

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA

CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA MOLECOLARE

Direttore: Ch.mo Prof. Stefano Piccolo

U.O.C MALATTIE INFETTIVE E TROPICALI

Direttore: Ch.mo Prof.ssa Annamaria Cattelan

TESI DI LAUREA

**Sensibilità agli antibiotici di recente introduzione dei germi Gram
negativi isolati in un centro di terzo livello dal gennaio 2022 al
dicembre 2023**

Relatore: Prof. Saverio Parisi

Correlatore: Dott. Nicholas Geremia

Laureando: Francesco Pio Grosso

Anno Accademico 2023/2024

SOMMARIO

Riassunto.....	
Abstract.....	
1 Introduzione.....	1
2 Definizioni	3
3 Emergenza dei batteri mdr	4
3.1 Basi evolvuzionistiche della comparsa delle resistenze	6
3.2 Meccanismi di resistenza agli agenti antimicrobici	8
3.3 Meccanismi di resistenza nelle varie specie gram-negative batteriche e la loro diffusione sul territorio	21
4 Terapie e farmaci di nuova introduzione	39
4.1 Piperacillina/tazobactam (ptz).....	41
4.2 Ceftazolano/tazobactam (c/t).....	43
4.3 Ceftazidime/avibactam (c/a)	47
4.4 Meropenem/vaborbactam (mer/vab)	51
4.5 Imipenem/relebactam (imi/rel).....	55
4.6 Cefiderocol	56
4.7 Trimetoprim/sulfametossazolo (tmp/smx).....	58
4.8 Tigeciclina.....	60
4.9 Fosfomicina	61
4.10 Colistina.....	63
5 Scopo della tesi	65
6 Materiali e metodi	66
6.1 Disegno dello studio.....	66
6.2 Criteri di arruolamento	66
6.3 Analisi microbiologica	66

6.4	Analisi statistica.....	67
7	Risultati.....	69
7.1	Caratteristiche generali.....	69
7.2	Isolamenti per distretti sanitari.....	70
7.3	Sensibilità agli antibiotici nella famiglia enterobatterales.....	79
7.4	Sensibilità nei gram-negativi non fermentanti.....	90
7.4.1	Confronto territorio-ospedale-terapia intensiva nel 2022	90
7.4.2	Confronto territorio-ospedale-terapia intensiva nel 2023	93
8	Discussione.....	96
9	Conclusioni	100
10	Bibliografia	101

RIASSUNTO

Retrospectiva dello studio: L'antibiotico-resistenza rappresenta una sfida globale crescente, collocandosi tra le principali cause di morte a livello mondiale. La capacità dei batteri di sviluppare meccanismi di resistenza agli antibiotici ha portato ad un aumento delle infezioni difficili da trattare, incrementando la mortalità, i giorni di ospedalizzazione e i costi sanitari complessivi. In particolare, i batteri Gram-negativi evidenziano una notevole capacità di sviluppare meccanismi di resistenza. La situazione è aggravata dalla mancanza di nuovi antibiotici efficaci e dall'uso inappropriato di antibiotici sia in ambito medico che agricolo.

Scopo dello studio: Lo scopo principale di questo studio è di descrivere i dati epidemiologici-microbiologici dei batteri Gram-negativi presso l'ULSS3 Serenissima, dal 1 gennaio 2022 al 31 dicembre 2023. Gli obiettivi secondari erano: descrivere l'incidenza delle varie resistenze microbiologiche alle principali molecole antinfettive, valutare la frequenza degli isolati microbiologici e i loro meccanismi di resistenza a livello territoriale e ospedaliero (degenza ordinaria e terapia intensiva) e descrivere la frequenza delle resistenze a carico dei nuovi antibiotici, quali: Ceftolozano/Tazobactam, Ceftazidime/Avibactam, Meropenem/Vaborbactam.

