



Università degli Studi di Padova
Corso di Laurea magistrale a ciclo
unico in Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Medicina Molecolare

Direttore: Prof. Andrea Crisanti

Cattedra di Malattie Infettive

Direttore: Prof. Saverio Parisi

TESI DI LAUREA

COLONIZZAZIONE E INFEZIONE DA GERMI
MULTIRESISTENTI IN DIFFERENTI AMBITI
ASSISTENZIALI: ANALISI DEL PERIODO

LUGLIO 2021 – GIUGNO 2022

Relatore:

Prof. Saverio Parisi

Correlatrice:

Dott.ssa Monica Basso

Laureando: Dario Lombardo

Mat. 1152754

ANNO ACCADEMICO 2021/2022

INDICE

ABSTRACT	1
1. INTRODUZIONE	3
1.1 ANTIMICROBICO-RESISTENZA: ANALISI STORICA E CAUSE ANTROPOLOGICHE DEL FENOMENO	3
1.2 CENNI FARMACOLOGICI E BIOLOGICI DELLA RESISTENZA ANTIBIOTICA	7
1.2.1. FOCUS SULLA GENETICA DELLA RESISTENZA ACQUISITA.....	10
1.2.2. BASI MOLECOLARI DELLA RESISTENZA	12
1.3. PANORAMICA SU COSTI E CONSEGUENZE CLINICHE.....	18
1.4. PROBLEMI ECOMOCI E SOCIALI.....	19
1.5. EPIDEMIOLOGIA GLOBALE DELL'AMR.....	20
1.5.1 EPIDEMIOLOGIA DELL'AMR IN ITALIA.....	24
1.6. CLINICA DELLE INFEZIONI DA BATTERI MULTIRESISTENTI.....	28
1.7. EVOLUZIONE DA COLONIZZAZIONE A INFEZIONE	34
2. SCOPO DELLO STUDIO	38
3. MATERIALI E METODI.....	39
3.1. PROGETTAZIONE DELLO STUDIO E CAMPIONE	39
3.2. DEFINIZIONI	40
3.3. ANALISI DI LABORATORIO	40
3.4. ANALISI STATISTICA	41
4. RISULTATI.....	42
4.1. FOCUS SULLA POPOLAZIONE ADULTA	43
4.1.1. ISOLAMENTI DA SOLO TAMPONE RETTALE PER AREE	45
4.1.2. DESCRIZIONE DEGLI ISOLAMENTI DA SINGOLO CAMPIONE CLINICO	48
4.1.3 ISOLAMENTI IN TRSORV E CONTEMPORANEO SITO CLINICO E DOPPIO SITO CLINICO.....	57
4.2. ISOLAMENTI IN UNITÀ OPERATIVA DI ACCETTAZIONE E PRONTO SOCCORSO.....	61
4.3. ISOLAMENTI NEI PAZIENTI PEDIATRICI.....	62
4.4. EVOLUZIONE DA COLONIZZAZIONE A INFEZIONE	62
4.5. ISOLAMENTI NOSOCOMIALI NEI SINGOLI CLINICI	69
5. DISCUSSIONE.....	70
5.1 ANALISI DEI RISULTATI PER BATTERIO MDR.....	70
5.1.1 RUOLO DELL'ACINETOBACTER BAUMANII	71
5.1.2 RILEVANZA DI KLEBSIELLA PNEUMONIAE.....	72
5.1.3. CONSIDERAZIONI SU P. AERUGINOSA	73
5.2 FOCUS SUGLI ISOLAMENTI DI ORIGINE NOSOCOMIALE.....	73
5.3. CARATTERISTICHE DELLE EVOLUZIONI IN INFEZIONE	74
5.4 LIMITI E PUNTI DI FORZA DELLO STUDIO	75
5.5. CONCLUSIONI	76
BIBLIOGRAFIA	77

ABSTRACT

Introduzione: L'antibiotico-resistenza rappresenta una minaccia globale ai sistemi di salute pubblica. Essa è il risultato, oltre che della naturale e millenaria evoluzione dei microbi, dell'uso scorretto e dell'abuso di farmaci antimicrobici negli esseri umani e negli animali da allevamento.

Scopo dello studio: L'obiettivo principale di questo studio è analizzare la presenza e le caratteristiche delle colonizzazioni e delle infezioni da batteri multiresistenti all'interno di un centro italiano di terzo livello, l'Azienda Ospedaliera Universitaria di Padova.

Materiali e metodi: È stata condotta un'indagine di prevalenza puntuale in tamponi rettali di sorveglianza e campioni clinici raccolti dal 1 luglio 2021 al 23 giugno 2022, studiando le caratteristiche di colonizzazione e infezione dai batteri multiresistenti maggiormente coinvolti nella pratica clinica.

Risultati: I dati raccolti evidenziano come la frequenza di colonizzazione e infezione sia elevata in ambito ospedaliero, con l'*A. baumannii* dimostratosi principale patogeno, identificato nei tamponi rettali di sorveglianza e negli isolati clinici, rappresentando il 26.40% degli isolati clinici totali. È stato ritenuto responsabile anche del maggior numero di evoluzioni da colonizzazione a infezione in area medica e in terapia intensiva.

Discussione: Lo studio dimostra come sia importante implementare le misure di sorveglianza sanitaria per limitare la diffusione dei patogeni multiresistenti, ormai diffusi in maniera capillare a livello mondiale.

Introduction: Antibiotic-resistance represents a global threat to the public health system. This is a result of the incorrect use, and abuse of antimicrobial drugs in human beings and livestock, other than the natural and millennial evolution of microbes.

Aim of the study: The primary aim of this study is to analyze the presence, and the characteristics of the colonizations and infections of multi-resistant bacteria in a third level Italian center, the Azienda Ospedaliera Universitaria di Padova.

Materials and methods: We conducted a retrospective longitudinal investigation in rectal swabs for surveillance and clinical samples from 1 July 2021 to 23 June 2022, studying the characteristics of colonizations, and infections caused by the multi-resistant bacteria mostly involved in clinical practice.

Results: The data shows a high frequency of colonization and infection in hospital environments. *A. baumannii* was the main pathogen in rectal swabs for surveillance and in the clinical isolates, representing 26.04% of the total clinical isolates. This pathogen was also held responsible for the great number of evolutions from colonizations to infections in medical areas and intensive care.

Discussion: The study shows how it's important to implement the safety measures to limit the spread of multi-resistant pathogens, by now already scattered worldwide.

1. INTRODUZIONE

L'antimicrobico-resistenza (AMR, antimicrobial resistance) è definita come l'incapacità di contrastare efficacemente le infezioni di batteri, virus, funghi e parassiti utilizzando gli agenti terapeutici a nostra disposizione. Essa rappresenta una delle sfide più difficili da affrontare per la medicina moderna a livello globale: oltre a contribuire in maniera rilevante all'aumento dei costi sanitari, provoca annualmente milioni di morti e disabilità importanti e di lunga durata; inoltre impatta anche sui mezzi di sussistenza, sulla sicurezza alimentare e sulla perdita di vite animali (1). La dimensione del problema può essere rappresentata dal fatto che più di 25.000 persone nell'Unione Europea muoiono ogni anno per infezioni causate da batteri antibioticoresistenti (2).

Le motivazioni di tale resistenza sono molteplici, ma è indubbio che l'uomo abbia giocato un ruolo importante, trovandosi adesso a dover fronteggiare una vera e propria emergenza sanitaria.

1.1 ANTIMICROBICO-RESISTENZA: ANALISI STORICA E CAUSE ANTROPOLOGICHE DEL FENOMENO

Nonostante la resistenza ai farmaci sia di comune riscontro in ambito clinico (per esempio in malattie croniche come il diabete), è la resistenza agli antimicrobici, e in particolare agli antibiotici, a destare maggiore preoccupazione, soprattutto in termini di morbilità e mortalità (Figura 1). La scoperta di questi farmaci tra la fine del XIX e l'inizio del XX secolo (Figura 2) ha offerto un contributo fondamentale per combattere le infezioni batteriche, tanto da rappresentare un punto di svolta nella storia umana: l'averne abusato, in unione al millenario e naturale sviluppo di adattamento batterico, ha favorito la rapida comparsa di ceppi resistenti agli antibiotici stessi (3).

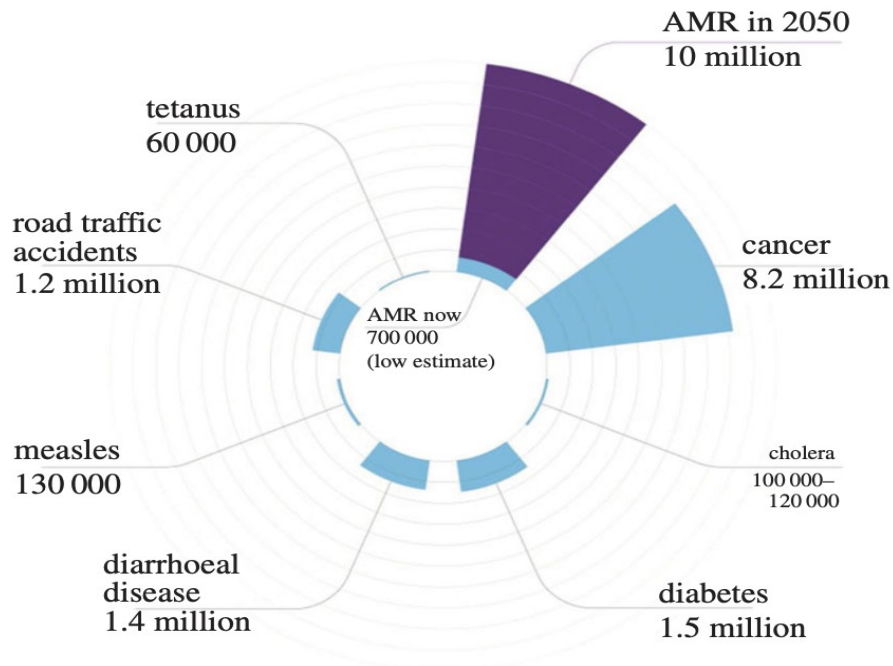


Figura 1. Principali cause di morte annuali confrontate con l'AMR (4).

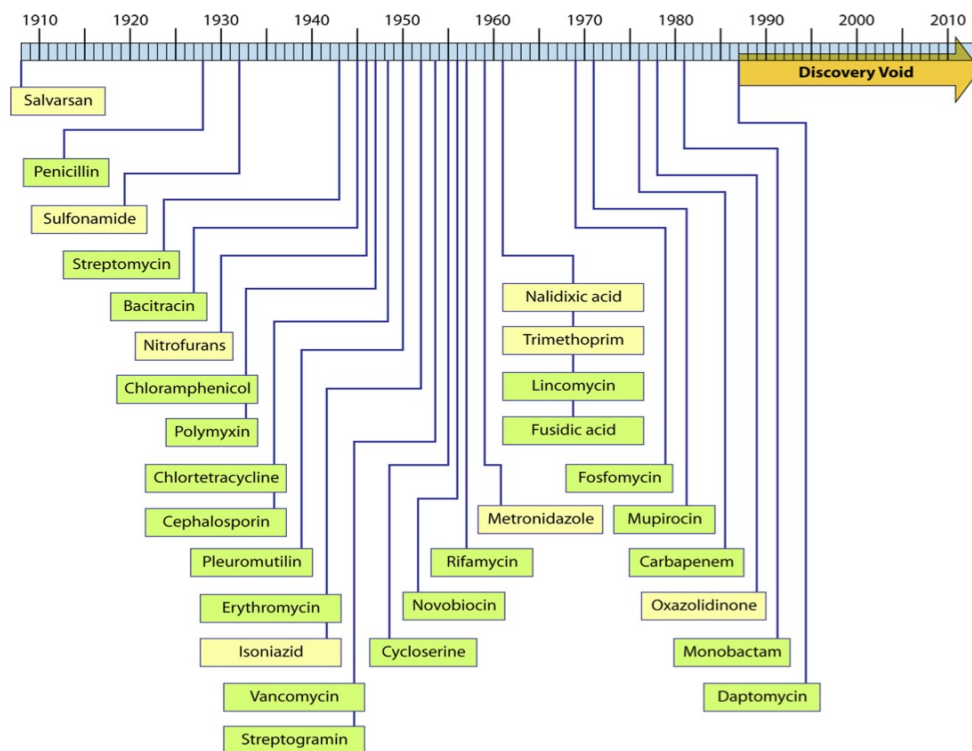


Figura 2. Illustrazione della cronologia della scoperta degli antibiotici. La “discovery void” si riferisce al periodo dal 1987 a oggi, in cui non sono stati introdotti con successo nuovi farmaci antibatterici in terapia (5).

L'analisi dei microorganismi e i dati epidemiologici confermano infatti che la diffusione di organismi multiresistenti ha avuto un'accelerazione incredibile negli ultimi 50 anni. Questo periodo coincide con l'introduzione e l'uso sempre più frequente di farmaci antibatterici (6).

Nel 1944, per esempio, l'anno in cui si fece uso per la prima volta della penicillina, quasi tutti i ceppi dello *Staphylococcus aureus* erano sensibili al nuovo farmaco. Per contro, nel 1950 solo il 30% degli isolati clinici reagivano alla penicillina, e attualmente il relativo valore si è ulteriormente ridotto al 15%(7). La meticillina è stata introdotta alla fine degli anni 50' per il trattamento dello stafilococco resistente alla penicillina, ma già pochi anni dopo sono stati segnalati i primi casi di resistenza acquisita alla meticillina (es. MRSA) nel Regno Unito. Gli isolati di MRSA sono stati presto riscontrati nel resto d'Europa e successivamente in Asia, Australia e Stati Uniti e si sono diffusi negli ospedali di tutto il mondo e nelle comunità(8).

L'improvviso spread dei patogeni multiresistenti ha rappresentato un problema crescente, soprattutto in alcune aree geografiche: la causa di ciò è da ricercarsi nella complessità microbica intrinseca, nella crescente propensione allo spostamento di persone, animali e merci, nell'uso extraospedaliero degli antibiotici e nella mancanza di scelte terapeutiche adeguate nei pazienti ad alto rischio. (9) I pazienti più fragili hanno infatti una maggior propensione a selezionare ceppi batterici multiresistenti, soprattutto in conseguenza delle loro comorbidità e delle terapie farmacologiche più lunghe; essi inoltre sono spesso portatori di cateteri e accessi vascolari per lunghi periodi di tempo, favorendo colonizzazioni difficili da eradicare.

Va inoltre preso in considerazione che in molti paesi in via di sviluppo, l'accesso agli antibiotici non è regolato e possono dunque essere acquistati senza prescrizione medica. Questa scarsa regolamentazione si traduce in farmaci facilmente accessibili, incoraggiando l'automedicazione e l'uso inappropriato(10).

Nei paesi più sviluppati, le cause sono invece da ricercarsi nell'eccessiva prescrizione di antibiotici in seguito a diagnosi errate (esempio eclatante è il trattamento di patologie virali come il raffreddore), mancanza di spiegazioni al paziente riguardo modo e tempo di somministrazione oppure per eccessiva cautela(11).

Negli ospedali, inoltre, vengono spesso utilizzate terapie antibiotiche a largo spettro, quando si potrebbe usare un singolo antimicrobico efficace: ciò è una delle conseguenze del ritardo in seguito a procedure diagnostiche di laboratorio di lunga elaborazione (tra cui le culture) che possono richiedere anche 36-48 ore per produrre risultati(12,13).

Un altro fattore non meno importante nello sviluppo del fenomeno riguarda le politiche sconsiderate in ambito zootecnico (e in misura minore in campo agricolo): gli antibiotici, sin dagli anni 50, rappresentano un mezzo per il controllo delle infezioni in questo settore. Il loro utilizzo ha contribuito al miglioramento del benessere animale e rappresenta un mezzo importante per garantire lo standard delle produzioni di alimenti di origine animale(14).

La trasmissione dei patogeni può avvenire attraverso vari meccanismi (15) (FIGURA 3):

- Trasmissione diretta attraverso il consumo di carni di animali;
- Trasferimento di resistenze durante le fasi di trasformazione;
- Ingestione di batteri resistenti presenti in prodotti freschi contaminati (es. nei prodotti di orticoltura).

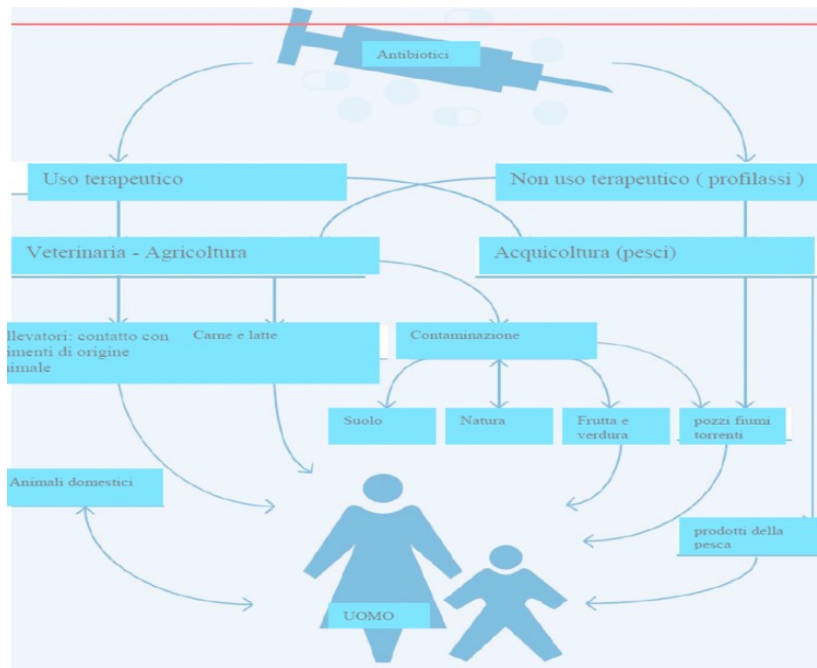


Figura 3. Illustrazione della catena di trasmissione dell’antibiotico-resistenza. Alimenti come frutta e verdura contaminati da rifiuti animali o acqua contaminata, animali domestici, prodotti della pesca, possono costituire anch’essi una via di trasmissione (14).

1.2 CENNI FARMACOLOGICI E BIOLOGICI DELLA RESISTENZA ANTIBIOTICA

La resistenza antibiotica può essere espressa operativamente sulla base di criteri clinici, secondo le definizioni dell’EUCAST, *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*, che distingue i batteri in(16):

- **Suscettibili a dosi standard**, quando vi è una “alta probabilità di successo terapeutico utilizzando un regime di dosaggio standard dell’agente antimicrobico”;
- **Suscettibili, esposizione aumentata**, se è presente una “alta probabilità di successo terapeutico se l’esposizione all’agente è aumentata aggiustando il regime di dosaggio o la sua concentrazione nel sito di infezione”;

- **Resistenti**, in caso ci sia “alta probabilità di fallimento terapeutico anche quando è incrementata la dose”.

Queste definizioni sono molto importanti perché ci permettono di stabilire se possiamo ottenere un goal terapeutico con un determinato antibiotico e a che concentrazione (MIC, minimum inhibitory concentration¹) è possibile somministrarlo.

