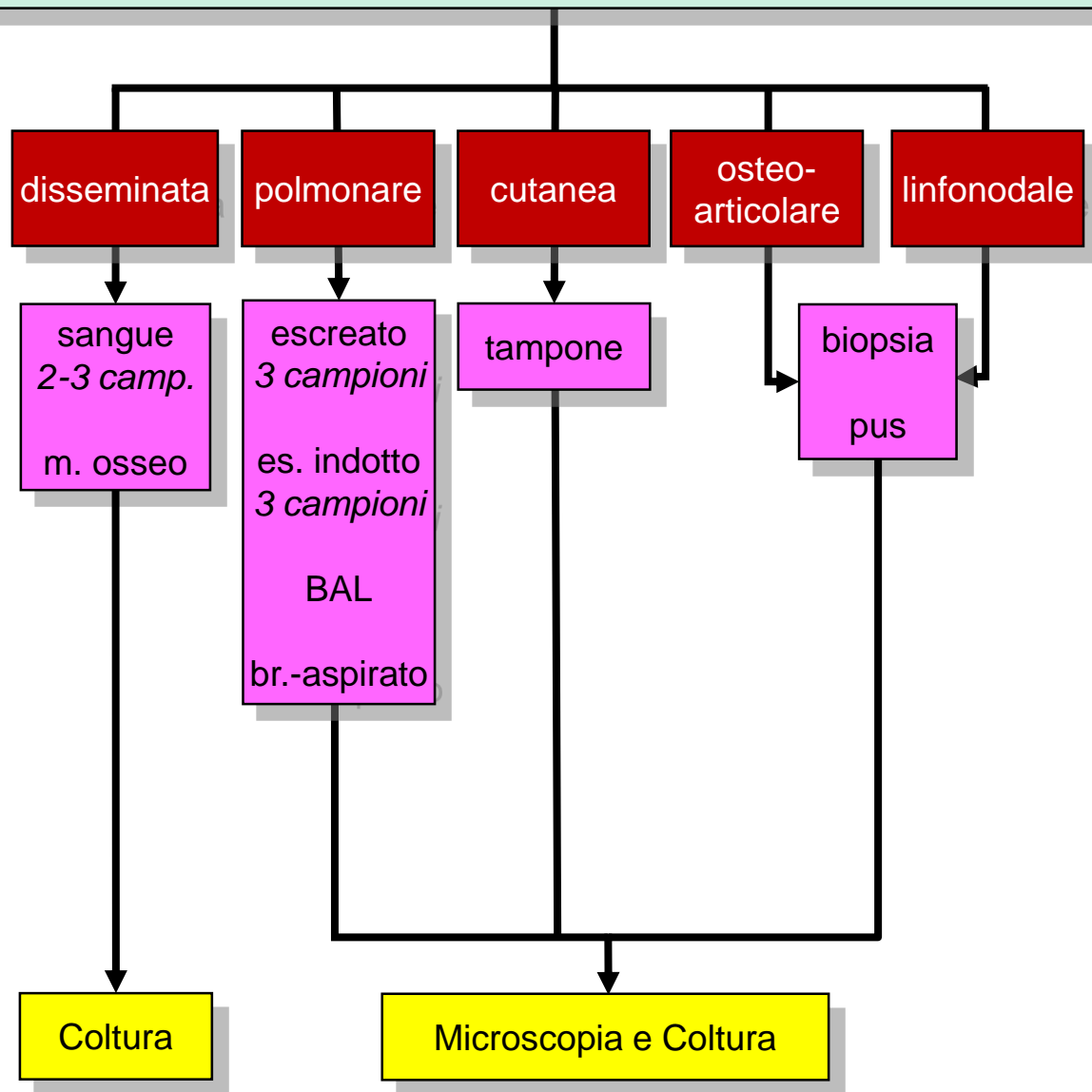
# Micobatteriosi

Patologia da micobatteri non appartenenti al  
*M. tuberculosis* complex  
né alla specie *M. leprae*

# Le micobatteriosi

- Polmonari
- Linfonodali
- Cutanee e dei tessuti molli
- Osteo-articolari
- Disseminate