Materiali e metodi: Studio osservazionale retrospettivo condotto presso l'ULSS3 Serenissima dal 1 Gennaio 2022 al 31 Dicembre 2023. Sono stati collezionati tutti gli isolamenti microbiologici da Gram Negativi nel periodo in esame. Criteri di esclusione erano: riscontro di isolamenti di Gram Positivi, riscontro di isolamenti di Fungini, riscontro di isolamenti di microrganismi anaerobi, riscontro di isolamenti di microrganismi atipici o micobatteri, isolamenti multipli avvenuti entro i 30 giorni, con stesso fenotipo, nello stesso paziente, provenienti dallo stesso distretto corporeo.

Risultati: *E. coli* ha mostrato elevata resistenza ai fluorochinoloni (32.52%), sensibilità ridotta alle cefalosporine di III generazione (17.92%). *K. pneumoniae* evidenzia elevata resistenza ai β -lattamici, cefalosporine di III generazione (62.33%) e ai carbapenemi (50.32%), resistenza ai fluorochinoloni (67.8%). *P. aeruginosa* presentava un tasso di resistenza ai carbapenemi pari a 11.32%. *A. baumannii* ha dimostrato resistenza estremamente alta ai carbapenemi (85.71% in ambito territoriale, 92.86% in terapia intensiva) e agli aminoglicosidi (90.48% in terapia intensiva).

Conclusioni: Questo studio fornisce un'importante analisi delle resistenze ai principali antibiotici utilizzati nella pratica clinica permettendo di poter impostare al meglio adeguate scelte terapeutiche, specifiche per il territorio in cui si opera.

ABSTRACT

Study background: Antibiotic resistance represents a growing global challenge, ranking among the leading causes of death worldwide. The ability of bacteria to develop mechanisms of resistance to antibiotics has led to an increase in difficult-to-treat infections, raising mortality rates, hospitalization days, and overall healthcare costs. Notably, Gram-negative bacteria exhibit a remarkable capacity to develop resistance mechanisms. The situation is exacerbated by the lack of new effective antibiotics and the inappropriate use of antibiotics in both medical and agricultural settings.

Objective: The primary aim of this study is to describe the epidemiological-microbiological data of Gram-negative bacteria at ULSS3 Serenissima, from January 1, 2022, to December 31, 2023. The secondary objectives were to describe the incidence of various microbiological resistances to major anti-infective agents, evaluate the frequency of microbiological isolates and their resistance mechanisms at the territorial and hospital levels (general wards and intensive care units), and describe the frequency of resistance to new antibiotics,

such as Ceftolozane/Tazobactam, Ceftazidime/Avibactam, and Meropenem/Vaborbactam.

Materials and methods: Retrospective observational study conducted at ULSS3 Serenissima from January 1, 2022, to December 31, 2023. All microbiological isolates of Gram-negative bacteria during the study period were collected. Exclusion criteria were: detection of Gram-positive isolates, detection of fungal isolates, detection of anaerobic microorganism isolates, detection of atypical microorganism or mycobacterial isolates, and multiple isolates occurring within 30 days, with the same phenotype, in the same patient, from the same body site.

Results: *E. coli* exhibited high resistance to fluoroquinolones (32.52%) and reduced sensitivity to third-generation cephalosporins (17.92%). *A. baumannii* demonstrated extremely high resistance to carbapenems (85.71% in the community, 92.86% in intensive care units) and to aminoglycosides (90.48% in intensive care units). *K. pneumoniae* showed high resistance to β -lactams, third-generation cephalosporins (62.33%), carbapenems (50.32%), and fluoroquinolones (67.8%). *P. aeruginosa* exhibited carbapenem resistance rates of 11.32%.

Conclusions: This study provides an important analysis of resistance to the main antibiotics used in clinical practice, allowing for the optimal establishment of appropriate therapeutic choices, specific to the region in which one operates.

1 INTRODUZIONE

La resistenza agli antibiotici, o antibiotico-resistenza, è un fenomeno naturale biologico di adattamento di alcuni microrganismi, i quali acquisiscono la capacità di sopravvivere e/o di crescere in presenza di una concentrazione di un agente antibatterico, che è generalmente sufficiente ad inibire o uccidere microrganismi della stessa specie(1). Ciò determina una ridotta efficacia nel trattamento delle infezioni e quindi ad un aumento della mortalità, dei giorni di ospedalizzazione e quindi dei costi.