È importante sottolineare come, oltre alla MIC, sia di fondamentale importanza valutare anche la farmacocinetica e la farmacodinamica dei farmaci(17):

ciò è utile per definire dei *breakpoint* che prendano in considerazione anche lo scenario clinico del paziente.

Attraverso questo tipo di valutazioni, è possibile per esempio trattare, in casi particolari, un’infezione delle basse vie urinarie con la gentamicina anche nel caso in cui il batterio identificato sia resistente al farmaco stesso, a patto però di raggiungere concentrazioni efficaci nel sito di infezione.

Altro parametro da considerare è la carica batterica stessa: prendendo come esempio uno *Staphylococcus aureus* sensibile in vitro alle cefalosporine, ci sono evidenze cliniche che dimostrano come infezioni profonde ad alta carica batterica possano non rispondere efficacemente a questi antibiotici (18).

L’insorgenza di antibiotico-resistenza propria dei batteri è la fisiologica conseguenza dell’adattamento a condizioni sfavorevoli date da un environment

¹ La minima concentrazione inibente si riferisce alla concentrazione più bassa di un agente specifico necessaria per inibire la crescita visibile di un organismo in vitro

ostile come quello antibatterico: ciò ha portato, nel corso dei millenni, a modificazioni di carattere genetico ed epigenetico.

In termini biologici ed evolutivisti, distinguiamo la resistenza batterica in:

- **Intrinseca**, ossia esistente a priori, geneticamente determinata; essa rende alcuni batteri naturalmente resistenti agli antibiotici: ne sono un esempio i bacilli gram-negativi, resistenti alla vancomicina o i cocci Gram-positivi all'aztreonam. I meccanismi di resistenza includono la mancata penetrazione del farmaco nel microorganismo, l'assenza dello specifico ligando e la presenza di pompe di efflusso(19);
- **Adattativa**, transitoria, indotta da determinanti ambientali, fisici o chimici, come pH o concentrazione di ioni(20): è probabilmente il risultato di modificazioni epigenetiche che si riflettono sul fenotipo cellulare e si creda siano responsabili delle differenti risposte del singolo batterio agli antibiotici in vitro e in vivo, causa di frequenti fallimenti terapeutici(21,22);
- **Acquisita**, ossia determinata dalla pressione selettiva degli antibiotici: essa è il risultato di mutazioni genetiche o di comunicazioni intercellulari² con altri batteri intrinsecamente resistenti, di cui si parlerà nel capitolo successivo. L'accumulo di diversi tipi di mutazioni può causare varie combinazioni di resistenze in ciascun batterio, che di conseguenza può essere classificato come(23):
 - *MDR (Multidrug-resistant)*, non suscettibile ad almeno un agente in tre categorie antimicrobiche;
 - *XDR (Extensively drug-resistant)*, non suscettibile ad almeno un agente in tutte le categorie antimicrobiche tranne due o meno;

² Trasferimento genico orizzontale, HGT(158).

- *PDR (Pandrug-resistant)*, non suscettibile a nessuno degli agenti in tutte le categorie antimicrobiche.

È facilmente intuibile come all'aumentare del numero di mutazioni di un batterio, aumenti la difficoltà nel trattare l'infezione che ne consegue: ciò ha portato a intensificare gli studi sul genoma e proteoma batterici, al fine di trovare farmaci in grado di aggirarne i meccanismi di resistenza.

1.2.1. FOCUS SULLA GENETICA DELLA RESISTENZA ACQUISITA

Come già accennato nel precedente paragrafo, la resistenza acquisita rappresenta il *primum movens* dell'emergere di batteri multiresistenti.

Questo meccanismo si basa su concetti di genetica ormai ampiamente studiati e compresi, che fanno capo a due principali responsabili:

- *Mutazioni*, spesso coinvolgenti geni associati al meccanismo d'azione del farmaco.
- Acquisizione di materiale attraverso il *trasferimento genico orizzontale* (HGT).

Alla base del fenomeno della mutazione genetica, vi è l'assunto che da una popolazione batterica inizialmente sensibile a un determinato antibiotico, si sviluppano, nelle generazioni successive, sottopopolazioni con resistenza al farmaco stesso grazie a mutazioni che ne influenzano l'attività: a ciò consegue che i batteri resistenti sopravvivono, mentre la popolazione sensibile viene eliminata.

È interessante notare come queste mutazioni non siano però scevre da complicità per la *fitness*³ batterica: il “costo” biologico è un parametro chiave per determinare la stabilità e la potenziale reversibilità della resistenza (24).

Ci si è infatti chiesti se, dopo cessazione di stimolo farmacologico, la popolazione batterica eliminasse le mutazioni accumulate potendo esse rappresentare un dispendio inutile di energia; è stato pertanto raccomandato nella clinica l’uso degli antibiotici con ciclicità come metodo per controllarne la resistenza. Studi successivi hanno però dimostrato come la complessità dello scenario mutazionale porti spesso al fallimento di tale strategia: alcune mutazioni hanno costi di fitness minimi o nulli, o addirittura possono aumentare la fitness stessa; inoltre possono svilupparsi mutazioni compensatorie che mantengono la resistenza ripristinando la fitness originaria (25,26).

Il trasferimento genico orizzontale è invece il risultato di complesse dinamiche ambientali, tra cui l’influenza umana in termini di “inquinamento”.

antibiotico e la presenza di sostanze naturali nell’ambiente, da cui gli antibiotici stessi traggono origine. La loro azione su batteri intrinsecamente resistenti non patogeni per l’uomo, ha fatto sì che essi abbiano accumulato nel corso dei secoli delle mutazioni, trasferite in un secondo momento ai batteri che oggi rappresentano una minaccia per la salute pubblica: a questo corredo genico di resistenza è stato dato il nome di *resistoma* (27).

I meccanismi usati per veicolare materiale genico nei batteri sono(28,29):

- trasformazione, ossia assunzione di DNA libero in seguito alla lisi di un altro batterio;

³ Con fitness si intende, in genetica, la capacità di un organismo di adattarsi all’ambiente circostante.

- transduzione, cioè il trasferimento di materiale genico attraverso un batteriofago temperato (in grado di lisogenizzare le cellule infette)
- coniugazione, considerato il metodo più efficace, in cui avviene il passaggio di DNA batterico, sotto forma di plasmide⁴, da una cellula a un'altra attraverso un contatto fisico.

I plasmidi sono i più importanti *elementi genetici mobili* (MGE): essi giocano un ruolo fondamentale nella diffusione e sviluppo di antibiotico-resistenza, perché hanno la capacità di essere trasferiti sia verticalmente, sia orizzontalmente intraspecie ed extraspecie (emblematico l'esempio della trasmissione della β -lattamasi CTM-X proveniente da un batterio ambientale all'*Escherichia coli*)(30–32).

Affinché si realizzi questo trasferimento di materiale genico, è fondamentale l'apporto di altri 3 elementi genici mobili: i trasposoni, che sono in grado di spostarsi liberamente nel genoma e integrarsi in una moltitudine di plasmidi; gli integroni, che forniscono un meccanismo efficiente per l'inserimento di nuovi geni nel DNA batterico; le sequenze di inserzione, simili come funzione ai trasposoni, ma diversi nella struttura.

La cooperazione di questi elementi può permettere un trasferimento di resistenza multifarmaco in un solo evento di coniugazione(33,34).

1.2.2. BASI MOLECOLARI DELLA RESISTENZA

Le basi molecolari della resistenza sono state ampiamente studiate (Tabella I): qui ci limiteremo a descrivere brevemente i meccanismi per i principali antibiotici

⁴ DNA extracromosomico circolare.

utilizzati per trattare le infezioni dai batteri presi in considerazione in questo studio.

In linea di massima, la resistenza si esplica attraverso:

- modifica enzimatica o distruzione dell'antibiotico;
- alterazione del bersaglio,, come la sostituzione o la mutazione del sito;
- aumento dell'efflusso attivo attraverso la membrana;
- diminuita permeabilità della membrana cellulare;
- alterazione dei percorsi metabolici della cellula;

Antibiotic resistance mechanism	Classical examples	Antibiotics affected	Examples of bacteria utilizing this mechanism
Target site alteration (mutation or enzymatic alteration)	Mutations of the 23S rRNA	Linezolid Macrolides Lincosamides Streptogramin B	Enterococci <i>Staphylococcus aureus</i> A wide range of bacteria
	Mutations in the bacterial Gyrase or Topoisomerase IV	Quinolones	A wide range of bacteria
	Mutations in the RNA Polymerase β subunit	Rifampicin	A wide range of bacteria
	Mutational or recombinational changes in the Dihydrofolate Reductase gene	Trimethoprim	A wide range of bacteria
	Mutational or recombinational changes in the dihydropteroate synthase gene	Sulfonamides	A wide range of bacteria
	Methylation of the 23S rRNA by <i>erm</i> genes	Macrolides Lincosamides Streptogramin B	A wide range of bacteria
	Methylation of the 23S rRNA by the <i>cfr</i> gene	Linezolid Chloramphenicol Clindamycin	<i>Staphylococcus aureus</i> Staphylococci
	Target site protection	Ribosomal Protection Proteins (RPPs) Qnr proteins	Tetracyclines Quinolones
Target overproduction	Overproduction of Dihydrofolate Reductase	Trimethoprim	<i>Escherichia Coli</i>
Decreased permeability of the bacterial outer membrane	Mutations affecting the expression or function of porins	Hydrophilic antibiotics (e.g., β lactams, quinolones, tetracyclines, chloramphenicol)	Gram-negative bacteria
Antibiotic efflux	Multidrug efflux pumps	A wide range of antibiotics	A wide range of bacteria
	Substrate-specific efflux pumps	Tetracyclines Macrolides Chloramphenicol	A wide range of bacteria Streptococci and other gram-positive organisms A wide range of bacteria
Global cell adaptations	Mutations in genes encoding regulatory systems controlling cell envelope homeostasis and genes involved in phospholipid metabolism	Daptomycin	Enterococci
	Mutations in genes involved in key cell membrane events and modifications of the cell wall	Daptomycin	<i>Staphylococcus aureus</i>
	Mutations in genes forming part of regulatory systems controlling cell envelope homeostasis resulting in cell wall thickening	Intermediate susceptibility to glycopeptides	<i>Staphylococcus aureus</i>

Antibiotic destruction	β lactamases	Penicillins, narrow spectrum cephalosporins	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Neisseria Gonorrhoeae</i> <i>Haemophilus Influenzae</i> Enterobacteriaceae Enterobacteriaceae <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Enterobacteriaceae <i>Acinetobacter</i> spp. <i>Pseudomonas</i> spp. Enterobacteriaceae <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Acinetobacter</i> spp.
	Penicillinases		
	Extended-Spectrum β lactamases	Penicillins, first-, second-, third-generation cephalosporins, and aztreonam	
	AmpC enzymes	Penicillins, first-, second-, third-generation cephalosporins, aztreonam, and cephamycins	
	Carbapenemases	Carbapenems and almost all hydrolyzable β -lactams	
Antibiotic modification	Aminoglycoside Modifying Enzymes (AMEs)	Aminoglycosides	A wide range of bacteria
	Chloramphenicol acetyltransferases (CATs)	Chloramphenicol	A wide range of bacteria
Modifications of antibiotic-activating enzymes	Mutations in the nitroreductase genes <i>nfsA</i> and <i>nfsB</i>	Nitrofurantoin	Enterobacteriaceae
Target replacement or bypass	Penicillin-Binding Protein (PBP) replacement	β lactams	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
	Acquisition of a novel Penicillin-Binding Protein (PBP)	β lactams	<i>Staphylococcus aureus</i>
	Replacement of the terminal D-Alanine D-Alanine moiety of the peptidoglycan precursors	Glycopeptides	Enterococci <i>Staphylococcus aureus</i> (rarely)
	Acquisition of a novel dihydrofolate reductase	Trimethoprim	Gram-negative bacteria Staphylococci <i>Listeria monocytogenes</i>
	Acquisition of a novel dihydropteroate synthase	Sulfonamides	Gram-negative bacteria
	Utilization of exogenous folic acid	Trimethoprim Sulfonamides	Enterococci

Tabella I. principali meccanismi di resistenza con corrispondenti antibiotici e batteri coinvolti(35).

Resistenza ai β -lattamici

Alla categoria dei β -lattamici appartengono diverse classi di antibiotici che hanno in comune il nucleo centrale (*l'anello beta-lattamico*): penicilline, cefalosporine, carbapenemi e monobattami.

Essi agiscono inibendo gli enzimi situati nella membrana cellulare batterica coinvolti nella sintesi della parete cellulare.

I meccanismi di resistenza ai beta lattamici comprendono(36,37):

- diminuzione di penetrazione dell'antibiotico nel sito bersaglio, importante nella resistenza a molti beta-lattamici da parte di *Pseudomonas aeruginosa* e di altri batteri gram negativi;
- alterazione del sito bersaglio, rappresentato dalle PBP nella membrana citoplasmatica: questo sistema rende resistenti, per esempio, alcuni pneumococchi alla penicillina (38) o gli stafilococchi MRSA alla meticillina (39);

- inattivazione da parte di β -lattamasi, enzimi che idrolizzano l'anello β -lattamico rendendo inefficaci questi antibiotici. Questi enzimi possono essere codificati all'interno del cromosoma batterico (ed essere dunque trasmissibili verticalmente) oppure nei plasmidi o nei trasposoni (40); essi si trovano soprattutto nei Gram-negativi, ma la loro presenza è stimata in crescita nello stafilococco in seguito all'introduzione della penicillina, tanto da essere riscontrati nella maggior parte degli isolati clinici (41).

Di notevole importanza clinica, sono due particolari β -lattamasi:

- a. a spettro esteso (ESBL, Extended-spectrum beta-lactamases),

rinvenute esclusivamente in batteri gram-negativi, tra cui *Klebsiella pneumoniae*, *klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter* ed *enterobacter*; l'infezione da *E. Coli* produttore di ESBL ha ormai larga diffusione negli ospedali di tutto il mondo (42). Sono codificate a livello plasmidico.
- b. AmpC, inducibili, presenti soprattutto a livello cromosomico; sono solitamente repressi ma trascritti a tassi elevati in presenza di β -lattamici (43).

Si possono ritrovare in molte *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter spp.* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Per ovviare al problema della resistenza, sono stati introdotti in clinica gli inibitori delle β -lattamasi, ossia acido clavulanico, sulbactam e tazobactam. Per trattare invece le infezioni da batteri produttori di ESBL, è necessario utilizzare i carbapenemi, tra i pochi β -lattamici efficaci, anche se spesso essi sono sensibili anche agli inibitori delle β -lattamasi.

Recentemente, però, si sono sviluppate resistenze anche ai carbapenemi:

alcuni batteri gram-negativi, e in particolar modo ceppi di *klebsiella pneumoniae*, producono carbapenemasi, β -lattamasi che agiscono su i carbapenemi e sugli altri β -lattamici, potendo quindi causare gravi infezioni di difficile trattamento (44).

Resistenza alla vancomicina

La vancomicina è un antibiotico appartenente alla classe dei glicopeptidi che agisce inibendo la polimerizzazione della parete di peptidoglicano nei gram-positivi; il maggior spessore di parete dei gram-negativi, rende questi batteri intrinsecamente resistenti all'antibiotico. La resistenza al farmaco deriva dalla sostituzione dell'aminoacido D-Ala terminale con un residuo di D-lattato in un precursore del peptidoglicano, rendendolo non riconoscibile al farmaco.

Il fenomeno riguarda principalmente *l'Enterococcus faecium*, *l'Enterococcus faecalis* e lo *staphylococcus aureus* resistente alla meticillina (MRSA).

Negli enterococchi la resistenza è mediata dai geni VanB e VanA, con quest'ultimo che può essere trasferito orizzontalmente ad altri enterococchi o a gram-positivi: è dunque di fondamentale importanza la sorveglianza degli enterococchi vancomicina-resistenti (VRE) per prevenire la diffusione della resistenza (45).

Un problema di salute pubblica è rappresentato anche dallo stafilococco resistente alla vancomicina (VRSA), in cui i geni di resistenza derivano dagli enterococchi VRE; ad oggi tutti i ceppi di VRSA derivano da stafilococchi meticillino-resistenti (46,47).

Resistenza ai chinolonici

I chinolonici sono antibiotici che agiscono inibendo la topoisomerasi II e IV batteriche, interferendo con la replicazione batterica. Sono conosciuti diversi meccanismi di resistenza, tra cui mutazioni cromosomiche che inducono una

diminuzione di affinità per i bersagli del farmaco (GyrA/GyrB per la topoisomerasi II e ParC/ParE per la topoisomerasi IV) e induzione di trascrizione di pompe di efflusso (AcrAB e MexAB); oltre questi classici meccanismi, è stato recentemente scoperta l'esistenza di proteine resistenti ai fluorochinoloni (Qnr), codificate nei plasmidi, in batteri come *Enterobacter* spp., *Klebsiella* e *Pseudomonas* (48,49).

Resistenza agli aminoglicosidi

Gli aminoglicosidi agiscono legandosi a proteine specifiche della subunità 30s, inibendo la sintesi proteica. I meccanismi di resistenza sono: modifica enzimatica del farmaco, osservata nei batteri gram-positivi e negativi; presenza di pompe di efflusso; diminuzione della permeabilità; modifiche della subunità ribosomiale 30S. Per quest'ultima modalità, sono coinvolte sia le mutazioni (sostituzione nucleotidica) che modificazioni post-trascrizionali: le prime metil-transferasi sono state segnalate in *K. Pneumoniae* e in *P. aeruginosa*, anche se oggi non se ne conosce bene il significato clinico, sia per bassa prevalenza della mutazione, sia perché gli aminoglicosidi non sono considerati agenti di prima linea nel trattamento delle infezioni da gram-negativi (50).

1.3. PANORAMICA SU COSTI E CONSEGUENZE CLINICHE

Il fenomeno della resistenza antimicrobica ha delle evidenti conseguenze, che rispecchiano la continua crescita di prevalenza dei microorganismi e il parallelo aumento dei costi per porre un freno al fenomeno; le ripercussioni, anche se non immediatamente intuibili, riguardano, oltre alla sanità, anche settori produttivi e di sviluppo.

In ambito sanitario, ciò implica malattie più lunghe, maggiori tempi di ospedalizzazione, aumento della mortalità, investimenti in ricerca e in misure di prevenzione, con conseguente importante aumento della spesa sanitaria.

In America gli ospedali spendono, in media, da 10.000 a 40.000 dollari in più per curare un paziente infetto da un microorganismo multiresistente: nel computo vanno considerati i giorni di degenza in terapia intensiva, i servizi di “contorno” (lavanderia, ristorazione..., che contribuiscono a un 13% in più di costi) e gli esami di laboratorio e diagnostica per immagini, che corrispondono al 12% della spesa (51).

Altro aspetto da considerare, è l’impatto del fenomeno sull’attività ospedaliera quotidiana. La chiusura di reparti interi per contenere un’infezione multiresistente è una misura di controllo ad alto impatto economico; potrebbero anche essere sospese attività chirurgiche elettive in presenza di focolai, con tutte le conseguenze del caso (52).

Il discorso può essere esteso inoltre alla possibile minaccia della resistenza su sicurezza ed efficacia di interventi chirurgici e chemioterapie: è stato rilevato che fino al 50,9% delle infezioni nei siti chirurgici e il 26,8% dei batteri riscontrati in pazienti sottoposti a chemioterapia abbiano un’estesa multiresistenza agli antibiotici profilattici utilizzati di routine negli USA (53).