## Sospetta micobatteriosi con localizzazione . . .



# Significatività clinica

- I NTM sono opportunisti ma alcune specie hanno potenziale patogeno maggiore di altre
- L'isolamento di NTM da sedi extra-polmonari è generalmente significativo
- Per gli isolamenti polmonari la significatività clinica deve essere accertata
  - Isolamenti ripetuti
  - Microscopia positiva
  - Isolamento da BAL
  - Isolamento da biopsia polmonare
  - Isolamento da escreato, anche singolo, in presenza di biopsia con granulomi
  - Isolamento di specie frequentemente responsabili di patologia

# Esame microscopico

- Sensibilità per i NTM inferiore a quella per TB

# Esame colturale

- Necessita di decontaminazione (NALC-NaOH)
- Può richiedere, per particolari specie, incubazione a temperature non standard o terreni arricchiti
- Diversamente da *M. tuberculosis* i NTM crescono in genere meglio su terreni solidi che liquidi
- Problematiche con i campioni provenienti da pazienti con fibrosi cistica

# Amplificazione genica

- Normalmente non usata per i NTM
- Esistono sistemi commerciali che hanno sensibilità molto bassa
- L'amplificazione per *M. tuberculosis*, se negativa su un campione positivo all'esame microscopico, è suggestiva di micobatteriosi



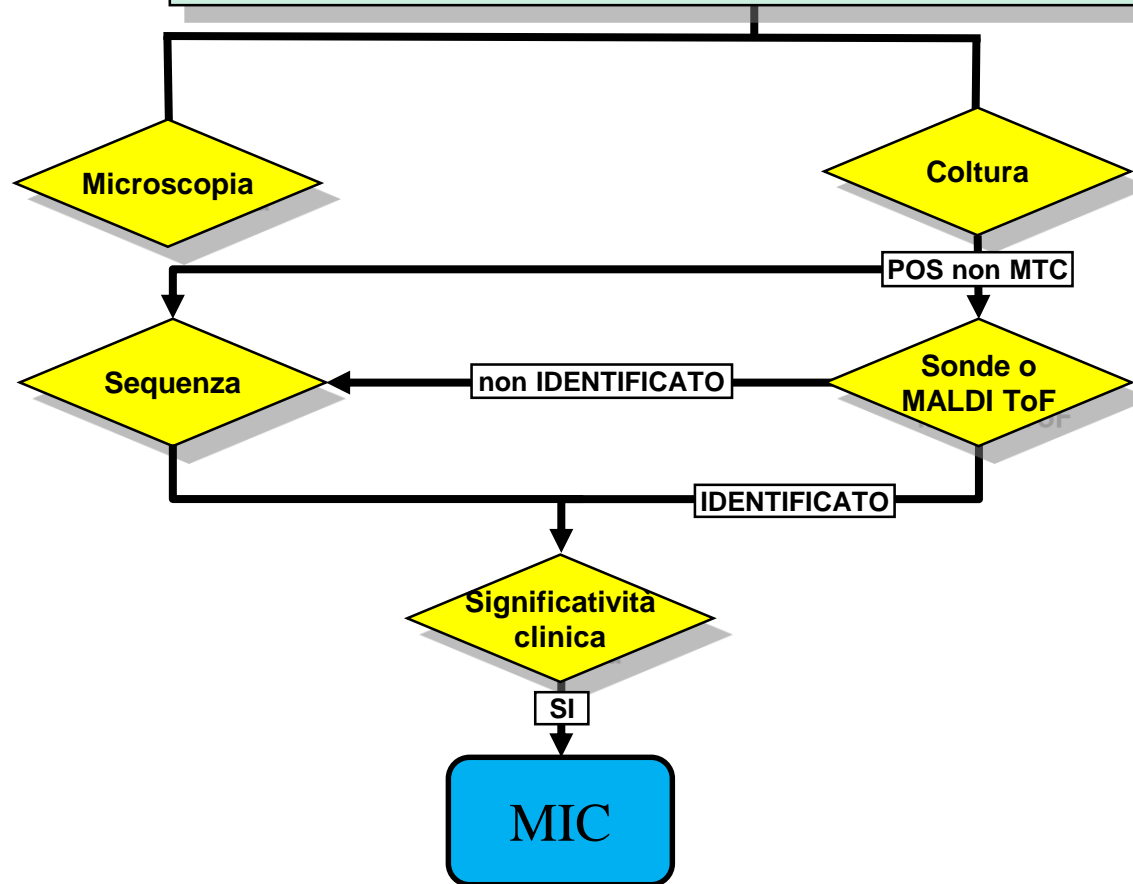
# Identificazione

- È importante perché non tutte le specie hanno uguale potere patogeno
- È importante perché per alcuni NTM la linee guida internazionali suggeriscono terapie specie-specifiche
- Le sonde molecolari sono in grado di identificare correttamente un numero limitato di specie
- Il sequenziamento genico permette l'identificazione di qualsiasi specie
  - L'esperienza gioca un ruolo importante nella scelta del gene da sequenziare e nell'interpretazione della sequenza
- La spettrometria di massa ha fatto notevoli progressi
  - Il database è il fattore limitante