Il fenomeno dell'antibiotico-resistenza è ormai divenuto uno dei maggiori problemi per la salute a livello globale collocandosi tra le prime dieci cause di morte. Si assiste ad un aumento della percentuale di infezioni resistenti alla terapia antibiotica assieme ad una mancanza dell'introduzione di nuovi farmaci antimicrobici(2). Si stima che nel 2019, 4.5 milioni di morti siano associati a batteri resistenti (AMR) e che di questi 1.7 milioni siano attribuibili ad essi(3). Stime dell'organizzazione mondiale della sanità (WHO) prevedono che i morti causati da organismi AMR saliranno a circa dieci milioni all'anno nel 2050, rappresentando una delle tre principali cause di morte a livello globale(4).

L' aumento delle percentuali di batteri resistenti è dovuto a diversi fattori:

- Mancanza di un'identificazione rapida del patogeno causante la malattia con conseguente inizio di terapia non corretta.
- Condizioni igieniche e misure di prevenzione non adeguate.
- Uso non necessario in agricoltura e in allevamento di antibiotici.
- Uso inappropriato da parte dei pazienti e overprescrizione, da parte dei medici, di terapia antibiotica nell'uomo(5). In particolare, in Italia l'uso di antibiotici è tra i più elevati in Europa con un valore di 17,1 dosi ogni mille abitanti die (DDD). Sono presenti differenze interregionali: infatti al Sud si registra un consumo più alto (15,3 DDD) rispetto al Nord (8,7 DDD) e al

Centro (12,0 DDD), valori preoccupanti se si considera che la media europea si attesta a 3,7(6).

Siccome le percentuali di suscettibilità variano in maniera significativa in base all'area che si considera per impostare una corretta terapia empirica che non favorisca l'aumentare di questo fenomeno è importante conoscere qual è la situazione nel territorio in cui si opera. Dunque, un programma di controllo delle resistenze sul territorio è estremamente rilevante e deve essere aggiornato frequentemente. Infine, un programma di sorveglianza dovrebbe fornire dati sulle suscettibilità in ambiente ospedaliero in particolare separando i dati dei vari reparti dalle terapie intensive(7).

2 DEFINIZIONI

Per comprendere meglio il fenomeno dell'antibiotico-resistenza è cruciale introdurre il concetto di organismi MDR, XDR, PDR:

- Microrganismi multidrug-resistant (MDR) sono definiti tutti quegli organismi che, mediante diversi meccanismi, acquisiscono resistenza ad almeno un agente in tre o più categorie antimicrobiche.
- Microrganismi extensively drug-resistant (XDR) sono definiti tutti quegli organismi che, mediante diversi meccanismi, acquisiscono resistenza a tutte le categorie antimicrobiche eccetto due o meno.
- Microrganismi pandrug-resistant (PDR) sono definiti tutti quegli organismi che, mediante diversi meccanismi, acquisiscono resistenza a tutte le categorie antimicrobiche(8).

Una grande proporzione delle infezioni resistenti identificate nella medicina clinica può essere attribuita a un gruppo specifico di patogeni che include *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e altri membri del gruppo *Enterobacterales*, noti come organismi "ESKAPE". Questi patogeni condividono una serie di caratteristiche comuni, in particolare la capacità di prosperare nell'ambiente sanitario moderno e di possedere un insieme di determinanti di resistenza, sia intrinseci che acquisiti, che li ha resi una causa rilevante di infezioni resistenti nel tempo(9).