Indirettamente, vengono coinvolti anche i pazienti senza infezione da batteri multiresistenti; l'impatto negativo riguarda principalmente le terapie antibiotiche empiriche, le classi di antibiotici impiegabili e l'uso di farmaci meno efficaci (54).

Spesso, l'alta prevalenza di questi batteri, impone l'utilizzo di terapie a più largo spettro, quando potrebbero essere impiegate terapie più mirate: ciò ha condotto a modifiche delle linee guida, con utilizzo di farmaci più costosi, più potenti, ma con più effetti collaterali e contro cui potrebbero svilupparsi ulteriori resistenze (55). In tal senso, emblematico è l'utilizzo, secondo linee guida, di un β -lattamico come un carbapenemico o piperacillina-tazobactam per sepsi neutropenica da *Pseudomonas* spp. (56), rappresentando un uso eccessivo se comparato ai risultati dei test di sensibilità agli antibiotici. Negli Stati Uniti, il trattamento della meningite da pneumococco resistente a penicillina e cefalosporina, ha portato all'utilizzo della vancomicina, senza che però, in alcuni casi, ci fosse un reale beneficio clinico (57).

L'antibiotico-resistenza ha anche portato al reinserimento in terapia di antibiotici vecchi e di elevata tossicità, tra cui le polimixine (presentano nefrotossicità), utilizzate in terapie intensive come ultima spiaggia in caso di batteri gram-negativi MDR: alcuni studi hanno infatti rilevato come circa il 50% di queste infezioni sia sensibile alla sola polimixina (58,59).

1.4. PROBLEMI ECONOMICI E SOCIALI

Le conseguenze economiche e sociali sono sempre più al centro dell'opinione pubblica, e sempre più studi cercano di prevedere l'impatto a lungo termine di tale fenomeno. L'impatto dell'antibiotico-resistenza viene paragonata ad altre minacce socio-ambientali del nostro tempo: secondo il *Global risks 2014 del world economic forum*, che ha stilato una classifica dei più importanti rischi globali di natura sociale, politica ed economica, l'impatto dell'AMR è comparabile al riscaldamento globale e alla crisi alimentare (60); 4 anni dopo, la stessa agenzia ha

riscontrato un peggioramento del trend del fenomeno, soprattutto a livello di indicatori economici in una proiezione fino al 2050 (si sono stimati fino a 300 trilioni di dollari di costi globali e PIL in negativo fino a -3.8 punti percentuale), registrando una stazionarietà delle proiezioni epidemiologiche e sanitarie(61,62).

Le stime per l'Europa parlano di costi sanitari in continua ascesa, con una spesa annua di circa 900 milioni e 600 milioni di perdita in produttività (63), con la crisi del 2008 che ha notevolmente peggiorato la situazione, con tagli alla sanità e minori investimenti in ricerca di nuovi composti farmaceutici.

Negli Stati Uniti la spesa per l'antibiotico-resistenza negli ospedali ammonta a più di 20 miliardi di dollari, con un impatto clinico maggiore di quello dell'AIDS (64).

Gli economisti avvertono, però, che questi dati di spesa sanitaria andrebbero rivisti al rialzo, a causa dell'ancora immaturo sistema di sorveglianza sanitaria che tende a sottostimare i dati di mortalità e morbilità (65); a ciò vanno aggiunte le spese accessorie riguardanti la diminuzione di produzione economica a causa di incremento della mortalità, minor efficienza lavorativa e lunghi periodi di malattia.

Nei paesi più poveri, il problema è ancora più evidente, a causa di scarsi investimenti in questione di sanità pubblica, per gli effetti sulle attività agricole e di allevamento e per le difficoltà nell'arginare l'esplosione del fenomeno con una prevenzione e sorveglianza adeguate; gli alti tassi di ospedalizzazione e la prevalenza elevata di batteri multiresistenti, rende il quadro ancora più drammatico (66).

1.5. EPIDEMIOLOGIA GLOBALE DELL'AMR

Al fine di inquadrare al meglio la reale portata del fenomeno, è indispensabile analizzare le variabili epidemiologiche dei batteri che maggiormente contribuiscono alla gravità dell'antibiotico resistenza, di cui tratteremo in questo studio; essi appartengono al cosiddetto complesso ESKAPE, un acronimo che sta

per *Enterococcus* spp, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Acinetobacter Baumannii*, *Pseudomas aeruginosa*, *Enterobacter* spp; essi sono considerati i “superbugs” ossia superbatteri, capaci, secondo la WHO, di provocare entro il 2050 più danni di malattie cardiovascolari e tumori, con più di 10 milioni di morti all’anno. Alla lista va aggiunto anche l’*Escherichia coli*, il più comune gram-negativo, dimostratosi in grado, nell’ultimo decennio, di sviluppare una multiresistenza allarmante, soprattutto ai carbapenemi e alla colistina (67).

I dati di prevalenza e incidenza derivano da report di sorveglianza a livello nazionale, raccolti e aggregati a livello centrale dall’OMS, che nel 2015 ha istituito il sistema globale di sorveglianza antimicrobica (GLASS) al fine di studiare l’epidemiologia del fenomeno e stilare dei piani d’azione per contrastarlo: l’ultimo report GLASS del 2019 ha analizzato oltre 300000 infezioni in 70 paesi.

Sono stati analizzati dati provenienti da emocolture, urine, feci e campioni provenienti da cervice e uretra; si trattava principalmente di UTI, infezioni del tratto urinario (83%), seguite da setticemia (16%): nelle UTI contratte in comunità, il 35% circa degli *E. coli* isolati e il 30% circa di *K. pneumoniae* (tra i patogeni più comuni in queste infezioni), sono risultate resistenti alla ciprofloxacina, e simili risultati sono stati riportati per i fluorochinoloni; la resistenza raggiunge invece il 50% degli isolati per cefalosporine di terza generazione e cotrimossazolo, quest’ultimo considerato farmaco di prima linea.

Nelle emocolture positive, sono stati riscontrati con più frequenza *E. coli* resistente alle cefalosporine di terza generazione e MRSA (rispettivamente 36.6% e 24,9%); resistenze alle cefalosporine di terza generazione sono state riscontrate nelle setticemie da *K. Pneumoiae*, in una percentuale prossima al 50% dei casi; di notevole rilievo clinico è stato il rilevamento di resistenza ai carbapenemi nel 65% circa degli *Acinetobacter* riscontrati nel circolo sanguigno.

La maggior prevalenza di setticemie da batteri MDR è stata evidenziata in paesi a reddito più basso rispetto a quelli a più alto (68).

Con un simile approccio, una delle più importanti metanalisi a riguardo “Antibiotic resistance in hospital-acquired ESKAPE-E infections in low- and lower-middle-income countries: a systematic review and meta-analysis”, si è occupata di confrontare i dati delle infezioni MDR raccolti negli ospedali di paesi ad alto e paesi a basso reddito (69): dai risultati, si evince come la percentuale di batteri multiresistenti sul totale dei campioni relativi al batterio in questione, sia elevata nei paesi a reddito più basso, suddivisi in pesi africani, del sud-est asiatico, del mediterraneo orientale e del pacifico occidentale, secondo i modelli WHO (68) (Tabella II).

patogeno	OMS Africa	OMS Mediterraneo Orientale	OMS Sud-est asiatico	OMS Pacifico occidentale
<i>S. aureo</i>				
Resistenza alla meticillina in <i>S. aureus</i> (MRSA)	49,6 (37,4–61,7, n = 22)	56,6 (43,2–69,5, n = 21)	41,0 (29,9–52,5, n = 33)	63,2 (42,8–81,6, n = 4)
Resistenza alla vancomicina in <i>S. aureus</i>	0,6% (0–3,7, n = 6)	3,9% (0–14,8, n = 10)	0,0% (0–0,7, n = 23)	–
Resistenza alla vancomicina nell'MRSA	0,6% (0–5,6, n = 3)	3,1% (0–10,5, n = 7)	1,5% (0–16,4, n = 13)	–
<i>Proporzioni di resistenza ai carbapenemi nei patogeni Gram-negativi</i>				
<i>K. pneumoniae</i>	28,4 (0–87,0, n = 4)	54,1 (32,5–74,9, n = 13)	29,6 (18,4–42,0, n = 27)	26,3 (1,7–63,8, n = 6)
<i>A. baumannii</i> (complesso)	1·6 (0–10,8, n = 3)	77,0 (53,8–94,2, n = 12)	76,8 (63,1–88,3, n = 13)	82,8 (71,5–91,8, n = 8)
<i>P. aeruginosa</i>	13·7 (0–57,3, n = 5)	32·7 (19,6–47,1, n = 17)	38·4 (28,3–49,0, n = 27)	60·6 (43,9–76,2, n = 7)
<i>E.coli</i>	7·1 (0–19,4, n = 11)	16·5 (6,4–29,5, n = 14)	20·7 (12,3–30,4, n = 33)	12·1 (0–71,7, n = 2)
<i>Enterobacter</i> spp.	5·3 (0–21,2, n = 1)	65·3 (21,0–98,0, n = 2)	57·8 (16,6–93,4, n = 3)	54·6 (24,2–83,3, n = 1)
<i>Proporzioni di resistenza alle cefalosporine di terza generazione nei patogeni Gram-negativi</i>				
<i>K. pneumoniae</i>	61·8 (45,9–76,5, n = 9)	93·5 (85,6–98,7, n = 8)	79·7 (70,3–87,8, n = 26)	70·2 (33,8–96,3, n = 3)
<i>E.coli</i>	58·3 (45,5–70,6, n = 16)	90·9 (72,9–100, n = 8)	83·0 (76,5–88,8, n = 32)	91·4 (62,2–100, n = 2)
<i>Enterobacter</i> spp.	80·1 (65,7–91,6, n = 2)	93·8 (75,1–100, n = 1)	84·1 (66,4–96,2, n = 4)	72·7 (42,1–95,6, n = 1)

Tabella II. Proporzioni di resistenza aggregate (% con intervallo di confidenza al 95% e numero di studi) nelle infezioni ospedaliere nei paesi a reddito medio-basso, divisi per aree WHO (69).

Confrontando i dati aggregati delle regioni a basso-medio reddito con i paesi ad alto reddito (Stati Uniti, paesi sudamericani, paesi europei, Germania, Giappone e Cina) (Tabella III), si nota come, nei primi, le infezioni da batteri multiresistenti siano, in proporzione, notevolmente più frequenti; la più alta percentuale di

resistenza agli antibiotici tra le infezioni da Gram-negativi nella meta-analisi in esame, riguardava le cefalosporine di terza generazione , con una proporzione cumulativa maggiore del 75% in *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* ed *Enterobacter spp*, notevolmente superiore ai risultati riguardanti i paesi ad alto reddito: una spiegazione a ciò può essere trovata nel rapido diffondersi di ESBL e nell’abuso di cefalosporine nei paesi a basso e medio reddito (68–71).

patogeno	Paesi L-LMIC (stime aggregate)	Stati Uniti ^b [41]	ReLAVRA ^c [50]	UE/SEE ^d [39]	Germania ^e	Giappone ^f [42]	Cina ^g [43, 51]
<i>S. aureo</i>							
MRSA	48,2%	40,6%	47,7%	15,5%	9,9%	46,1%	31,4%
VRSA	0,6%	–	–	–	0,0%	0,0%	0,0%
VR-MRSA	1,7%	0,1%	–	–	–	0,0%	–
<i>Resistenza ai carbapenemi nei patogeni Gram-negativi</i>							
<i>K. pneumoniae</i>	34,8%	4,7%	16,5%	7,9%	0,6%	0,5%	20,9%
<i>P. aeruginosa</i>	37,1%	13,3%	–	16,5%	12,9%	20,0%	23,6%
<i>E.coli</i>	16,6%	0,6%	–	0,3%	0,0%	0,2%	1,9%
<i>Enterobacter spp.</i>	51,2%	4,6%	–	–	0,5%	4,7%	–
<i>A. Baumannii</i>	72,4%	33,9%	–	32,6%	4,7%	1,8%	70,7%
<i>Resistenza alle cefalosporine di terza generazione nei patogeni Gram-negativi</i>							
<i>K. pneumoniae</i>	78,7%	22,9%	62,2%	31,3%	13,1%	11,4%	47,3%
<i>E.coli</i>	78,6%	22,0%	–	15,1%	11,8%	28,9%	59,3%
<i>Enterobacter spp.</i>	83,5%	9,5%	–	–	25,6%	37,2%	–

Tabella III. Confronto delle proporzioni di resistenza tra paesi a basso reddito e paesi a reddito medio-alto e ad alto reddito^a (69,72–76).

L-LMIC, Paesi a reddito basso e medio-basso.

^a Tutti i dati si riferiscono alle infezioni nosocomiali se non diversamente indicato.

^b Dati di sorveglianza nazionale (2019), specie di *Acinetobacter* e *Klebsiella* non specificate.

^c Sorveglianza regionale, con dati di sorveglianza di 19 paesi sudamericani (2016), i dati di *K. pneumoniae* includevano isolati sia nosocomiali che non.

^d Dati di sorveglianza regionale (2019) da *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network* (EARS-Net), infezioni invasive nosocomiali e non nosocomiali (CSF + sangue), specie di *Acinetobacter* non specificata.

^e Dati di sorveglianza nazionale (2019) dell'*Antibiotika-Resistenz-Surveillance* (ARS).

^f Dati di sorveglianza nazionale (2019), specie di *Acinetobacter* non specificata.

^g Dati di sorveglianza nazionale per il 2017 eccetto MRSA che includeva solo dati 2019, infezioni nosocomiali e non, specie di *Acinetobacter* non specificata.

1.5.1 EPIDEMIOLOGIA DELL'AMR IN ITALIA

In Italia, il compito di coordinare la sorveglianza sanitaria dei batteri multiresistenti è affidato all'Istituto Superiore di Sanità, al quale giungono dati da laboratori ospedalieri di microbiologia sparsi su tutto il territorio nazionale. I campioni raccolti riguardano sia infezioni extraospedaliere (p.es. da *S. pneumoniae*), sia nosocomiali (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococchi*, *Enterobacter spp*, *Acinetobacter baumannii group*, *Escherichia coli*), a cui sono stati aggiunti, dal 2013, segnalazioni "speciali" riguardanti le batteriemie provocate da *K. pneumoniae* produttore di carbapenemesi (CPKP) e da *E. coli* produttore di carbapenemasi e/o resistente ai carbapenemi.

I dati del 2020, i più recenti a disposizione, hanno mostrato come le percentuali di resistenza degli 8 batteri sotto sorveglianza si mantengono elevate, anche se in qualche caso in diminuzione rispetto agli anni precedenti (77). Per lo *staphylococcus aureus* resistente alla meticillina, la percentuale di resistenza è

rimasta sostanzialmente invariata dal 2015 al 2020, intorno al 34%, mentre il trend è in ascesa per il VRE-*faecium*, che ha raggiunto il 23,6% nel 2020.

Riguardo l'*E. coli*, invece, la proporzione di resistenza è passata dal 30,8% del 2019 al 26,4% del 2020 per le cefalosporine di terza generazione, dal 18,4% del 2015 al 15,2% del 2020 per gli aminoglicosidi e da 44,4% del 2015 a 37,6% del 2020 per i fluorochinoloni.

Nel 2019 e nel 2020 si è osservato un aumento delle percentuali di resistenza della *K. Pneumoniae* ai carbapenemi (rispettivamente 28,5% e 29,5%) rispetto agli anni precedenti.

Rimane sostanzialmente bassa la resistenza ai carbapenemi in *E. coli* (0,5%), ma è in aumento nello *P. aeruginosa* e in *Acinetobacter* spp. (rispettivamente 15,9% e 80,8%).

Nel 2020, il 33,1% degli isolati di *K.pneumoniae* e il 10% di *E. coli* sono risultati multiresistenti (resistenti a cefalosporine di terza generazione, aminoglicosidi e fluorochinoloni), ma con valori in diminuzione rispetto agli anni precedenti; per *P. aeruginosa* la percentuale di resistenza a tre o più antibiotici (tra piperacillina-tazobactam, ceftazidime, carbapenemi, fluorochinoloni e aminoglicosidi) si attesta al 12,5%, anch'essa in diminuzione rispetto agli anni precedenti, mentre è in aumento e particolarmente alta per fluorochinoloni, aminoglicosidi e carbapenemi in *Acinetobacter* spp. (78,8%).

Per *Streptococcus pneumoniae* c'è stato un lieve aumento sia della percentuale di isolati resistenti alla penicillina (13,6%) che di quelli resistenti all'eritromicina (24,5%).

La Figura 4 riporta invece la distribuzione del numero di isolati per patogeno (in totale 57.412). Il 99% proviene da sangue e l'1% da liquor. Nella maggiore parte dei casi è stato isolato *E. coli* (33,3%), seguito da *S. aureus*(19,5%), *K. pneumoniae*

(15,0%), *E. faecalis*(11,1%), *P. aeruginosa* (8,2%), *E. faecium* (7,4%), *Acinetobacter* spp. (4,5%) e *S. pneumoniae* (1,2%).

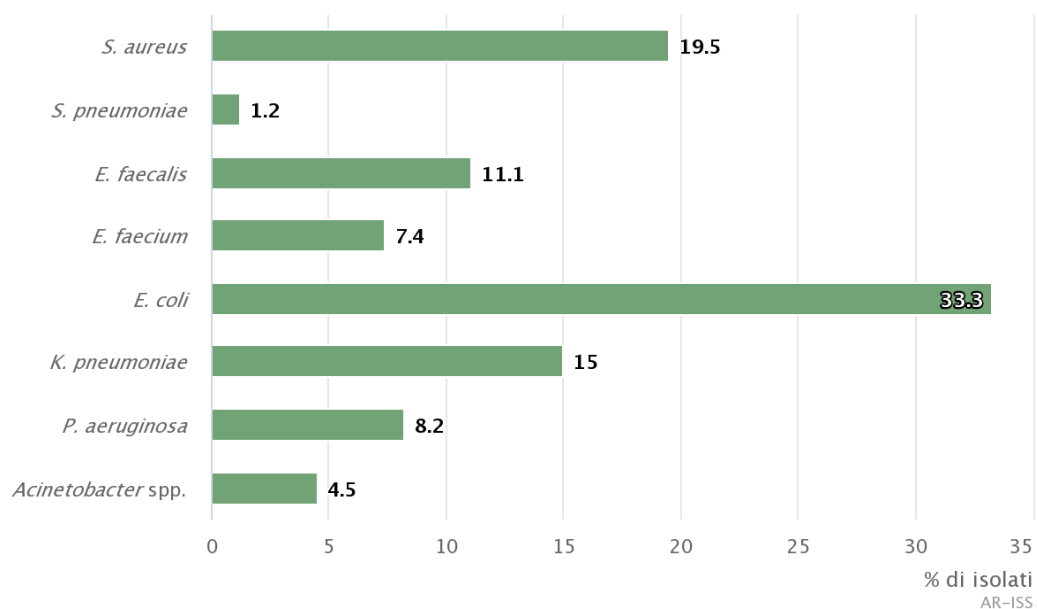


Figura 4. Percentuale di isolati per patogeno, Italia 2020.