# Antibiogramma

- Il test di sensibilità è raccomandato solo per i farmaci usati per il trattamento per i quali esista chiara correlazione fra attività in vitro ed efficacia in vivo
- Il metodo da usare è la microdiluizione in terreno liquido con la determinazione delle MIC
- Per gli isolati di origine polmonare l'antibiogramma deve essere eseguito solo dopo accertamento della significatività clinica

# Diagnosi microbiologica di micobatteriosi



# Test di sensibilità

## *Mycobacterium avium complex*

- MACROLIDE, rifampicina, etambutolo;  
AMIKACINA
  - Claritromicina ed amikacina devono essere testati
    - Per l'amikacina esistono 2 diversi break-point
  - Per rifampicina ed etambutolo non esistono break-point
  - Linezolid e moxifloxacin sono testabili ma la loro efficacia terapeutica non è dimostrata

CLSI, 2018

# MAC e amikacina liposomiale inalatoria

- Non raccomandato l'impiego come parte del trattamento iniziale
- Raccomandato in pazienti con mancata negativizzazione della coltura dopo almeno 6 mesi di terapia conforme alle linee guida, a condizione che il ceppo sia sensibile in vitro all'amikacina
- Il break-point di sensibilità all'amikacina è  $\leq 128$

# Test di sensibilità

## *Mycobacterium kansasii*

- RIFAMPICINA, isoniazide/macrolide, etambutolo
  - Il saggio della sensibilità alla rifampicina ed eventualmente alla claritromicina è raccomandato
  - Isoniazide ed etambutolo non possono essere testati
  - Possono essere testati: amikacina, claritromicina, doxiciclina, linezolid, minociclina, rifabutina e co-trimossazolo

# Test di sensibilità

## *Mycobacterium marinum*

- È suggerita una terapia che includa due farmaci attivi in vitro
- Farmaci testabili: amikacina, claritromicina, doxiciclina, linezolid, minociclina, moxifloxacina, rifampicina, rifabutina e co-trimossazolo

# Test di sensibilità

## *Mycobacterium xenopi*

- Moxifloxacina/macrolide, etambutolo, rifampicina
  - Il test non è raccomandato
  - Farmaci testabili secondo CLSI: amikacina, claritromicina, doxiciclina, linezolid, minociclina, moxifloxacina, rifampicina, co-trimossazolo
  - Lo stesso pannello di farmaci può essere testato per le altre specie a crescita lenta



# Test di sensibilità

## *Mycobacterium abscessus*

- È suggerita una terapia che includa tre farmaci attivi in vitro: la terapia di attacco prevede anche la somministrazione di farmaci per via endovenosa; nella terapia di mantenimento è suggerito l'impiego di soli farmaci per via orale
- È possibile testare amikacina, cefoxitin, claritromicina (lettura a 14 gg), doxiciclina, imipenem, linezolid, meropenem, moxifloxacin e co-trimossazolo
- Lo stesso pannello di farmaci può essere testato per le altre specie a crescita rapida

# L'approccio molecolare

- Disponibile per amikacina e macrolidi
- Resistenza ad amikacina
  - Dovuta alla mutazione A1408G (o C1409T) nel gene *rrs* (16S rRNA)
- Resistenza ai macrolidi
  - Resistenza costitutiva, dovuta alla mutazione A2058C nel gene *rrl* (23S rRNA)
  - Resistenza inducibile, dovuta, in *M. abscessus*, alla presenza del gene *erm*(41)
    - Resistenza non presente se il gene *erm* è inattivato per effetto della mutazione T28C
    - Resistenza non presente in *M. abscessus* subsp. *massiliense* che ha il gene *erm* troncato

# Fenotipo vs. genotipo

- Ottima corrispondenza per le resistenze mutazionali a macrolidi e amikacina
- Qualche problema per la resistenza inducibile ai macrolidi a cause della non ottimale riproducibilità della lettura a 14 gg.
- Il test molecolare (esiste anche un kit commerciale) è molto affidabile