3 EMERGENZA DEI BATTERI MDR

Recentemente l'OMS ha pubblicato la lista dei patogeni prioritari batterici (BPPL) per il 2024: sono state descritte quindici famiglie di batteri resistenti agli antibiotici a loro volta suddividendoli in tre categorie di priorità: priorità critica, alta e media. Questa lista ha l'obiettivo di redigere linee guida migliori per delineare i trattamenti necessari a fermare la diffusione della resistenza antimicrobica (AMR) e orientare la ricerca e la creazione di nuovi antibiotici. I patogeni classificati a priorità critica rappresentano minacce globali significative a causa del loro elevato carico di malattia, capacità di resistere ai trattamenti e di diffondere la resistenza ad altri batteri. I patogeni di alta priorità rappresentano un carico particolarmente elevato nei paesi a basso e medio reddito, che pongono sfide significative negli ambienti sanitari e per la salute pubblica, includendo infezioni persistenti e resistenza a più antibiotici, necessitando di ricerche e interventi mirati. I patogeni di media priorità presentano un elevato carico di malattia in alcune aree del mondo. Questi richiedono maggiore attenzione, soprattutto nelle popolazioni vulnerabili, inclusi bambini e anziani, in contesti a risorse limitate(10).

Gli agenti eziologici citati dall'OMS sono riportati in figura 1.