La maggior parte dei pazienti con infezione invasiva è risultata di sesso maschile (58,5%) e con più di 65 anni di età (68,0%) (Tabella IV). Dal punto di vista dell'area di ricovero, i reparti maggiormente coinvolti sono Specialità medica (42,3%), seguita da Emergenza (22,5%) e dalla Terapia intensiva (17,7%).

Caratteristica	n	%
Sesso	57.390	
Femmina	23.840	41,5
Maschio	33.550	58,5
Classe di età (anni)	56.657	
0-17	1.814	3,2
18-64	16.325	28,8
≥65	38.518	68,0
Area di ricovero ospedaliero	53.954	
Specialità medicina	22.845	42,3
Specialità chirurgica	4.732	8,8
Terapia intensiva	9.558	17,7
Emergenza	12.161	22,5
Pediatria/neonatologia	275	0,5
Ginecologia/ostetricia	337	0,6
Altro	4.046	7,5

** Le percentuali sono state calcolate escludendo la categoria "non riportato"*

Tabella IV. Caratteristiche dei pazienti (totale 57.412), Italia 2020.

1.6. CLINICA DELLE INFEZIONI DA BATTERI MULTIRESISTENTI

I batteri multiresistenti sono in grado di provocare un lungo corteo di manifestazioni cliniche, con esiti differenti e imprevedibili. La gravità della infezione che ne può conseguire dipende da vari fattori, tra cui età, comorbidità, diagnosi rapida, tempestività nella somministrazione di terapia farmacologica adeguata (in cui un ruolo importante è dato ovviamente dalle resistenze), senza dimenticare l'arsenale biologico proprio di ogni batterio, che ne definisce la virulenza, e alla cui base vi sono meccanismi genetici e molecolari molto complessi, su cui non ci soffermeremo.

Altro aspetto importante da considerare è la possibile differenza tra infezioni contratte in comunità e contratte in ospedale, la cui caratterizzazione è tra gli endpoint di questo studio.

Verranno prese adesso in rassegna le principali patologie e quadri sindromici causati dai batteri multiresistenti di nostro interesse.

Staphylococcus aureus

Lo stafilococco aureo è in grado di causare un gran numero di infezioni in sedi corporee e con gravità diverse, tra cui infezioni della pelle e dei tessuti molli (SSTI), infezioni osteoarticolari, polmoniti, meningiti, sindrome da shock tossico e batteriemie, che possono sfociare in endocardite o sepsi (78).

Concentrandosi sul MRSA, però, manifestazioni cliniche e fattori di rischio per l'infezione variano tra i ceppi contratti in comunità (CA-MRSA), in ospedale (HA-MRSA) o in un contesto di allevamento di bestiame (LA-MRSA) (79):

- Il CA-MRSA provoca soprattutto la SSTI, spesso associata ad ascessi, nel 90% dei casi (80); sono però possibili infezioni particolarmente gravi come la polmonite necrotizzante o la fascite necrotizzante (81,82).

Spesso focolai di CA-MRSA si scoprono tra squadre sportive, carceri o personale militare, suggerendo come fattori di rischio il contatto stretto con portatori di MRSA, condivisione di attrezzature e traumi cutanei (83,84).

- La HA-MRSA causa soprattutto batteriemie, polmoniti e SSTI in corrispondenza di ferite chirurgiche o accessi vascolari (85).

Tra i fattori di rischio si annoverano: lunga degenza, ricovero in terapia intensiva, residenza in casa di cura, interventi chirurgici, emodialisi e presenza di dispositivi invasivi a permanenza(86).

- La LA-MRSA è causa di infezioni localizzate come SSTI e otite, ma anche batteriemie, polmoniti ed endocardite (87).

I contagi si ritrovano tra persone che stanno a contatto con animali o tra loro familiari, ma è stata ipotizzata anche una possibile contaminazione alimentare e ambientale (88).

Acinetobacter baumannii

L'*Acinetobacter* è un patogeno opportunisto implicato principalmente in infezioni di pazienti in terapia intensiva e immunocompromessi (89). Le manifestazioni cliniche delle infezioni nosocomiali comprendono polmonite associata al ventilatore, SSTI, infezioni di ferite, infezioni del tratto urinario, meningite e setticemie; la polmonite associata al ventilatore e le setticemie sono le manifestazioni più frequenti, con una mortalità che può raggiungere il 52% (90,91). I fattori di rischio riconosciuti includono: chirurgia maggiore, traumi, prematurità nel neonato, precedente degenza in terapia intensiva, presenza di cateteri o accessi vascolari, ventilazione meccanica, numero di procedure invasive eseguite e precedente terapia antibiotica (92).

Nelle infezioni da *Acinetobacter* acquisite in comunità, la polmonite è il quadro più frequente, nonostante sia abbastanza rara e quasi esclusivamente osservata nei

climi tropicali del sud-est asiatico e dell'Australia; la mortalità correlata può raggiungere il 64% soprattutto in caso di batteriemia associata e in presenza di fattori di rischio come alcolismo, fumo, BPCO, e diabete mellito(93,94).

Pseudomonas aeruginosa

Lo *P. aeruginosa* è un organismo presente in molti contesti ambientali diversi: la sua straordinaria capacità di adattamento e di sopravvivenza anche in condizioni sfavorevoli gli ha permesso di diffondersi sia in ambito ospedaliero, sia in comunità (95). È causa principalmente di infezioni nosocomiali, soprattutto polmoniti associate a ventilazione meccanica e all'assistenza sanitaria, setticemie, infezioni di ferite chirurgiche e infezioni del tratto urinario; colpisce pazienti immunocompromessi, che hanno subito traumi, interventi chirurgici, portatori di cateteri, tracheostomizzati, con gravi ustioni, malati di fibrosi cistica o con tumori maligni (96–98).

Preoccupante è la situazione in terapia intensiva: uno studio del National Nosocomial Infections Surveillance ha mostrato come lo *P. aeruginosa* fosse responsabile del 21% polmoniti, del 3% di setticemie, del 10% di infezioni del tratto urinario e del 13% di infezioni dei tessuti molli di testa e collo nelle UTI degli USA (99). Uno studio analogo ha rilevato come nelle terapie intensive Europee lo *pseudomonas* fosse la causa del 30% di polmoniti, del 19% di infezioni urinarie e del 10% di setticemie (100).

Enterobacter spp.

I batteri appartenenti a questo genere causano infezioni nosocomiali e soprattutto in terapia intensiva, con un'alta mortalità correlata soprattutto alle comorbidità e all'alta percentuale di multiresistenza: i pazienti colpiti sono infatti spesso immunocompromessi, diabetici, ustionati, politraumatizzati o affetti da leucemia (101).

Le specie maggiormente coinvolte sono *E. aerogenes* e il complesso *E. cloacae*, di cui sono stati descritti numerosi focolai nosocomiali, corrispondenti a circa il 5% di setticemie acquisite in ospedale, al 5% di polmoniti, al 4% di infezioni delle vie urinarie e al 10% di peritoniti post-chirurgiche (102); sono inoltre causa di meningiti, ascessi cerebrali, setticemie e infezioni intestinali (103,104).

Klebsiella pneumoniae

Klebsiella pneumoniae è un batterio che colonizza normalmente l'apparato gastrointestinale, la cute e il tratto respiratorio superiore. È considerato un patogeno opportunisto, associato a infezioni in individui ospedalizzati e immunocompromessi (105).

È la terza causa di infezioni correlate all'assistenza (HAI) negli USA dopo *Clostridium difficile* e *Staphylococcus aureus*, provocando infezioni delle vie urinarie, setticemie e soprattutto polmoniti (106); di notevole rilevanza clinica è la polmonite associata al ventilatore (VAP, che rappresenta l'83% delle polmoniti acquisite in ospedale (107)) in terapia intensiva, di cui *Klebsiella* è una delle principali cause, i cui tassi di mortalità raggiungono il 50% (105,108,109).

Le infezioni acquisite in comunità, diffuse in Asia ma con crescente incidenza anche nei paesi occidentali, sono spesso determinate da ceppi ipervirulenti, con manifestazioni cliniche che comprendono l'ascesso epatico piogenico, la meningite, l'ascesso cerebrale, la polmonite e l'endoftalmite, cui seguono spesso batteriemie (110–112).

Enterococcus spp.

Gli enterococchi fanno parte del normale microbiota del tratto gastrointestinale dell'uomo, considerati quindi commensali innocui. Possono però comportarsi da patogeni opportunisti, rappresentando la prima causa di infezioni acquisite in

ospedale negli Stati Uniti e la seconda nel mondo (113); raramente sono stati descritti in letteratura casi di infezioni acquisite in comunità (114).

Nonostante siano state identificate varie specie di enterococchi, quelle maggiormente coinvolte sono *E. faecium* e *E. faecalis*, le quali sono tra i principali responsabili di sepsi, endocarditi e infezioni del tratto urinario, oltre a causare anche infezioni di ferite chirurgiche, peritoniti e ascessi intra-addominali (115).

I fattori di rischio più importanti per la colonizzazione sono: precedente terapia antibiotica (soprattutto con cefalosporine e vancomicina), caratteristiche del paziente (tempo di ospedalizzazione, condizioni mediche predisponenti tra cui cancro o immunosoppressione, necessità di terapia intensiva e presenza di dispositivi invasivi a permanenza (116,117), esposizione ad apparecchiature mediche contaminate e ricoveri in strutture di lungodegenza (118).

Escherichia coli

L'*Escherichia coli* colonizza abitualmente l'intestino dell'uomo e di molti animali, ma è al contempo la causa più frequente di sepsi e di infezioni del tratto urinario, in ambito sia comunitario che ospedaliero(77).

In base a criteri clinici e genetici, si possono distinguere i ceppi di *E.coli* in commensali, patogeni intestinali e patogeni extraintestinali (ExPEC) (119).

I patogeni intestinali causano soprattutto gastroenterite in seguito a ingestione di acqua o cibi contaminati, con diversi gradi di gravità dipendenti dalla virulenza del ceppo e dalle caratteristiche dell'ospite.

Le infezioni da patogeni extraintestinali sono gravate da una maggior mortalità e sono spesso contratte in ambiente ambulatoriale, in strutture di lungodegenza e in ospedale: causano principalmente UTI (fino all'85% dei casi di cistiti e pielonefriti

in donne in premenopausa), infezioni addominali, polmoniti e batteriemie, oltre a importanti setticemie e meningiti neonatali (119,120).

1.7. EVOLUZIONE DA COLONIZZAZIONE A INFEZIONE

La colonizzazione è un fenomeno che coinvolge persone sia sane che malate, con percentuali variabili: prendendo come esempio lo *S. aureus*, fino al 30% degli adulti sani ospita nelle cavità nasali lo stafilococco meticillino-sensibile (MSSA) e fino al 3% l'MRSA (121,122).

I siti di colonizzazione sono solitamente specifici per ogni batterio: Gram-positivi commensali, tra cui lo *S. aureus*, colonizzano solitamente pelle e cavità nasali (123); Gram-positivi (come lo *S. pneumoniae*) e Gram-negativi la faringe; Enterococchi, Gram-negativi (tra cui le Enterobacteriaceae) e *C. difficile* l'apparato digerente (124).

La presenza di colonizzazione da batteri multiresistenti in ambito ospedaliero rappresenta un bersaglio importante contro cui concentrare la sorveglianza sanitaria: questi dati sono infatti importanti per guidare processi decisionali in termini di screening e per adottare precauzioni di contatto per i colonizzati (125). La colonizzazione, infatti, è prerequisito fondamentale per una successiva infezione, il che suggerisce che la prevenzione della colonizzazione diminuisca morbilità e mortalità annesse alle infezioni (126).

Una revisione sistematica sull'evoluzione da colonizzazione a infezione in MRSA ha incluso 10 studi osservazionali e 1170 pazienti e ha mostrato come il rischio infettivo nei colonizzati fosse aumentato di quattro volte, proponendo la decolonizzazione come misura profilattica efficace (127).

Un'altra revisione ha invece analizzato le enterobacteriaceae resistenti ai carbapenemi (tra cui *klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii* ed *Enterobacter aerogenes*), notando come il 16,5% dei colonizzati abbiano sviluppato un'infezione clinicamente manifesta, con una mortalità che ha raggiunto il 50% dei casi (125).

In un gruppo di 497 pazienti ad alto rischio con neoplasie ematologiche, la colonizzazione da enterobacteriaceae produttrici di β -lattamasi a spettro esteso (ESBL-E) è stata identificata come il fattore di rischio principale per una successiva sepsi da ESBL-E (128).

I fattori alla base dello sviluppo di un'infezione da una precedente colonizzazione sono molteplici, con un maggior rischio attribuito alle comorbidità del paziente: nelle infezioni da enterococchi resistenti alla vancomicina (VRE), per esempio, oltre alla colonizzazione al momento del ricovero o durante, il tasso di infezione varia in base alle condizioni di salute del paziente, con un rischio aumentato negli immunocompromessi o gravemente malati (129).

Un rapporto di un ospedale universitario ha cercato stimare l'incidenza di infezioni da VRE in un periodo di 5 anni: i colonizzati sono risultati 1050, rilevati da tamponi di sorveglianza (95% dei casi) e da tamponi clinici, il 14% dei quali ha presentato un tampone clinico positivo con una mediana di 15 giorni dopo una coltura di sorveglianza positiva; 83 casi, pari al 7,9%, hanno sviluppato almeno un'infezione (130).

Uno studio svolto in un ospedale svizzero ha analizzato prospetticamente 658 pazienti per *Pseudomonas aeruginosa*, rilevando come, al ricovero, 10 fossero già infetti (1,5%), 38 colonizzati non infetti (5,7%) e 580 non colonizzati e non infetti (92,3%) (131); 3 tra i 38 colonizzati e 58 tra i 580 non colonizzati e non infetti hanno sviluppato un'infezione durante il ricovero (rispettivamente il 7,9% e il 10%).

Dei 628 pazienti colonizzati con *Klebsiella pneumoniae* produttrice di carbapenemasi (CPKP) analizzati in uno studio longitudinale retrospettivo in un ospedale italiano di terzo livello (dati dal 1/1/2017 al 31/8/2019), 471 sono stati rilevati in tamponi rettali di sorveglianza (SRS) (il 73,8%) e 167 da campioni clinici (CS) (il 26,2%) (132). I 471 positivi al SRS hanno presentato diverse evoluzioni: 120 non hanno avuto nessun ulteriore test disponibile (il 25,5%); 48 hanno avuto una clearance della CPKP (il 10,2%) in 7 giorni (mediana, IQR 4-18 giorni); 186 una

colonizzazione persistente (il 39,5%) con rilevazioni dopo 7 giorni (mediana, IQR 3-8 giorni); 117 sono evoluti in CS (il 24,8%) in 8 giorni (mediana, 3-18 giorni).

Al fine di capire il legame tra colonizzazione e infezione, due importanti studi hanno confrontato il genoma di *K. pneumoniae* negli isolati infettanti e colonizzanti all'interno di pazienti infetti e hanno riscontrato una concordanza di circa l'80% (133,134), suggerendo come lo stesso batterio sia responsabile dell'evoluzione del quadro clinico (135). Oltre alla classica infezione esogena, è presente quindi la possibilità di infezioni endogene, che si verificano nel momento in cui un batterio colonizzatore entra in un sito del corpo diverso della stessa persona attraverso ferite, cateteri o accessi vascolari provocando un'infezione (122).

Si è notevolmente dibattuto sulla possibilità di attuare una decolonizzazione per diminuire le conseguenze dell'infezione che ne potrebbe scaturire: riguardo lo *Staphylococcus aureus*, si è visto come la decolonizzazione dopo la dimissione possa diminuire il rischio di infezione e ospedalizzazione, e abbattere la possibilità di infezione di ferite chirurgiche in ortopedia e cardiocirurgia (136). I migliori risultati sembra che derivino dal trattamento di particolari categorie di pazienti, tra cui i dializzati, cateterizzati, ricoverati in terapia intensiva e soggetti a infezioni ricorrenti del sito chirurgico.

Riguardo i batteri Gram-negativi multiresistenti, sono stati condotti numerosi studi, con risultati spesso contrastanti: i successi terapeutici sono spesso limitati a reparti in cui i pazienti sono a rischio di infezione per brevi periodi di tempo, come la terapia intensiva e i reparti chirurgici (122,137–139).

Le recenti linee guida dell'*European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* non raccomandano la decolonizzazione di routine da batteri gram-negativi MDR e consigliano di valutare l'efficacia e la sicurezza della decolonizzazione di enterobacteriaceae resistenti alle cefalosporine di terza generazione ed enterobacteriaceae resistenti ai carbapenemi nelle popolazioni ad

alto rischio attraverso studi randomizzati-controllati (139). Rimangono invece raccomandate, con livelli di evidenza differenti, le misure di prevenzione “storiche”: igiene delle mani, precauzioni di contatto (tra cui dispositivi di protezione individuale, utilizzo di camici guanti e camici all’ingresso in stanze di pazienti colonizzati o infettati da un batterio MDR, isolamento...), pulizia delle superfici ospedaliere, uso razionale degli antibiotici, educazione del personale sanitario riguardo al problema dell’antibiotico-resistenza e promozione di campagne di sorveglianza attiva (140).

2. SCOPO DELLO STUDIO

Numerosi rapporti hanno valutato l'incidenza dei patogeni MDR nei vari ambiti assistenziali al fine di studiarne le caratteristiche e di prevenirne la diffusione.

Le realtà locali sono spesso notevolmente diverse le une dalle altre, e sono quindi necessari studi epidemiologici più mirati.

Lo scopo di questo studio è di analizzare la diffusione dei batteri multiresistenti maggiormente coinvolti nello sviluppo di colonizzazioni e infezioni in un ospedale di terzo livello del nord-est Italia nel periodo 1 luglio 2021- 23 giugno 2022.

Tra gli obiettivi rientrano anche lo studio delle infezioni e delle colonizzazioni contratte in ambito ospedaliero e l'analisi delle evoluzioni da colonizzazione a infezione nelle principali aree assistenziali.

3. MATERIALI E METODI

3.1. PROGETTAZIONE DELLO STUDIO E CAMPIONE

È stata condotta un'analisi retrospettiva longitudinale in un ospedale italiano di terzo livello sull'evoluzione di tamponi rettali di sorveglianza (TRSORV) e campioni clinici positivi per batteri multiresistenti raccolti dal 1 luglio 2021 al 23 giugno 2022.

I campionamenti fanno parte di un sistema di sorveglianza sanitaria avviato nel 2012. Le linee guida dell'ospedale prevedono che i pazienti in Area chirurgica (AC) siano testati al momento del ricovero; i pazienti in Area di Terapia Intensiva (TI) siano monitorati all'ingresso e almeno una volta a settimana; i campionamenti provenienti da pazienti ricoverati in Area Medica (AM) eseguiti se questi ultimi erano stati ricoverati nei due mesi precedenti o se provenivano da strutture di lungodegenza. Sono stati inoltre testati i pazienti che hanno avuto contatti a rischio di trasmissione (focolai in reparto o positività in compagni di stanza).

Sono stati considerati tutti i primi isolamenti per singolo paziente, sia TRSORV che clinici. I pazienti con primo isolamento in TRSORV sono stati seguiti longitudinalmente, registrando i successivi tamponi clinici e di sorveglianza; sono stati inoltre valutati retrospettivamente ricercando la presenza o meno di TRSORV negativi nei 30 giorni precedenti. I pazienti con primo isolamento clinico, sono stati invece analizzati esclusivamente in modo retrospettivo, valutando la presenza o meno di TRSORV e clinici negativi. Altri dati raccolti sono l'età, il sesso, gli intervalli di tempo (in giorni) tra la prima identificazione in TRSORV e i successivi isolamenti clinici, reparto di ricovero e sede anatomica di isolamento.

3.2. DEFINIZIONI

I pazienti che hanno presentato una prima positività in TRSORV sono stati definiti colonizzati.

Un “isolamento intraospedaliero” riguarda i primi isolamenti in TRSORV la cui rilevazione è stata preceduta da almeno un TRSORV negativo nei 30 giorni precedenti, mentre una “infezione ospedaliera” si riferisce a una rilevazione in un sito clinico preceduta da almeno un analogo clinico negativo e/o da un TRSORV negativo.

Una “colonizzazione persistente” è stata definita come isolamento dello stesso patogeno in almeno un TRSORV successivo alla prima rilevazione, mentre “single detection” quando non vi sono TRSORV o campioni clinici successivi per mancata esecuzione o riscontro di negatività.

“Evoluzione da colonizzazione a infezione” si riferisce al riscontro di un patogeno in un sito clinico successivamente all’isolamento del patogeno stesso in un TRSORV.

3.3. ANALISI DI LABORATORIO

Tutti gli isolamenti, le identificazioni e i test di suscettibilità in vitro dei batteri multiresistenti sono stati eseguiti presso laboratori di microbiologia dell’Azienda Ospedaliera di Padova, con metodi standardizzati.

Per l’identificazione batterica sono stati utilizzati Vitek® 2 e Vitek® MS di BioMérieux e MALDI-TOF.

Al fine di riscontrare positività alle carbapenemasi, i ceppi identificati con TRSORV sono stati inoculati su BD BBL™ CHROMagar™ CPE (C-CPE) utilizzando il sistema automatico WASP® (Copan, Brescia, Italia). Un disco di ertapenem (10 µg, BD BBL Sensi-Disk™) è stato inoltre utilizzato per identificare le colonie sospettate di

produrre carbapenemasi, con cut-off di screening ≤ 25 mm (EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_v1.0 e v2.0).

I test di suscettibilità antimicrobica sono stati eseguiti con diluizione per i TRSORV (sistema Thermo Scientific Sensititre™) e con il sistema automatizzato VITEK® 2 per gli isolati da campioni clinici. I ceppi con una ridotta suscettibilità ai carbapenemi ($MIC \geq 1$) sono stati valutati successivamente anche con la diluizione.

Le resistenze ad ampicillina e vancomicina sono state valutate utilizzando la microdiluizione in brodo di Mueller-Hinton.

In tutti i test di suscettibilità sono state applicate le raccomandazioni dell'EUCAST (EUCAST Clinical breakpoints - breakpoints and guidance V 11.0) riguardo i breakpoint clinici.

La presenza di carbapenemasi è stata confermata con caratterizzazione molecolare con metodo in-house

3.4. ANALISI STATISTICA

I dati sono stati analizzati usando il test del Chi-quadrato e il test esatto di Fisher, con valori di $p < 0.05$ considerati statisticamente significativi. Le variabili continue sono state confrontate con il test Mann-Whitney U.

MedCalc Statistical Software versione 19.1 (MedCalc Software bv, Ostenda, Belgio; <https://www.medcalc.org>; 2019) è stato utilizzato per le analisi statistiche.

4. RISULTATI

Il campione di pazienti, pari a 786 soggetti inclusi nello studio, è costituito da:

- 734 pazienti adulti ricoverati presso l'azienda ospedaliera di Padova in reparti di area medica (AM), chirurgica (AC) e terapia intensiva (TI) (AOP 556, OSA 178);
- 26 pazienti adulti che hanno fatto accesso al Pronto Soccorso dell'Azienda Ospedaliera di Padova;
- 26 pazienti di età pediatrica (< 18 anni) in regime di ricovero presso l'Azienda Ospedaliera di Padova.

La distribuzione per sesso e nazionalità vede (Tabella V):

- 730 italiani (92.88%), di cui 476 maschi e 254 femmine (M: 65.21%; F: 34.79%);
- 56 stranieri (7.12%), di cui 33 maschi e 23 femmine (M: 58.93%; F: 41.07%).

Non vi è una differenza significativa nella distribuzione per genere tra italiani e stranieri ($p=0.34$).

I pazienti, divisi per fasce di età, sono così distribuiti rispetto al sesso:

- 26 pazienti pediatrici (3.31%), di cui 13 maschi e 13 femmine (M: 50%; F: 50%);
- 230 pazienti con età maggiore o uguale a 18 anni e minore di 65 (29.26%), di cui 161 maschi e 69 femmine (M: 70%; F:30%);
- 530 pazienti con età maggiore o uguale a 65 anni (67.43%), di cui 335 maschi e 195 femmine (M: 62.08%; F: 37.92%).

I pazienti maschi tra i 18 e i 65 anni sono significativamente più frequenti delle donne di pari età ($p=0.048$), mentre non è statisticamente significativo il maggior

numero dei pazienti maschi sopra i 65 anni d'età rispetto alle coetanee di genere femminile ($p=0.19$).

caratteristiche	MASCHI (%) n= 509	FEMMINE (%) n=277	TOTALE	
			786	100%
<i>NAZIONALITÀ</i>				
ITALIANI	476 (65.21)	254 (34.79)	730	92.88
STRANIERI	33 (58.93)	23 (41.07)	56	7.12
<i>ETÀ</i>				
<18	13 (50)	13 (50)	26	3.31
18-65	161 (70)	69 (30)	230	29.26
≥65	335 (62,08)	195 (37,92)	530	67.43

Tabella V. Caratteristiche dei 786 pazienti.

4.1. FOCUS SULLA POPOLAZIONE ADULTA

Dei 734 pazienti adulti ricoverati in reparto, 379 si trovavano, al momento del rilevamento, in AM (51.63%), 139 in AC (18.94%) e 216 in TI (29.43%).

I primi isolamenti sono stati (Tabella VI):

- Tampone rettale di sorveglianza (TRSORV) in 336 pazienti (45.78%);
- Singolo isolamento clinico in 356 pazienti (48.50%);
- TRSORV più contemporaneo rilevamento clinico in 35 pazienti (4.77%);
- Doppio riscontro clinico in 7 pazienti (0.95);

	Area Medica (n=379)	Area Chirurgica (n=139)	Area di terapia intensiva (n=216)	TOTALE
TRSORV, n (%)	168 (44.33)	81 (58.27)	87 (40.28)	336
TRSORV + sito clinico, n (%)	18 (4.75)	5 (3.60)	12 (5.56)	35
Singolo sito clinico, n (%)	189 (49.87)	53 (38.13)	114 (52.77)	356
Due siti clinici, n (%)	4 (1.05)	-	3 (1.39)	7

Tabella VI. Descrizione della tipologia del primo isolamento nelle tre aree cliniche.

Il dato è espresso come valore assoluto e percentuale rispetto alla specifica area.

I primi isolamenti in TRSORV in AC sono significativamente più frequenti dei corrispettivi in AM ($p=0.0049$) e in TI ($p=0.0009$); tra questi ultimi due, sono più frequenti in AM ($p=0.33$).

L'isolamento clinico come primo risultato è significativamente più frequente in AM rispetto alla AC ($p=0.0178$), ma non rispetto a TI ($p=0.49$). Maggiore e significativa è invece la frequenza dei singoli isolamenti clinici in TI rispetto all'AC ($p=0.007$).

4.1.1. ISOLAMENTI DA SOLO TAMPONE RETTALE PER AREE

Gli isolati batterici totali per singola area sono descritti nelle Tabelle VII, VIII e IX.

I batteri MDR isolati con più frequenza esclusivamente in TRSORV nelle tre aree sono *A. baumannii* (ACBA), *P. aeruginosa* (PSAE) e *K. Pneumoniae* (KP), che insieme sono stati rilevati in 304 pazienti (90.48%).

Isolato	Numero assoluto pazienti (n)	Percentuale relativa (%)
ACBA	77	45.83
KP	50	29.76
PSAE	26	15.48
E. coli	5	2.98
ACBA + KP	4	2.38
S. Maltophilia	2	1.19

C. freundii	1	0.6
E. faecium (ENFE)	1	0.6
E. coli + KP	1	0.6
E. Aerogenes	1	0.6

Tabella VII. Batteri isolati in solo TRSORV in Area Medica (n=168)

Isolato	Numero assoluto pazienti (n)	Percentuale relativa (%)
KP	37	45.68
ACBA	22	27.16
PSAE	11	13.58
E. coli	4	4.94
E. cloacae (ENCL)	3	3.70

E. aerogenes	2	2.47
KP + PSAE	1	1.23
KP ssp	1	1.23

Tabella VIII. Batteri isolati in solo TRSORV in Area Chirurgica (n=81).

Isolato	Numero assoluto pazienti (n)	Percentuale relativa (%)
ACBA	38	43.68
PSAE	25	28.73
KP	18	20.69
S. Maltophilia	2	2.30
E coli	1	1.15
C. freundii	1	1.15
E. Aerogenes	1	1.15

KP + ACBA	1	1.15
-----------	---	------

Tabella IX. Batteri isolati in solo TRSORV in Terapia Intensiva (n=87)

ACBA è stato rilevato meno frequentemente in AC rispetto ad AM (p=0.0049) e alla TI (p=0.026).

KP è risultato maggiormente isolato in AC rispetto ad AM (p=0.0138) e alla TI (p=0.0006).

PSAE è stato isolato più frequentemente in TI rispetto all'AM (p=0.0123) e all'AC (p=0.0171).

4.1.2. DESCRIZIONE DEGLI ISOLAMENTI DA SINGOLO CAMPIONE CLINICO

Dei 356 isolamenti clinici singoli, I campioni più frequenti sono risultati BR (broncoaspirato) con 113 isolamenti (31.74%) e SCRUC (screening da catetere urinario) con 61 (17.13%) (Tabella X).

Sito	Isolati, n (%)
AT	3 (0.84)
BAL	4 (1.12)
BI	4 (1.12)
BL	13 (3.65)

PB	1 (0.28)
PC (PUSC1)	1 (0.28)
PE	1 (0.28)
PL	3 (0.84)
PUSG	1 (0.28)

BR	113 (31.74)
C	1 (0.28)
CDR	1 (0.28)
CVC	3 (0.84)
DR TUB1	1 (0.28)
E	18 (5.05)
EMO	21 (5.89)
EMOCA	5 (1.40)
EMOCV	2 (0.56)
EMOCVC	10 (2.81)
LDRADX	2 (0.56)
LIQDREN	2 (0.56)
LIQLDR	13 (3.65)

SCRUC	61 (17.13)
SCRURO	15 (4.21)
TC	11 (3.09)
TC (TPI)	1 (0.28)
TEX	1 (0.28)
TF	8 (2.25)
TFE	2 (0.56)
TN	17 (4.77)
TPI	3 (0.84)
TU	1 (0.28)
TV	1 (0.28)
URO	4 (1.12)
SCRURO	8 (2.25)

Tabella X. Descrizione degli isolamenti singoli in campioni clinici (356 pazienti). Il dato è espresso come numero assoluto e come valore percentuale rispetto alla numerosità totale.

I batteri multiresistenti maggiormente riscontrati sono risultati: ACBA, con 94 isolamenti (26.40%), *E. faecium* (ENFE) con 85 (23.88%) e PSAE con 64 (17.98) (Tabella XI).

Microrganismo	Pazienti, n (%)	Microrganismo/i	Pazienti, n (%)
ACBA	94 (26.40)	<i>B. gladioli</i>	1 (0.28)
ENFE	85 (23.88)	<i>E. anophelis</i>	1 (0.28)
PSAE	64 (17.98)	<i>E. miricola</i>	1 (0.28)
<i>S. maltophilia</i>	47 (13.20)	<i>E. cloacae</i>	1 (0.28)
KP	42 (11.80)	<i>E. gallinarum</i>	1 (0.28)
<i>P. mirabilis</i>	4 (1.12)	<i>P. vulgaris</i>	1 (0.28)
<i>A. xylooxidans</i>	3 (0.84)	<i>E. aerogenes</i>	1 (0.28)
<i>E. faecalis</i>	2 (0.56)	ACBA + KP	2 (0.56)
<i>S. aureus</i>	2 (0.56)	ENFE + ACBA	1 (0.28)
<i>A. junii</i>	1 (0.28)	ACBA + <i>S. Maltophilia</i>	1 (0.28)
<i>B. contaminans</i>	1 (0.28)		

Tabella XI. Batteri riscontrati nei singoli campioni clinici (356 pazienti) con numerosità assoluta e percentuale rispetto al totale.

L'analisi per sito di isolamento, in funzione della specifica area clinica (Tabella XII), mostra come il riscontro di isolati clinici nelle vie aeree inferiori in TI sia significativamente più frequente rispetto all'AM ($p=0.0001$) e all'AC ($p=0.001$). In AM è invece più frequente il riscontro di campioni clinici dalle vie urinarie in confronto all'AC ($p=0.0007$) e alla TI ($p<0.0001$). Gli altri siti presi in esame sono le vie aeree superiori, il torrente circolatorio, la cute e altre sedi.

	Area Medica	Area Chirurgica	Area di Terapia intensiva	TOTALE
Vie aeree superiori	16 (8.46)	2 (3.77)	7 (6.14)	25
Vie aeree inferiori	54 (28.57)	21 (39.62)	76 (64.03)	151
Torrente circolatorio	25 (13.23)	4 (7.55)	12 (10.53)	41
Vie urinarie	72 (38.09)	7 (13.21)	9 (7.89)	88
Cute	9 (4.76)	2 (3.77)	4 (3.51)	15
Altre sedi	13 (6.88) ^a	17 (32.07) ^b	6 (5.26) ^c	36
TOTALE	189	53	114	356

Tabella XII. Descrizione della sede di isolamento in funzione della specifica area. La numerosità assoluta e percentuale si riferisce alla singola area.

^a 1 BI, 1LIQDREN, 7LIQLDR, 1 PB, 1 PE, 1TFE,1 TU

^b 3 BI, 1 C, 5 LIQLDR, 1 PC (PUSC1), 3 PL, 1 PUSG, 1 TEX, 1 TFE, 1 TV

^c 1 CDR, 1DR TUB 1, 2 LIQ (LDRADX), 1 LIQDREN, 1 LIQLDR

Per ogni sito di isolamento, i batteri maggiormente riscontrati sul totale delle aree sono risultati:

- ACBA e S.maltophilia nelle vie aeree superiori (entrambi con 7 rilevazioni, pari al 28% ciascuno) (Tabella XIII);
- ACBA nelle vie aeree inferiori con 55 rilevazioni (36.42%) (Tabella XIV);
- ENFE nel torrente circolatorio con 25 rilevazioni (60.98%) (Tabella XV);
- ENFE nelle urine con 31 rilevazioni (35.23%) (Tabella XVI);
- ACBA nella cute con 6 rilevazioni (40%) (Tabella XVII);
- ENFE negli altri siti con 24 rilevazioni (66.67%) (Tabella XVIII).

	Area Medica (n=16)	Area Chirurgica (n=2)	Area di Terapia intensiva (n=7)	TOTALE (n=25)
ACBA	4	-	2	6
KP	3	-	1	4
PSAE	5	1	1	7
S. Maltophilia	3	1	3	7

ENFE	1	-	-	1
------	---	---	---	---

Tabella XIII. Singoli isolamenti clinici nelle vie aeree superiori.

	Area Medica (n=54)	Area Chirurgica (n=21)	Area di Terapia intensiva (n=76)	TOTALE (n=151)
ACBA	27	-	28	55
PSAE	11	16	18	45
S. maltophilia	11	3	25	39
E. aerogenes		-	1	1
E. anophelis		-	1	1
KP	2	-	1	3
E. miricola	-	-	1	1
ENFE	-	-	1	1
A. xylosoxidans		1	-	1

S. aureus	1	1	-	2
ACBA + S. maltophilia	1	-	-	1
B. gladioli	1			1

Tabella XIV. Singoli isolamenti clinici nelle vie aeree inferiori.

	Area Medica (n=25)	Area Chirurgica (n=4)	Area di Terapia intensiva (n=12)	TOTALE (n=41)
ACBA	4	-	2	6
A. xylooxidans	1	-	-	1
ENFE	13	4	8	25
KP	4	-	2	6
PRMI	2	-	-	2
PSAE	1	-	-	1

Tabella XV. Singoli isolamenti clinici nel torrente circolatorio.

	Area Medica (n=72)	Area Chirurgica (n=7)	Area di Terapia intensiva (n=9)	TOTALE (n=88)
ACBA	16	-	1	17
A. junii	-	1	-	1
ENCL	1	-	-	1
ENFA	1	1	-	2
ENFE	21	5	5	31
E. gallinarum	1	-	-	1
KP	25	-	2	27
P. vulgaris	-	-	1	1
PSAE	4	-	-	4
ACBA + KP	2	-	-	2
P. mirabilis	1			1

Tabella XVI. Singoli isolamenti clinici nelle vie urinarie.

	Area Medica (n=9)	Area Chirurgica (n=2)	Area di Terapia intensiva (n=4)	TOTALE (n=15)
ACBA	5	-	1	6
ENFE	2	-	1	3
KP	1	-	-	1
PRMI	-	1	-	1
PSAE	1	1	1	3
A. xylosoxidans	-	-	1	1

Tabella XVII. Singoli isolamenti clinici nella cute.

	Area Medica (n=13) ^a	Area Chirurgica (n=17) ^b	Area di Terapia intensiva (n=6) ^c	TOTALE (n=36)
ACBA	2	1	1	4

B. contaminans	-	1	-	1
ENFE	8	11	5	24
KP	-	1	-	1
PSAE	2	2	-	4
S. Maltophilia	-	1	-	1
ACBA + ENFE	1	-	-	1

Tabella XVIII. Singoli isolamenti clinici in altre sedi.

^a 1 BI, 1LIQDREN, 7LIQLDR, 1 PB, 1 PE, 1TFE,1 TU

^b 3 BI, 1 C, 5 LIQLDR, 1 PC (PUSC1), 3 PL, 1 PUSG, 1 TEX, 1 TFE, 1 TV

^c 1 CDR, 1DR TUB 1, 2 LIQ (LDRADX), 1 LIQDREN, 1 LIQLDR

4.1.3 ISOLAMENTI IN TRSORV E CONTEMPORANEO SITO CLINICO E DOPPIO SITO CLINICO

35 pazienti hanno presentato un isolamento contemporaneo in un sito clinico e in un TRSORV. L'ACBA è stato il patogeno più frequente, con 18 rilevazioni come singolo patogeno (51.43%), e 4 come co-infezione (11.43%).

In AM, su 15 isolamenti, l'ACBA è stato responsabile di 11 casi (73.33%) da solo o in associazione a un altro patogeno (Tabella XIX).