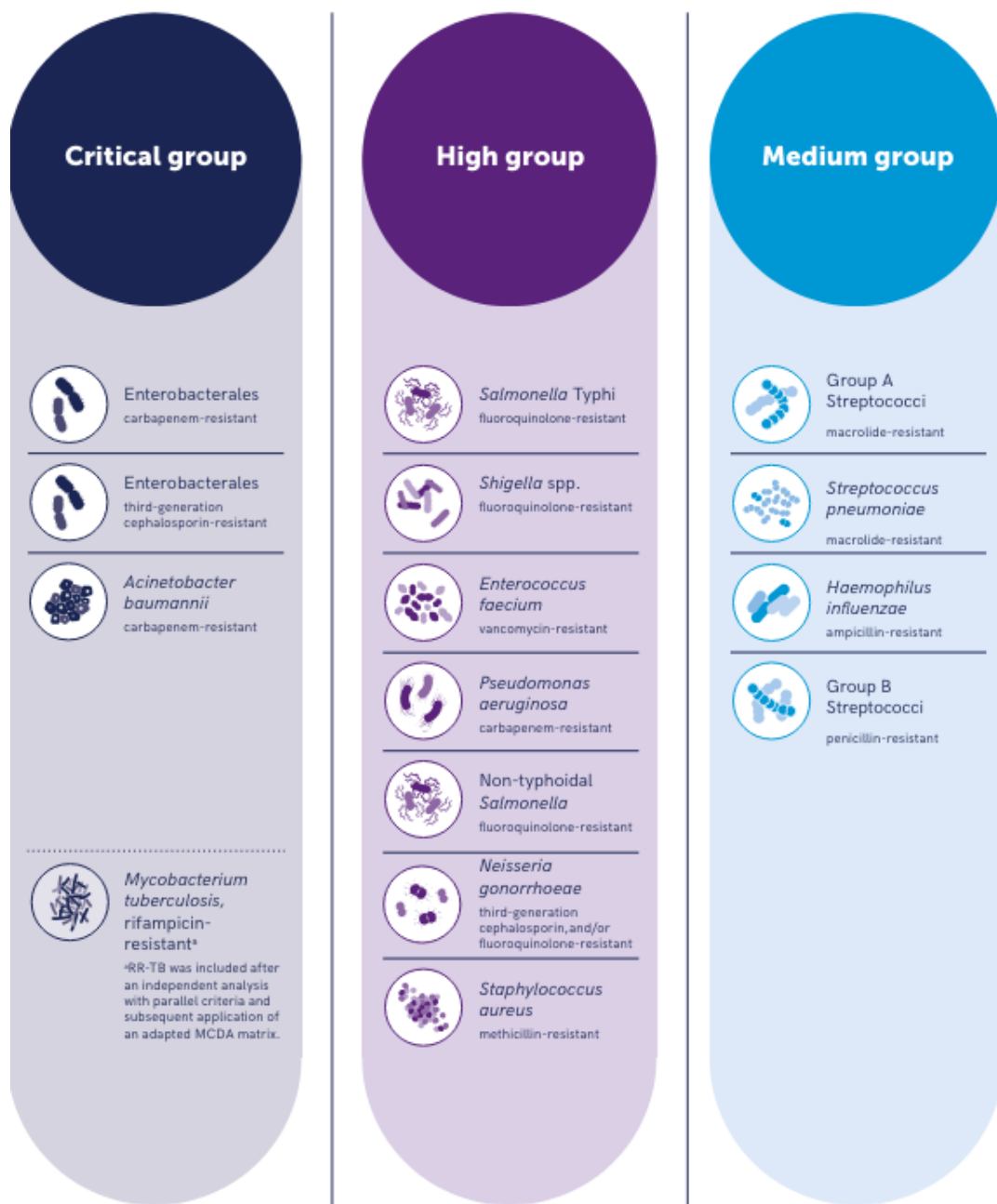


Figura 1 Lista di priorità dei patogeni OMS, maggio 2024 (10)

3.1 BASI EVOLUZIONISTICHE DELLA COMPARSA DELLE RESISTENZE

I batteri presentano una significativa plasticità genetica, tale da permettere loro di modificare il proprio patrimonio genetico in ambienti selettivi. Le resistenze hanno come base molecolare la mutazione di geni codificanti per proteine con ruoli diversi:

- Proteina bersaglio (target): le mutazioni determinano una riduzione della capacità di legare il farmaco.
- Trasporto: queste mutazioni impediscono che il farmaco possa localizzarsi nel sito d'azione. Possono riguardare pompe di efflusso, che estrudono il farmaco dal compartimento dove dovrebbe agire, oppure la permeabilità di membrana
- Proteina fondamentale per l'inattivazione del farmaco.
- Promotore che influenza l'espressione del target. Attraverso una produzione eccessiva del target si bypassa l'azione sulla via metabolica inibita dall'antibiotico.
- Sostituzione del target: formazione di nuovi target che svolgono funzioni simili a quelle del target originale, ma che, a differenza di quest'ultimo non possono essere inibite dalla molecola antimicrobica. In questo modo si bypassa l'azione del farmaco.

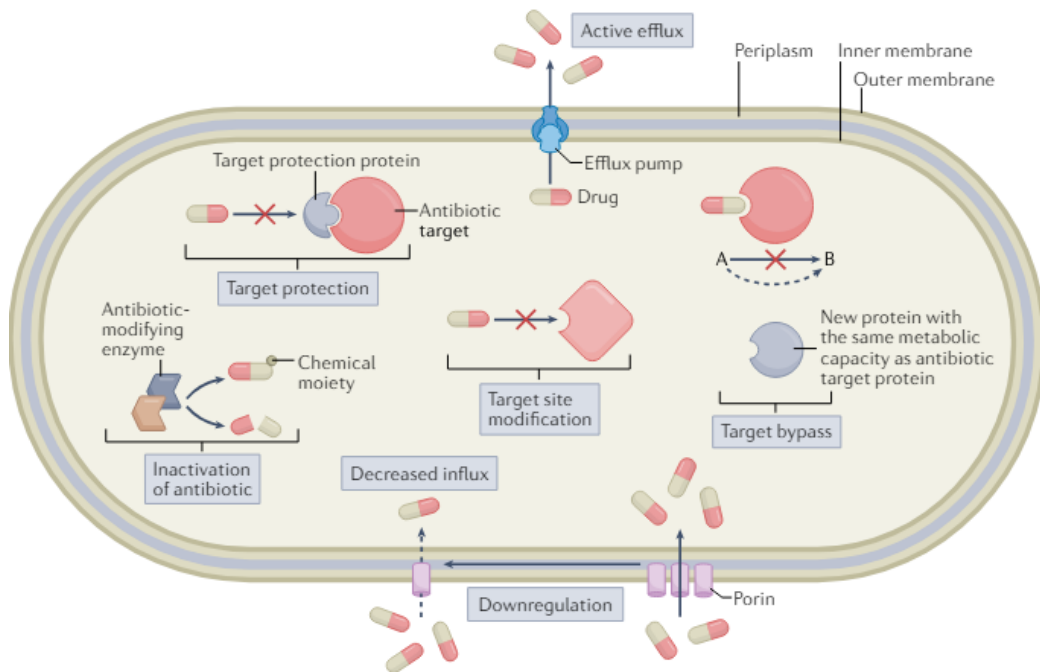


Figura 2 Panoramica dei meccanismi molecolari di antibiotico-resistenza (11)