	ACBA	ENFE	KP	PSAE	ACBA + ENFE	ACBA + PSAE	ACBA + KP
Vie aeree Sup.	1	-	-	2	-	-	1
Vie aeree Inf.	2	-	-	-	-	1	-
Vie urinarie	1	1	2	2	-	1	-
Torrente Circolatorio	-	-	-	-	1	-	-
cute	2	-	-	-	-	-	-
Altro (TO)	1	-	-	-	-	-	-

Tabella XIX. Isolamenti in TRSORV e sito clinico in AM.

In Area chirurgica, ACBA è stato riscontrato in 2 siti (Vie aeree inferiori e torrente sanguigno) su 5 (40%) (Tabella XX).

	ACBA	KP	PSAE	E. cloacae
Vie aeree Sup.	-	-	1	-
Vie aeree Inf.	1	-	-	-
cute	-	-	-	1
Torrente sanguigno	1	-	-	-
Altro (LIQDREN)	-	1	-	-

Tabella XX. Isolamenti in TRSORV e sito clinico in AC.

In TI, in 10 pazienti su 12 (83.33%) è stato rilevato l'ACBA, con 9 isolamenti nelle vie aeree superiori e 2 nel sangue (Tabella XXI).

	ACBA	PSAE
Vie aeree Sup.	9	2
Sangue	1	-

Tabella XXI. Isolamenti in TRSORV e sito clinico in TI.

Uno o più batteri sono stati identificati in due diversi siti clinici in 7 pazienti maschi, con l'ACBA che è stato riscontrato, da solo o in associazione, in 4 di essi (57.14%) (Tabella XXII).

Pazienti	Genere	Età (anni)	Sedi di isolamento	Microrganismi	Area
Paziente 1	M	18	Due campioni vie Aeree Sup. (TF + AN)	S. maltophilia	Terapia intensiva
Paziente 2	M	63	Torrente circolatorio E vie aeree inf.	ACBA	Terapia intensiva

Paziente 3	M	75	Due campioni vie Aeree Inf. (BR + BL)	ACBA	Terapia intensiva
Paziente 4	M	77	Torrente circolatorio e vie urinarie	KP	Medica
Paziente 5	M	88	Torrente circolatorio e vie urinarie	ACBA	Medica
Paziente 6	M	90	Torrente circolatorio e vie urinarie	KP	Medica
Paziente 7	M	92	Due campioni cute	KP + ACBA	Medica

Tabella XXII. Caratteristiche dei 7 pazienti con doppio isolamento clinico.

4.2. ISOLAMENTI IN UNITÀ OPERATIVA DI ACCETTAZIONE E PRONTO SOCCORSO

Nel gruppo di 26 pazienti che hanno fatto accesso all'Unità Operativa di Accettazione e Pronto soccorso, 12 presentavano un batterio MDR a livello del torrente circolatorio (46.15%), 12 a livello urinario (46.15%) e 2 un doppio sito clinico di isolamento (torrente circolatorio + urine).

I patogeni più frequentemente rilevati sono stati ENFE e KP, entrambi con 7 isolamenti (26.92%), seguiti da ACBA con 6 (23.08%), PSAE con 3 (11.54%), *E. faecium* ed *E. coli* con 2 (7.69%).

4.3. ISOLAMENTI NEI PAZIENTI PEDIATRICI

Dei 26 pazienti pediatrici ricoverati, 9 hanno avuto un isolamento in TRSORV (34.62%), 16 in un sito clinico (61.54%) e uno in TRSORV più sito clinico (3.85%).

I batteri più frequentemente riscontrati sono stati PSAE, con 7 isolamenti (26.92%) e *S. maltophilia* con 5 (19.23%).

4.4. EVOLUZIONE DA COLONIZZAZIONE A INFEZIONE

I pazienti adulti ricoverati che hanno presentato un'evoluzione nel periodo di tempo dello studio sono stati 336, di cui 117 (34.82%) senza TRSORV negativo nei 30 giorni precedenti (T-) e 219 (65.18%) con almeno un TRSORV negativo precedente, considerati quindi isolamenti intraospedalieri (Tabella XXIII).

Le possibili evoluzioni riscontrate sono:

- 118 single detection (35.12%), di cui 45 T- (38.14%) e 73 isolamenti intraospedalieri (61.86%);
- 108 colonizzazioni persistenti senza infezione (32.14%), di cui 37 T- (34.26%) e 71 isolamenti intraospedalieri (65.74%);
- 80 colonizzazioni persistenti seguite da infezione (23.81%), di cui 20 T- (25%) e 60 isolamenti intraospedalieri (75%);
- 24 infezioni senza colonizzazione persistente precedente (7.14%), di cui 14 T- (58.33%) e 10 isolamenti intraospedalieri (41.67%);
- 6 isolati senza informazioni successive (1.79%), divisi equamente tra i due gruppi.

	TRSORV non eseguito nei 30 giorni precedenti (n=117)	Almeno un TRSORV eseguito nei 30 giorni precedenti (n=219)	TOTALE	
			336	100%
Single detection, n (%)	45 (38.14)	73 (61.86)	118	35.12
Colonizzazione persistente senza infezione, n (%)	37 (34.26)	71 (65.74)	108	32.14
Colonizzazione persistente + infezione, n (%)	20 (25)	60 (75)	80	23.81
Infezione senza persistente colonizzazione, n (%)	14 (58.33)	10 (41.67)	24	7.14
No dati, n (%)	1 (16.67)	5 (83.33)	6	1.79

Tabella XXIII. Descrizione dell'evoluzione dei 336 pazienti con primo isolamento in TRSORV.

La colonizzazione persistente seguita dall'infezione è significativamente più frequente negli isolamenti intraospedalieri rispetto ai campionamenti non preceduti da TRSORV negativo precedente ($p=0.0349$), mentre in quest'ultimo gruppo è più frequente l'infezione senza persistente colonizzazione ($p=0.0286$).

Non sono invece statisticamente significativi la maggior frequenza dei single detection e delle colonizzazioni persistenti senza infezione negli isolati intraospedalieri (rispettivamente $p=0.34$ e $p=0.88$).

Analizzando i dati per singola area di ricovero, si nota come il 38.69% dei pazienti in AM e il 44.44% in AC con primo isolamento positivo in TRSORV, abbiano presentato esclusivamente una single detection, mentre in TI il 40.23% dei pazienti abbia sviluppato una colonizzazione persistente seguita da infezione (Tabella XXIV)

In AM l'età media dei pazienti che evolvono da colonizzazione a infezione è di 78 anni (IQR 66-86), in AC 73 anni (IQR 64-77) e in TI 65.5 anni (IQR 58.25-72).

		Area medica (n=168)		Area chirurgia (n=81)		Area di terapia intensiva (n=87)	
Single detection, n (%)		65 (38.69)	114 (67.86)	36 (44.44)	63 (77.77)	17 (19.54)	49 (56.32)
Colonizzazione persistente senza infezione, n (%)		49 (29.17)		27 (33.33)		32 (36.78)	
Colonizzazione persistente + infezione, n (%)		34 (20.24)	51 (30.36)	11 (13.58)	15 (18.52)	35 (40.23)	38 (43.68)
Infezione senza persistente		17 (10.12)		4 (4.94)		3	

colonizzazione, n (%)						(3.45)	
No dati, n (%)	3 (1.79)		3 (3.70)		-		

Tabella XXIV. Descrizione delle evoluzioni dei 336 pazienti con primo isolamento in TRSORV in relazione alle singole aree.

Evoluzioni senza infezione (NO INFEZIONE) in AM e in AC sono significativamente più frequenti rispetto alla TI (rispettivamente $p=0.0442$ e $p=0.0008$); in particolare, i single detection in AM e AC hanno una frequenza maggiore rispetto ai corrispettivi in TI (rispettivamente $p=0.0092$ e $p=0.0188$).

Tra le evoluzioni in infezioni, la colonizzazione persistente con infezione in AM è meno frequente rispetto all'equivalente in TI ($p=0.0047$).

In TI il batterio che provoca il maggior numero di evoluzioni in infezione è l'ACBA, che rappresenta il 50% dei casi, con una mediana di 5 giorni tra il primo TRSORV positivo e il primo isolamento clinico; l'infezione provocata riguarda nel 73.68% dei casi le vie aeree inferiori (Tabella XXV).

Batterio	Numero assoluto pazienti	Percentuale relativa (%)	Sito di infezione						Mediana in giorni tra primo TRSORV e primo clinico
			S	I	E	P	U	A	
ACBA	19	50	3	14	1	1	-	-	5
PSAE	13	34.21	3	10	-	-	-	-	12
KP	4	10.53	-	2	1	-	1	-	6
S. maltophilia	1	2.63	-	-	1	-	-	-	10
E. aerogenes	1	2.63	-	1	-	-	-	1	3
TOTALE	38	100	6	27	3	1	1	-	7

Tabella XXV. Descrizione degli isolati batterici di pazienti evoluti in infezione in TI (vie aeree superiori=S; via aeree inferiori=I; sangue=E; cute=P; vie urinarie=U; altro=A).

In area medica, il 49% delle evoluzioni in infezione sono provocate da ACBA (49.02%), soprattutto nelle vie aeree inferiori (36%) e con una mediana di 11 giorni (Tabella XXVI).

Batterio	Numero assoluto pazienti	Percentuale relativa (%)	Sito di infezione						Mediana in giorni tra primo TRSORV e primo clinico
			S	I	E	P	U	A	
ACBA	25	49.02	3	9	3	3	6	1	11
KP	21	41.17	1	3	3	1	11	2	17
PSAE	4	7.84	1	-	-	1	2	-	23
E. coli	1	1.96	-	1	-	-	-	-	14
TOTALE	51	100	5	13	6	5	19	3	14

Tabella XXVI. Descrizione degli isolati batterici di pazienti evoluti in infezione in AM (vie aeree superiori=S; via aeree inferiori=I; sangue=E; cute=P; vie urinarie=U; altro=A).

KP è il batterio responsabile del maggior numero di evoluzioni in infezione in AC (60%) con una mediana di 13 giorni; nel 33.33% dei casi è riscontrato nelle vie urinarie (Tabella XXVII).

Batterio	Numero assoluto pazienti	Percentuale relativa (%)	Sito di infezione						Mediana in giorni tra primo TRSORV e primo clinico
			S	I	E	P	U	A	
KP	9	60	-	2	1	1	3	2	13
PSAE	3	20	-	1	1	-	-	1	13
ACBA	1	6.67	-	1	-	-	-	-	117
E. coli	1	6.67	-	-	-	-	1	-	79
E. cloacae	1	6.66	-	-	-	-	-	1	4
TOTALE	15	100		4	2	1	4	4	13

Tabella XXVII. Descrizione degli isolati batterici di pazienti evoluti in infezione in AC (vie aeree superiori=S; via aeree inferiori=I; sangue=E; cute=P; vie urinarie=U; altro=A).

4.5. ISOLAMENTI NOSOCOMIALI NEI SINGOLI CLINICI

Tra i 398 pazienti con almeno un campione clinico nel primo isolamento (insieme formato dalle categorie TRSORV più clinico, singolo clinico e doppio clinico), 192 (48.24%) avevano almeno un TRSORV e almeno un isolamento clinico negativi precedenti; 108 (27.14%) avevano esclusivamente almeno un TRSORV negativo precedente; 34 (8.54%) avevano solamente almeno un campione clinico precedente negativo; 64 (16.08%) non avevano nessun precedente negativo.

I batteri maggiormente riscontrati in coloro che hanno presentato una doppia negatività sono stati ACBA(28.12%), *E. faecium* (23.44%) e PSAE (17.71%).

5. DISCUSSIONE

I dati raccolti rispecchiano la situazione epidemiologica dei batteri MDR isolati più frequentemente nei reparti di un ospedale italiano di terzo livello con 1300 posti letto.

Gli studi precedenti sulla stessa struttura avevano analizzato la diffusione intraospedaliera di *K. pneumoniae* produttrice di carbapenemasi, valutandone il rischio di diffusione (141–143), ed *E. faecium* sensibili e resistenti alla vancomicina (144). L'ampia casistica di questo studio permette di confrontare i dati raccolti con quelli di numerose altre realtà italiane (145–148), con i già citati studi sull'ospedale in questione e con i dati dell'ISS sulla sorveglianza sanitaria nazionale riguardo la resistenza agli antibiotici (77).

5.1 ANALISI DEI RISULTATI PER BATTERIO MDR

Un primo confronto può essere effettuato con i dati dell'istituto superiore di sanità riguardo alla distribuzione di batteri MDR in Italia nel 2020, nonostante essi provengano da isolamenti quasi esclusivamente ematici (99% sangue e 1% liquor) in pazienti con infezioni invasive. Limitandosi alla comparazione dei campioni raccolti in singolo sito clinico dal torrente circolatorio, i dati raccolti in questo rapporto si discostano dalle rilevazioni dell'ISS, soprattutto per quanto riguarda *A. baumannii* (ACBA) che risulta più frequente (14.63% in questo studio vs 4.5%) e *P. aeruginosa* (PSAE) che invece è stato isolato in un solo paziente su 41 isolamenti ematici (2.44% vs 8.2%).

Riguardo *K. Pneumoniae*, i dati sono assolutamente sovrapponibili (14.63% vs. 15% nel rapporto dell'ISS). Tra i Gram-positivi, l'unico isolamento da torrente circolatorio riguarda l'*E. faecium*, che rappresenta il 60.98% delle rilevazioni, nettamente più frequente rispetto ai dati dell'ISS (7.4%) Diverse sono le possibili distorsioni del confronto, tra cui le differenti numerosità dei campioni ematici (57412 vs 41), che in questo rapporto rappresentano l'11.52% dei singoli isolati

clinici totali, oltre all'importante contributo dato dai TRSORV (45.77% degli isolamenti totali) non considerati nello studio dell'Istituto superiore di sanità (77).

5.1.1 RUOLO DELL'ACINETOBACTER BAUMANII

Dall'analisi effettuata, sembrerebbe risaltare il ruolo di *A. Baumanii* tra i principali patogeni MDR, confermandosi come isolamento più comune sia nei tamponi rettali di sorveglianza, sia in tutti i campioni clinici, rappresentando il 26.40% degli isolati clinici totali. Tra i primi TRSORV positivi, è risultato il più frequente in area medica (48.53%) e in terapia intensiva (43.68%) sul totale dei batteri MDR riscontrati per singola area, significativamente più frequente rispetto all'area chirurgica ($p=0.0049$ e $p=0.026$).

La distribuzione delle sedi di isolamento, preponderante soprattutto in aree come le vie aeree inferiori, risulta simile ai dati di uno studio di prevalenza sull'ACBA multiresistente nell'Ospedale di Brescia (145), e valutazioni analoghe possono essere fatte in relazione a uno studio svolto presso una terapia intensiva di un ospedale di Palermo, il quale ha riportato come il tratto respiratorio fosse la sede maggiormente coinvolta da infezione da ACBA, con 26 casi su 36 (72.2%). Rispetto a quest'ultimo studio, nel presente rapporto l'ACBA rappresenta il patogeno maggiormente coinvolto in infezioni delle vie aeree inferiori in terapia intensiva, ma con frequenza notevolmente inferiore (36.84%).

A. baumanii è ormai un batterio ampiamente presente nei nostri ospedali, tanto da essere una delle principali cause di infezioni correlate all'assistenza sanitaria, oltre a setticemie, infezioni delle vie urinarie e delle ferite(149–151).

Meno rilevante è risultata la presenza del batterio nei contesti di comunità, ben rappresentati dalla scarsa frequenza del patogeno in Unità operativa di accettazione e pronto soccorso (23.07% sul totale degli isolamenti in questo studio), in linea con gli studi a riguardo (152).

La forte impronta epidemiologica dell'*A. baumannii* in ambito ospedaliero, derivante dai risultati di questo rapporto, impone la necessità di una sorveglianza attiva più capillare e un monitoraggio scrupoloso delle resistenze associate.

5.1.2 RILEVANZA DI KLEBSIELLA PNEUMONIAE

I dati raccolti su *K. pneumoniae*, già confrontati con le rilevazioni dell'Istituto Superiore di Sanità, sono più facilmente interpretabili in funzione dei precedenti studi svolti sul patogeno negli anni precedenti nello stesso Ospedale. Nel presente rapporto sono stati rilevati 168 isolamenti del patogeno in questione, in leggera crescita rispetto ai dati degli studi degli anni precedenti, i quali hanno mostrato un trend in calo dal 2017 al 2021, anno in cui sono state riscontrate 159 positività.

In diminuzione è invece la percentuale di isolamenti da TRSORV, passati dal'80.9% del 2019, al 71.42% in questo studio; gli isolamenti clinici vedono quindi un sostanziale incremento dal 19.1% al 28.58%, dimostrando una crescita del riscontro di infezioni da *K. Pneumoniae*. Gli isolamenti nosocomiali sono in diminuzione rispetto al 2019, essendo passati dal 62.9% al 55.83%, confermando comunque un trend in calo dal 2017 (75.9%, 73.9% nel 2019).

Leggermente in aumento i dati di evoluzione da colonizzazione a infezione, passati dal 24.8% del 2019 a 28.33% in questo rapporto (143).

K. pneumoniae si conferma primo patogeno riscontrato in area chirurgica (45,68%), soprattutto in TRSORV, sottolineando come ciò possa riflettere la maggior attenzione in questa area clinica nei confronti della sorveglianza sanitaria, in relazione all'alta frequenza di diffusione del patogeno e della sua mortalità (153–155).

Dai dati riscontrati, sembra sia in diminuzione il numero di colonizzazioni intraospedaliere, suggerendo una possibile crescita della frequenza del batterio in comunità; in ambito ospedaliero si segnala un probabile aumento dei tassi di

infezione da *K.pneumoniae*, oltre a una più frequente evoluzione dei colonizzati in infetti.

5.1.3. CONSIDERAZIONI SU *P. AERUGINOSA*

Il confronto tra i dati riscontrati da questo studio con i corrispettivi dell'Istituto superiore di Sanità, come già accennato in precedenza, vede una maggior frequenza di *P. aeruginosa* negli isolati ematici del rapporto nazionale (8.2% vs 2.44%). Prendendo in considerazione però anche gli isolati da TRSORV e dagli altri siti clinici di isolamento, la frequenza raggiunge il 18.68%, registrati soprattutto in terapia intensiva (28.73% sul totale dei batteri nella stessa area), in linea con l'ampia diffusione del patogeno negli ospedali di tutto il mondo. In questo contesto è causa di infezioni in popolazioni ad alto rischio, come i grandi ustionati, oltre a essere responsabile di casi di polmonite associata a ventilatore (156).

Tra i siti clinici di isolamento, *P. aeruginosa* è stato isolato con più frequenza nelle vie aeree inferiori (29.80%), in accordo con studi italiani (145) e internazionali (157), dimostrandosi uno dei principali patogeni coinvolti nelle colonizzazioni e infezioni soprattutto in aree di terapia intensiva.

5.2 FOCUS SUGLI ISOLAMENTI DI ORIGINE NOSOCOMIALE

Nonostante la scarsità di dati di letteratura a riguardo, risulta di fondamentale importanza stabilire l'origine nosocomiale di una colonizzazione o infezione, al fine di programmare un'adeguata sorveglianza sanitaria e predisporre trattamenti terapeutici adeguati. In questo rapporto, sono stati rilevati 219 isolamenti di verosimile origine nosocomiale in chi ha avuto un TRSORV come primo isolamento (65.18%), mentre tra coloro con primo rilevamento in almeno un sito clinico, 192 pazienti (48.24%) hanno presentato una doppia negatività precedente (sia in TRSORV che in un sito clinico) e 34 (8.54%) almeno un clinico negativo. Ciò

suggerisce come la loro situazione clinica possa aver portato a eseguire esami invasivi (broncoaspirati o emocolture tra tutti) per i quali è previsto un ricovero, corroborando l'ipotesi che abbiano contratto l'infezione all'interno dell'ospedale stesso. Considerando anche i pazienti con isolamento negativo in TRSORV precedente (27.14%), si può concludere che le infezioni e le colonizzazioni contratte in ambiente ospedaliero rappresentino ancora un'importante causa di morbilità e mortalità, verso le quali è fondamentale implementare il programma di sorveglianza sanitaria. I batteri che hanno causato infezioni nosocomiali in doppi negativi precedenti sono risultati ACBA (28.12%), *E. faecium* (23.44%) e P_{SAE} (17.71%).

5.3. CARATTERISTICHE DELLE EVOLUZIONI IN INFEZIONE

In questo rapporto abbiamo valutato l'evoluzione dei pazienti con colonizzazione da verosimile origine nosocomiale, confrontando i dati con i pazienti senza precedenti TRSORV negativi (T-); quest'ultimo gruppo non è ben interpretabile, a causa dell'impossibilità di definire un'origine intra o extraospedaliera dell'isolamento, non essendo presenti informazioni su possibili precedenti ricoveri, né elementi riguardanti la storia clinica dei pazienti per valutare fattori predisponenti alla colonizzazione. Nel gruppo degli isolamenti nosocomiali, la single detection, la colonizzazione persistente senza infezione e la colonizzazione seguita da infezione (quest'ultima con $p=0.039$) sono risultati più frequenti rispetto al gruppo dei T-: ciò può suggerire come le colonizzazioni ospedaliere siano ben controllate, anche grazie alla sorveglianza sanitaria di routine e alla caratterizzazione molecolare delle resistenze, ma che frequentemente evolvono. Nel gruppo dei T- è invece significativamente maggiore la frequenza di infezione senza precedente infezione ($p=0.0286$).

L'evoluzione in infezione riguarda principalmente i pazienti in terapia intensiva, con la colonizzazione seguita da infezione in misura significativamente più frequente rispetto all'area medica ($p=0.0047$), la cui causa probabilmente è da

ricercare nelle comorbidità dei pazienti e nella difficoltà nell'eradicare una colonizzazione in un paziente gravemente compromesso dal punto di vista clinico. Le single detection sono maggiormente riscontrate in area medica e chirurgica rispetto alla terapia intensiva ($p=0.0442$ e $p=0.0008$).

L.A. baumannii rappresenta la principale causa di evoluzione in infezione, In terapia intensiva (50%) e area medica (49%), con una mediana di 5 giorni (TI) e 11 giorni (AM); In entrambe le aree il principale sito clinico di isolamento riguarda le vie aeree inferiori (TI=73.68%; AM=36%).

In area chirurgica, invece, il 60% delle evoluzioni in infezioni sono state causate da *K. Pneumoniae* (60%), con una mediana di 13 giorni e un maggior frequenza di isolamento dalle vie urinarie.

Riguardo le infezioni del torrente circolatorio, la frequenza si è mantenuta bassa in TI (7.89%), con area medica e area chirurgica che si attestano rispettivamente sul 11.76% e 13.33%.

5.4 LIMITI E PUNTI DI FORZA DELLO STUDIO

Lo studio presenta dei limiti riguardanti soprattutto l'assenza delle informazioni derivanti dalla cartella clinica dei pazienti, senza la quale non è certa la correlazione tra patogeno identificato e manifestazioni cliniche; per lo stesso motivo non è stato possibile definire con certezza infezioni o colonizzazioni intra o extraospedaliere.

I punti di forza riguardano soprattutto lo studio longitudinale dei pazienti, i quali sono stati seguiti e valutati in periodi di tempo abbastanza lunghi per valutare lo sviluppo di possibili infezioni, oltre a verificare il trend di diffusione e prevalenza dei patogeni MDR maggiormente coinvolti nelle infezioni ospedaliere.

5.5. CONCLUSIONI

I risultati di questo studio rappresentano un importante strumento di monitoraggio della diffusione dei patogeni maggiormente coinvolti nel fenomeno dell'antibiotico-resistenza, oltre a fornire una panoramica sulle possibili evoluzioni delle colonizzazioni batteriche in ambito assistenziale. L'elevata frequenza dei patogeni MDR in campo ospedaliero rispecchia un fenomeno ormai in continua diffusione mondiale, quale l'antibiotico-resistenza, la quale minaccia gravemente i servizi sanitari di tutto il mondo. Il fenomeno è stato per troppo tempo sottostimato, e i piani di sorveglianza sanitaria e sviluppo di politiche di prevenzione nazionali e internazionali non sono in alcun modo adeguati alla dimensione del fenomeno. Lo studio vuole ribadire l'importanza di una gestione clinica oculata degli antibiotici, oltre a sottolineare il fondamentale ruolo svolto dalla sorveglianza sanitaria nel prevenire lo sviluppo e la diffusione di patogeni multiresistenti sempre più difficili da trattare.

Bibliografia

1. Antimicrobial resistance and the United Nations Sustainable Development Cooperation Framework: guidance for United Nations country teams. 2021.
2. 748 final COMMUNICATION FROM THE COMMISSION TO THE EUROPEAN PARLIAMENT AND THE COUNCIL Action plan against the rising threats from Antimicrobial Resistance [Internet]. Available from: <http://ec.europa.eu/research>
3. Davies J. Origins and evolution of antibiotic resistance. Vol. 12, Microbiología (Madrid, Spain). 1996. p. 9–16.
4. O'Neill J (chair). Antimicrobial resistance: tackling a crisis for the health and wealth of nations. Review on antimicrobial resistance. 2014;
5. Silver LL. Challenges of antibacterial discovery. *Clinical Microbiology Reviews*. 2011 Jan;24(1):71–109.
6. Shlaes DM, Gerding DN, John Jr, JF, Craig WA, Bornstein DL, Duncan RA, et al. Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on the Prevention of Antimicrobial Resistance: Guidelines for the Prevention of Antimicrobial Resistance in Hospitals. *Clinical Infectious Diseases*. 1997 Sep;25(3):584–99.
7. Gruppo di coordinamento per i microrganismi resistenti agli antibiotici. Resistenza dei batteri agli antibiotici nei settori della medicina, della veterinaria e delle derrate alimentari. 1999.
8. Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H, Spratt BG. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 May 28;99(11):7687–92.
9. Stefani S. [Evolution in the antibiotic susceptibility and resistance]. *Infez Med*. 2009 Jul;17 Suppl 3:5–12.
10. Nothias LF, Knight R, Dorrestein PC. Antibiotic discovery is a walk in the park. Vol. 113, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. National Academy of Sciences; 2016. p. 14477–9.
11. Gale NK, Thomas GM, Greenfield S, Brown P. Towards a sociology of risk work: a narrative review and synthesis. *Sociol Compass*. 2016;10(11):1046–1071.

12. Ukuhor HO. The interrelationships between antimicrobial resistance, COVID-19, past, and future pandemics. Vol. 14, *Journal of Infection and Public Health*. Elsevier Ltd; 2021. p. 53–60.
13. Maurer FP, Christner M, Hentschke M, Rohde H. Advances in rapid identification and susceptibility testing of bacteria in the clinical microbiology laboratory: Implications for patient care and antimicrobial stewardship programs. *Infectious Disease Reports*. 2017;9(1):18–27.
14. Ministero della Salute DIPARTIMENTO DELLA SANITÀ PUBBLICA VETERINARIA, DELLA SICUREZZA ALIMENTARE E DEGLI ORGANI COLLEGIALI PER LA TUTELA DELLA SALUTE DIREZIONE GENERALE DELLA SANITÀ ANIMALE E DEI FARMACI VETERINARI UFFICIO IV ex DGSA- Medicinali veterinari e dispositivi medici ad uso veterinario " Biosicurezza e uso corretto e razionale degli antibiotici in zootecnia ".
15. Lambraki IA, Cousins M, Graells T, Leger A, Henriksson P, Harbarth S, et al. Factors influencing antimicrobial resistance in the European food system and potential leverage points for intervention: A participatory, One Health study. *PLoS ONE*. 2022 Feb 1;17(2 February).
16. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing EUCAST. To clinical colleagues: On recent changes in clinical microbiology susceptibility reports-new interpretation of susceptibility categories S, I and R.
17. Martinez JL. General principles of antibiotic resistance in bacteria. Vol. 11, *Drug Discovery Today: Technologies*. Elsevier Ltd; 2014. p. 33–9.
18. Nannini EC, Singh K v., Arias CA, Murray BE. In vivo effects of cefazolin, daptomycin, and nafcillin in experimental endocarditis with a methicillin-susceptible staphylococcus aureus strain showing an inoculum effect against cefazolin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2013 Sep;57(9):4276–81.
19. Cox G, Wright GD. Intrinsic antibiotic resistance: Mechanisms, origins, challenges and solutions. Vol. 303, *International Journal of Medical Microbiology*. 2013. p. 287–92.
20. Lee JH. Perspectives towards antibiotic resistance: from molecules to population. Vol. 57, *Journal of Microbiology*. Microbiological Society of Korea; 2019. p. 181–4.
21. Salimiyan Rizi K, Ghazvini K, Noghondar M kouhi. Adaptive Antibiotic Resistance: Overview and Perspectives. *Journal of Infectious Diseases & Therapy*. 2018;06(03).

22. Motta SS, Cluzel P, Aldana M. Adaptive resistance in bacteria requires epigenetic inheritance, genetic noise, and cost of efflux pumps. *PLoS ONE*. 2015 Mar 17;10(3).
23. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection* [Internet]. 2012 Mar 1 [cited 2022 Jun 17];18(3):268–81. Available from: <http://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198743X14616323/fulltext>
24. Levin BR. Models for the spread of resistant pathogens. *Neth J Med*. 2002 Aug;60(7 Suppl):58–64; discussion 64-6.
25. Andersson DI. Persistence of antibiotic resistant bacteria. *Current Opinion in Microbiology*. 2003 Oct;6(5):452–6.
26. Andersson DI. The biological cost of mutational antibiotic resistance: any practical conclusions? Vol. 9, *Current Opinion in Microbiology*. 2006. p. 461–5.
27. Benveniste R, Davies J. Aminoglycoside antibiotic-inactivating enzymes in actinomycetes similar to those present in clinical isolates of antibiotic-resistant bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1973 Aug;70(8):2276–80.
28. Munita JM, Arias CA. Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology Spectrum*. 2016 Mar 25;4(2).
29. Holmes AH, Moore LSP, Sundsfjord A, Steinbakk M, Regmi S, Karkey A, et al. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. *Lancet*. 2016 Jan 9;387(10014):176–87.
30. Alanis AJ. Resistance to antibiotics: Are we in the post-antibiotic era? Vol. 36, *Archives of Medical Research*. 2005. p. 697–705.
31. Cantón R, González-Alba JM, Galán JC. CTX-M Enzymes: Origin and Diffusion. *Frontiers in Microbiology*. 2012;3.
32. Johnson TJ, Nolan LK. Pathogenomics of the Virulence Plasmids of *Escherichia coli*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2009 Dec;73(4):750–74.
33. Oliveira PH, Touchon M, Cury J, Rocha EPC. The chromosomal organization of horizontal gene transfer in bacteria. *Nat Commun*. 2017;8(1):841.
34. Gillings MR, Paulsen IT, Tetu SG. Genomics and the evolution of antibiotic resistance. *Ann N Y Acad Sci*. 2017 Jan;1388(1):92–107.

35. Christaki E, Marcou M, Tofarides A. Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Evolution, and Persistence. *J Mol Evol.* 2020;88(1):26–40.
36. Pitout JD, Sanders CC, Sanders WE. Antimicrobial resistance with focus on beta-lactam resistance in gram-negative bacilli. *Am J Med.* 1997 Jul;103(1):51–9.
37. Gold HS, Moellering RC. Antimicrobial-drug resistance. *N Engl J Med.* 1996 Nov 7;335(19):1445–53.
38. Tomasz A. Antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Clin Infect Dis.* 1997 Jan;24 Suppl 1:S85-8.
39. Mulligan ME, Murray-Leisure KA, Ribner BS, Standiford HC, John JF, Korvick JA, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a consensus review of the microbiology, pathogenesis, and epidemiology with implications for prevention and management. *Am J Med.* 1993 Mar;94(3):313–28.
40. Dever LA, Dermody TS. Mechanisms of bacterial resistance to antibiotics. *Arch Intern Med.* 1991 May;151(5):886–95.
41. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev.* 2001 Oct;14(4):933–51, table of contents.
42. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* 2005 Oct;18(4):657–86.
43. Jones RN. Important and emerging beta-lactamase-mediated resistances in hospital-based pathogens: the Amp C enzymes. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1998 Jul;31(3):461–6.
44. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2007 Jul;20(3):440–58, table of contents.
45. Jakovac S, Bojić EF, Ibrišimović MA, Tutiš B, Ostojić M, Hukić M. Characteristics of Vancomycin-Resistant *Enterococcus* Strains in the West Balkans: A First Report. *Microb Drug Resist.* 2017 Jan;23(1):122–6.
46. Walters MS, Eggers P, Albrecht V, Travis T, Lonsway D, Hovan G, et al. Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* - Delaware, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2015 Sep 25;64(37):1056.
47. Zhu W, Clark N, Patel JB. pSK41-like plasmid is necessary for Inc18-like vanA plasmid transfer from *Enterococcus faecalis* to *Staphylococcus aureus* in vitro. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013 Jan;57(1):212–9.

48. Luzzaro F. [Fluoroquinolones and Gram-negative bacteria: antimicrobial activity and mechanisms of resistance]. *Infez Med*. 2008 Apr;16 Suppl2:5–11.
49. Ruiz J, Pons MJ, Gomes C. Transferable mechanisms of quinolone resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2012 Sep;40(3):196–203.
50. Doi Y, Wachino JI, Arakawa Y. Aminoglycoside Resistance: The Emergence of Acquired 16S Ribosomal RNA Methyltransferases. *Infect Dis Clin North Am*. 2016;30(2):523–37.
51. Cecchini M, Langer J, Slawomirski L. ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN G7 COUNTRIES AND BEYOND: Economic Issues, Policies and Options for Action. 2015.
52. Macrae MB, Shannon KP, Rayner DM, Kaiser AM, Hoffman PN, French GL. A simultaneous outbreak on a neonatal unit of two strains of multiply antibiotic resistant *Klebsiella pneumoniae* controllable only by ward closure. *J Hosp Infect*. 2001 Nov;49(3):183–92.
53. Teillant A, Gandra S, Barter D, Morgan DJ, Laxminarayan R. Potential burden of antibiotic resistance on surgery and cancer chemotherapy antibiotic prophylaxis in the USA: a literature review and modelling study. *The Lancet Infectious Diseases*. 2015 Dec;15(12):1429–37.
54. Friedman ND, Temkin E, Carmeli Y. The negative impact of antibiotic resistance. *Clinical Microbiology and Infection*. 2016 May;22(5):416–22.
55. Eliopoulos GM, Cosgrove SE, Carmeli Y. The Impact of Antimicrobial Resistance on Health and Economic Outcomes. *Clinical Infectious Diseases*. 2003 Jun 1;36(11):1433–7.
56. Freifeld AG, Bow EJ, Sepkowitz KA, Boeckh MJ, Ito JI, Mullen CA, et al. Clinical Practice Guideline for the Use of Antimicrobial Agents in Neutropenic Patients with Cancer: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*. 2011 Feb 15;52(4):e56–93.
57. McMaster P, McIntyre P, Gilmour R, Gilbert L, Kakakios A, Mellis C. The emergence of resistant pneumococcal meningitis--implications for empiric therapy. *Arch Dis Child*. 2002 Sep;87(3):207–10.
58. Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis*. 2005 May 1;40(9):1333–41.

59. Michalopoulos AS, Tsiodras S, Rellos K, Mentzelopoulos S, Falagas ME. Colistin treatment in patients with ICU-acquired infections caused by multiresistant Gram-negative bacteria: the renaissance of an old antibiotic. *Clin Microbiol Infect*. 2005 Feb;11(2):115–21.
60. Global Risks 2014 Ninth Edition Insight Report [Internet]. 2014. Available from: www.weforum.org
61. DRUG-RESISTANT INFECTIONS A Threat to Our Economic Future [Internet]. 2017. Available from: www.worldbank.org
62. McNeill R, D. J. Nelson, Y. Abutaleb. “Superbug” scourge spreads as U.S. fails to track rising human toll [Internet]. Reuters. 2016 [cited 2022 Jun 19]. Available from: <https://www.reuters.com/investigates/special-report/usa-unaccounted-surveillance>
63. White AR, Blaser M, Carrs O, Cassell G, Fishman N, Guidos R, et al. Effective antibacterials: at what cost? The economics of antibacterial resistance and its control. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2011 Sep 1;66(9):1948–53.
64. Roberts RR, Hota B, Ahmad I, Scott RD, Foster SD, Abbasi F, et al. Hospital and societal costs of antimicrobial-resistant infections in a Chicago teaching hospital: implications for antibiotic stewardship. *Clin Infect Dis*. 2009 Oct 15;49(8):1175–84.
65. de Kraker MEA, Davey PG, Grundmann H, BURDEN study group. Mortality and hospital stay associated with resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteremia: estimating the burden of antibiotic resistance in Europe. *PLoS Med*. 2011 Oct;8(10):e1001104.
66. MacPherson DW. Population Mobility, Globalization, and Antimicrobial Drug Resistance. *Emerging Infectious Diseases*. 2009;
67. Paitan Y. Current Trends in Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli*. In 2018. p. 181–211.
68. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report 2021. Geneva: World Health Organization; 2021. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Geneva;
69. Ayobami O, Brinkwirth S, Eckmanns T, Markwart R. Antibiotic resistance in hospital-acquired ESKAPE-E infections in low- and lower-middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. *Emerg Microbes Infect*. 2022 Dec;11(1):443–51.

70. Laxminarayan R, Matsoso P, Pant S, Brower C, Røttingen JA, Klugman K, et al. Access to effective antimicrobials: a worldwide challenge. *The Lancet*. 2016 Jan;387(10014):168–75.
71. Klein EY, van Boeckel TP, Martinez EM, Pant S, Gandra S, Levin SA, et al. Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018 Apr 10;115(15).
72. Centers for Disease Control and Prevention . Antibiotic resistance & patient safety portal: antibiotic resistance. Atlanta: CDC; 2021 Aug 29; Available from: <https://arpsp.cdc.gov/profile/antibiotic-resistance?tab = antibiotic-resistance>.
73. Hu F, Zhu D, Wang F, Wang M. Current Status and Trends of Antibacterial Resistance in China. *Clinical Infectious Diseases*. 2018 Nov 13;67(suppl_2):S128–34.
74. Pan American Health Organization . Latin American network for antimicrobial resistance surveillance (RELAVRA): AMR trends analysis. Washington (DC:): PAHO; 2016.
75. Japanese Ministry of Health Law . Japan Nosocomial Infections Surveillance (JANIS): annual open report 2020. 2021.
76. European Centre for Disease Prevention and Control . Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net): annual epidemiological report for 2019. Stockholm: ECDC; 2020.
77. Bellino S, Iacchini S, Monaco M, Grosso M del, Camilli R, Errico G, et al. AR-ISS: sorveglianza nazionale dell'Antibiotico-Resistenza. Dati 2020 Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2021. (Rapporti ISS Sorveglianza RIS-1/2021 [Internet]. Available from: www.iss.it
78. Lowy, F. D. Staphylococcus aureus infections. *N. Engl J. Med*. 339, 520–532 (1998).
79. Lee AS, de Lencastre H, Garau J, Kluytmans J, Malhotra-Kumar S, Peschel A, et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Nature Reviews Disease Primers*. 2018 Jun 7;4(1):18033.
80. Moran GJ, Krishnadasan A, Gorwitz RJ, Fosheim GE, McDougal LK, Carey RB, et al. Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. *N Engl J Med* [Internet]. 2006 Aug 17 [cited 2022 Jun 22];355(7):666–74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16914702/>

81. Francis JS, Doherty MC, Lopatin U, Johnston CP, Sinha G, Ross T, et al. Severe community-onset pneumonia in healthy adults caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the Panton-Valentine leukocidin genes. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2005 Jan 1 [cited 2022 Jun 22];40(1):100–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15614698/>
82. Miller LG, Perdreau-Remington F, Rieg G, Mehdi S, Perlroth J, Bayer AS, et al. Necrotizing fasciitis caused by community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Los Angeles. *N Engl J Med* [Internet]. 2005 Apr 7 [cited 2022 Jun 22];352(14):1445–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15814880/>
83. Kazakova S v., Hageman JC, Matava M, Srinivasan A, Phelan L, Garfinkel B, et al. A clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among professional football players. *N Engl J Med* [Internet]. 2005 Feb 3 [cited 2022 Jun 22];352(5):468–75. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15689585/>
84. Aiello AE, Lowy FD, Wright LN, Larson EL. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among US prisoners and military personnel: review and recommendations for future studies. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2006 Jun [cited 2022 Jun 22];6(6):335–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16728319/>
85. Klevens RM, Morrison MA, Nadle J, Petit S, Gershman K, Ray S, et al. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *JAMA* [Internet]. 2007 Oct 17 [cited 2022 Jun 22];298(15):1763–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17940231/>
86. Epstein L, Mu Y, Belflower R, Scott J, Ray S, Dumyati G, et al. Risk Factors for Invasive Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection After Recent Discharge From an Acute-Care Hospitalization, 2011–2013. *Clinical Infectious Diseases*. 2016 Jan 1;62(1):45–52.
87. van Alen S, Ballhausen B, Peters G, Friedrich AW, Mellmann A, Köck R, et al. In the centre of an epidemic: Fifteen years of LA-MRSA CC398 at the University Hospital Münster. *Vet Microbiol* [Internet]. 2017 Feb 1 [cited 2022 Jun 22];200:19–24. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26878970/>
88. Larsen J, Petersen A, Sørnum M, Stegger M, van Alphen L, Valentiner-Branth P, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 is an increasing cause of disease in people with no livestock contact in Denmark, 1999 to 2011. *Eurosurveillance*. 2015 Sep 1;20(37).

89. Humphreys H, Towner KJ. Impact of *Acinetobacter* spp. in intensive care units in Great Britain and Ireland. *J Hosp Infect* [Internet]. 1997 [cited 2022 Jun 22];37(4):281–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9457605/>
90. Seifert H, Strate A, Schulze A, Pulverer G. Bacteremia due to *Acinetobacter* species other than *Acinetobacter baumannii*. *Infection* [Internet]. 1994 Nov [cited 2022 Jun 23];22(6):379–85. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7698833/>
91. Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nature Reviews Microbiology* 2007 5:12 [Internet]. 2007 Dec [cited 2022 Jun 23];5(12):939–51. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrmicro1789>
92. García-Garmendia JL, Ortiz-Leyba C, Garnacho-Montero J, Jiménez-Jiménez FJ, Pérez-Paredes C, Barrero-Almodóvar AE, et al. Risk factors for *Acinetobacter baumannii* nosocomial bacteremia in critically ill patients: a cohort study. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2001 Oct 1 [cited 2022 Jun 23];33(7):939–46. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11528563/>
93. Chen MZ, Hsueh PR, Lee LN, Yu CJ, Yang PC, Luh KT. Severe community-acquired pneumonia due to *Acinetobacter baumannii*. *Chest* [Internet]. 2001 [cited 2022 Jun 23];120(4):1072–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11591541/>
94. Anstey NM, Currie BJ, Hassell M, Palmer D, Dwyer B, Seifert H. Community-acquired bacteremic *Acinetobacter* pneumonia in tropical Australia is caused by diverse strains of *Acinetobacter baumannii*, with carriage in the throat in at-risk groups. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2002 [cited 2022 Jun 23];40(2):685–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11825997/>
95. Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND. Antibacterial-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* : Clinical Impact and Complex Regulation of Chromosomally Encoded Resistance Mechanisms. *Clinical Microbiology Reviews*. 2009 Oct;22(4):582–610.
96. Blanc DS, Petignat C, Janin B, Bille J, Francioli P. Frequency and molecular diversity of *Pseudomonas aeruginosa* upon admission and during hospitalization: a prospective epidemiologic study. *Clinical Microbiology and Infection*. 1998 May;4(5):242–7.
97. OHARA T, ITOH K. Significance of *Pseudomonas aeruginosa* Colonization of the Gastrointestinal Tract. *Internal Medicine*. 2003;42(11):1072–6.

98. Vallés J, Mariscal D, Cortés P, Coll P, Villagrà A, Díaz E, et al. Patterns of colonization by *Pseudomonas aeruginosa* in intubated patients: a 3-year prospective study of 1,607 isolates using pulsed-field gel electrophoresis with implications for prevention of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Medicine*. 2004 Sep 9;30(9):1768–75.
99. Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. *Critical Care Medicine*. 1999 May;27(5):887–92.
100. Spencer RC. Predominant pathogens found in the European prevalence of infection in intensive care study. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 1996 Apr;15(4):281–5.
101. Davin-Regli A, Lavigne JP, Pagès JM. *Enterobacter* spp.: Update on Taxonomy, Clinical Aspects, and Emerging Antimicrobial Resistance. *Clinical Microbiology Reviews* [Internet]. 2019 Oct 1 [cited 2022 Jun 25];32(4). Available from: [/pmc/articles/PMC6750132/](#)
102. Eugene Sanders WE, Sanders CC. *Enterobacter* spp.: pathogens poised to flourish at the turn of the century. *Clinical Microbiology Reviews* [Internet]. 1997 [cited 2022 Jun 25];10(2):220. Available from: [/pmc/articles/PMC172917/?report=abstract](#)
103. Davin-Regli A, Pagès JM. *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. *Front Microbiol* [Internet]. 2015 [cited 2022 Jun 25];6(MAY). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26042091/>
104. Mezzatesta ML, Gona F, Stefani S. *Enterobacter cloacae* complex: clinical impact and emerging antibiotic resistance. *Future Microbiol* [Internet]. 2012 Jul [cited 2022 Jun 25];7(7):887–902. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22827309/>
105. Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 1998 [cited 2022 Jun 25];11(4):589–603. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9767057/>
106. Magill SS, Edwards JR, Bamberg W, Beldavs ZG, Dumyati G, Kainer MA, et al. Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections. *N Engl J Med* [Internet]. 2014 Mar 27 [cited 2022 Jun 25];370(13):1198–208. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24670166/>
107. Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. 2000 Aug [cited 2022 Jun

- 25];21(8):510–5. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10968716/>
108. Selina F, Talha KA, Islam A, Hasan Z, Hyder M, Selvapandian S. Organisms associated with ventilator associated pneumonia (VAP) in intensive care units (ICU). *Journal of the Bangladesh Society of Anaesthesiologists* [Internet]. 2009 Mar 1 [cited 2022 Jun 25];22(2):72–7. Available from: <https://www.banglajol.info/index.php/JBSA/article/view/18146>
 109. Kalanuria AA, Zai W, Mirski M. Ventilator-associated pneumonia in the ICU. *Crit Care* [Internet]. 2014 Mar 18 [cited 2022 Jun 25];18(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25029020/>
 110. Rodrigues C, d’Humières C, Papin G, Passet V, Ruppé E, Brisse S. Community-acquired infection caused by the uncommon hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* ST66-K2 lineage. *Microbial Genomics*. 2020 Aug 1;6(8).
 111. Russo TA, Marr CM. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Clinical Microbiology Reviews* [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2022 Jun 26];32(3). Available from: </pmc/articles/PMC6589860/>
 112. Siu LK, Yeh KM, Lin JC, Fung CP, Chang FY. *Klebsiella pneumoniae* liver abscess: a new invasive syndrome. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2012 [cited 2022 Jun 26];12(11):881–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23099082/>
 113. Khan HA, Ahmad A, Mehboob R. Nosocomial infections and their control strategies. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2015; 7: 509-14.
 114. Coque TM, Tomayko JF, Ricke SC, Okhyusen PC, Murray BE. Vancomycin-resistant enterococci from nosocomial, community, and animal sources in the United States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1996 Nov;40(11):2605–9.
 115. Raza T, Ullah SR, Mehmood K, Andleeb S. Vancomycin resistant Enterococci: A brief review. *J Pak Med Assoc*. 2018 May;68(5):768–72.
 116. Ostrowsky BE, Trick WE, Sohn AH, Quirk SB, Holt S, Carson LA, et al. Control of vancomycin-resistant enterococcus in health care facilities in a region. *N Engl J Med*. 2001 May 10;344(19):1427–33.
 117. Chanderraj R, Millar JA, Patel TS, Read AF, Washer L, Kaye KS, et al. Vancomycin-Resistant Enterococcus Acquisition in a Tertiary Care Hospital: Testing the Roles of Antibiotic Use, Proton Pump Inhibitor Use, and Colonization Pressure. *Open Forum Infect Dis*. 2019 Apr;6(4):ofz139.

118. Elizaga ML, Weinstein RA, Hayden MK. Patients in long-term care facilities: a reservoir for vancomycin-resistant enterococci. *Clin Infect Dis*. 2002 Feb 15;34(4):441–6.
119. da Silva GJ, Mendonça N. Association between antimicrobial resistance and virulence in *Escherichia coli*. *Virulence*. 2012 Jan 27;3(1):18–28.
120. Smith JL, Fratamico PM, Gunther NW. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Foodborne Pathog Dis*. 2007;4(2):134–63.
121. den Heijer CD, van Bijnen EM, Paget WJ, Pringle M, Goossens H, Bruggeman CA, et al. Prevalence and resistance of commensal *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant *S aureus*, in nine European countries: a cross-sectional study. *The Lancet Infectious Diseases*. 2013 May;13(5):409–15.
122. Septimus EJ, Schweizer ML. Decolonization in Prevention of Health Care-Associated Infections. *Clin Microbiol Rev*. 2016 Apr;29(2):201–22.
123. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *The Lancet Infectious Diseases*. 2005 Dec;5(12):751–62.
124. Buffie CG, Pamer EG. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. *Nature Reviews Immunology*. 2013 Nov 7;13(11):790–801.
125. Tischendorf J, de Avila RA, Safdar N. Risk of infection following colonization with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: A systematic review. *Am J Infect Control*. 2016;44(5):539–43.
126. Bonten MJM, Weinstein RA. The Role of Colonization in the Pathogenesis of Nosocomial Infections. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 1996 Mar;17(3):193–200.
127. Safdar N, Bradley EA. The Risk of Infection after Nasal Colonization with *Staphylococcus Aureus*. *The American Journal of Medicine*. 2008 Apr;121(4):310–5.
128. Vehreschild MJGT, Hamprecht A, Peterson L, Schubert S, Hantschel M, Peter S, et al. A multicentre cohort study on colonization and infection with ESBL-producing Enterobacteriaceae in high-risk patients with haematological malignancies. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2014 Dec 1;69(12):3387–92.

129. Zirakzadeh A, Patel R. Vancomycin-resistant enterococci: colonization, infection, detection, and treatment. *Mayo Clin Proc.* 2006 Apr;81(4):529–36.
130. Calfee DP, Giannetta ET, Durbin LJ, Germanson TP, Farr BM. Control of Endemic Vancomycin-Resistant Enterococcus among Inpatients at a University Hospital. *Clinical Infectious Diseases.* 2003 Aug 1;37(3):326–32.
131. Blanc DS, Petignat C, Janin B, Bille J, Francioli P. Frequency and molecular diversity of *Pseudomonas aeruginosa* upon admission and during hospitalization: a prospective epidemiologic study. *Clinical Microbiology and Infection.* 1998 May;4(5):242–7.
132. Basso M, Zago D, Pozzetto I, de Canale E, Scaggiante R, Biasolo MA, et al. Intra-hospital acquisition of colonization and infection by *Klebsiella pneumoniae* strains producing carbapenemases and carriage evolution: A longitudinal analysis in an Italian teaching hospital from January 2017 to August 2019. *International Journal of Infectious Diseases.* 2020 Mar;92:81–8.
133. Martin RM, Cao J, Brisse S, Passet V, Wu W, Zhao L, et al. Molecular Epidemiology of Colonizing and Infecting Isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *mSphere.* 2016 Oct 26;1(5).
134. Gorrie CL, Mirčeta M, Wick RR, Edwards DJ, Thomson NR, Strugnell RA, et al. Gastrointestinal Carriage Is a Major Reservoir of *Klebsiella pneumoniae* Infection in Intensive Care Patients. *Clinical Infectious Diseases.* 2017 Jul 15;65(2):208–15.
135. Martin RM, Bachman MA. Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018;8:4.
136. Sharara SL, Maragakis LL, Cosgrove SE. Decolonization of *Staphylococcus aureus*. *Infectious Disease Clinics of North America.* 2021 Mar;35(1):107–33.
137. Sánchez-Ramírez C, Hípola-Escalada S, Cabrera-Santana M, Hernández-Viera MA, Caipe-Balcázar L, Saavedra P, et al. Long-term use of selective digestive decontamination in an ICU highly endemic for bacterial resistance. *Critical Care.* 2018 Dec 30;22(1):141.
138. Lee BY, Wiringa AE, Bailey RR, Goyal V, Lewis GJ, Tsui BYK, et al. Screening cardiac surgery patients for MRSA: an economic computer model. *Am J Manag Care.* 2010 Jul 1;16(7):e163–73.
139. Tacconelli E, Mazzaferri F, de Smet AM, Bragantini D, Eggimann P, Huttner BD, et al. ESCMID-EUCIC clinical guidelines on decolonization of multidrug-

- resistant Gram-negative bacteria carriers. *Clinical Microbiology and Infection*. 2019 Jul;25(7):807–17.
140. Tacconelli E, Cataldo MA, Dancer SJ, de Angelis G, Falcone M, Frank U, et al. ESCMID guidelines for the management of the infection control measures to reduce transmission of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients. *Clinical Microbiology and Infection*. 2014 Jan;20:1–55.
 141. Parisi SG, Bartolini A, Santacatterina E, Castellani E, Ghirardo R, Berto A, et al. Prevalence of *Klebsiella pneumoniae* strains producing carbapenemases and increase of resistance to colistin in an Italian teaching hospital from January 2012 To December 2014. *BMC Infectious Diseases*. 2015 Dec 27;15(1):244.
 142. Bartolini A, Basso M, Franchin E, Menegotto N, Ferrari A, de Canale E, et al. Prevalence, molecular epidemiology and intra-hospital acquisition of *Klebsiella pneumoniae* strains producing carbapenemases in an Italian teaching hospital from January 2015 to September 2016. *International Journal of Infectious Diseases*. 2017 Jun;59:103–9.
 143. Basso M, Zago D, Pozzetto I, de Canale E, Scaggiante R, Biasolo MA, et al. Intra-hospital acquisition of colonization and infection by *Klebsiella pneumoniae* strains producing carbapenemases and carriage evolution: A longitudinal analysis in an Italian teaching hospital from January 2017 to August 2019. *International Journal of Infectious Diseases*. 2020 Mar;92:81–8.
 144. Fallico L, Boldrin C, Grossato A, Franchin E, de Canale E, Tommasini T, et al. Molecular epidemiology of *Enterococcus faecium* isolates from an Italian hospital. *Infection*. 2011 Apr 15;39(2):127–33.
 145. de Francesco MA, Ravizzola G, Peroni L, Bonfanti C, Manca N. Prevalence of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* in an Italian hospital. *Journal of Infection and Public Health*. 2013 Jun;6(3):179–85.
 146. Mammina C, Palma DM, Bonura C, Aleo A, Fasciana T, Sodano C, et al. Epidemiology and clonality of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from an intensive care unit in Palermo, Italy. *BMC Research Notes*. 2012 Dec 20;5(1):365.
 147. Zarrilli R, Bagattini M, Migliaccio A, Esposito EP, Triassi M. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Italy. *Annali di igiene : medicina preventiva e di comunita*. 33(5):401–9.

148. Zarrilli R, Casillo R, di Popolo A, Tripodi MF, Bagattini M, Cuccurullo S, et al. Molecular epidemiology of a clonal outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a university hospital in Italy. *Clinical Microbiology and Infection*. 2007 May;13(5):481–9.
149. Durante-Mangoni E, Utili R, Zarrilli R. Combination therapy in severe *Acinetobacter baumannii* infections: an update on the evidence to date. *Future Microbiology*. 2014 Jun;9(6):773–89.
150. Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2013 Jan;41(1):11–9.
151. Harding CM, Hennon SW, Feldman MF. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nature Reviews Microbiology*. 2018 Feb 18;16(2):91–102.
152. van Duin D, Paterson DL. Multidrug-Resistant Bacteria in the Community. *Infectious Disease Clinics of North America*. 2016 Jun;30(2):377–90.
153. Rodriguez-Gómez J, Pérez-Nadales E, Gutiérrez-Gutiérrez B, Machuca I, Martínez-Martínez L, Rivera F, et al. Prognosis of urinary tract infection caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: The impact of inappropriate empirical treatment. *J Infect*. 2019;79(3):245–52.
154. Chiu SK, Chan MC, Huang LY, Lin YT, Lin JC, Lu PL, et al. Tigecycline resistance among carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: Clinical characteristics and expression levels of efflux pump genes. *PLoS One*. 2017;12(4):e0175140.
155. Kuntaman K, Shigemura K, Osawa K, Kitagawa K, Sato K, Yamada N, et al. Occurrence and characterization of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli: A collaborative study of antibiotic-resistant bacteria between Indonesia and Japan. *Int J Urol*. 2018;25(11):966–72.
156. Brusselaers N, Monstrey S, Snoeij T, Vandijck D, Lizy C, Hoste E, et al. Morbidity and mortality of bloodstream infections in patients with severe burn injury. *Am J Crit Care*. 2010 Nov;19(6):e81-7.
157. Clark NM, Patterson J, Lynch JP. Antimicrobial resistance among gram-negative organisms in the intensive care unit. *Curr Opin Crit Care*. 2003 Oct;9(5):413–23.
158. Gillings MR, Paulsen IT, Tetu SG. Genomics and the evolution of antibiotic resistance. *Ann N Y Acad Sci*. 2017 Jan;1388(1):92–107.

159. Iovleva A, Doi Y. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae. Clin Lab Med. 2017;37(2):303–15.