Per quanto riguarda il modo in cui queste resistenze possono diffondersi, sono stati descritti due meccanismi:

- Trasmissione verticale: passaggio di mutazioni cromosomiche dalla cellula madre alle cellule figlie. Poiché conferiscono un importante vantaggio nella sopravvivenza, queste mutazioni vengono selezionate a causa della pressione effettuata dagli antibiotici.
- Trasmissione orizzontale: acquisizione di materiale genetico da ceppi resistenti della stessa specie e no. Rappresenta il meccanismo principale dello sviluppo di antibiotico-resistenza.

La trasmissione orizzontale può avvenire mediante tre meccanismi principali:

- Coniugazione: trasferimento di materiale genetico tra due batteri per contatto diretto tramite pilo sessuale o ponte. In questo modo è possibile trasferire molteplici geni appartenenti a plasmidi identici o diversi. Tale fenomeno rimane il meno efficiente, ma acquisisce una rilevanza maggiore a causa della pressione selettiva, effettuata dagli antibiotici, che

determina la comparsa di ceppi selettivi. Tale trasferimento è molto comune tra bacilli Gram-negativi.

- Trasformazione: acquisizione mediante captazione e incorporazione nel materiale genetico del batterio mediante ricombinazione omologa di DNA libero rilasciato da ceppi resistenti in ambiente libero.
- Trasduzione: acquisizione di DNA batterico che è stato incorporato nel rivestimento proteico esterno di un fago. Quest'ultimo venendo a contatto con un batterio sensibile causa l'acquisizione, mediante crossing-over, del materiale genico con conseguente formazione di cromosoma ricombinante.

3.2 MECCANISMI DI RESISTENZA AGLI AGENTI ANTIMICROBICI

3.2.1 RESISTENZA AI β -LATTAMICI

I β -lattamici sono strutturalmente caratterizzati dalla presenza di un anello tiazolidinico legato ad un anello β -lattamico, a cui è attaccata una catena laterale. L'integrità strutturale del nucleo è fondamentale per il mantenimento della sua attività biologica, mentre le catene laterali possono determinare una differente attività antimicrobica e una diversa sensibilità agli enzimi inattivanti delle β -lattamasi. Uno degli elementi strutturali principali della parete della maggioranza dei batteri è il peptidoglicano la cui struttura principale è una catena di 10-65 residui disaccaridici composti da molecole di N-acetilglucosina alternate a molecole di acido N-acetilmuramico. A loro volta le catene sono legate mediante ponti peptidici per formare una struttura rigida che avvolge il batterio. Per la formazione delle catene e dei legami tra esse è necessaria l'azione di diversi enzimi tra cui: transpeptidasi, transglicosilasi, carbossipeptidasi (gruppo di serina proteasi). Quest'ultimi tre vengono anche denominati PBP (proteine leganti penicillina) in quanto bersagli degli antibiotici β -lattamici che, una volta legati le PBP di batteri in attiva replicazione, ne determinano l'inattivazione con impossibilità di formazione dello strato di peptidoglicano a cui consegue l'attivazione di auto-lisine e quindi morte della cellula batterica.

Fanno parte della categoria dei β -lattamici le seguenti classi di antibiotici:

- Penicilline
- Cefalosporine
- Carbapenemi
- Monobattami

Questi antibiotici rappresentano, nonostante l'aumento delle resistenze, la classe di antibiotici più largamente utilizzata negli USA, infatti, tra tutte le prescrizioni di antibiotici iniettabili, il 65% è rappresentato dai β -lattamici(12). Si tratta di farmaci ben tollerati: l'unico problema di tossicità è rappresentato dalla risposta allergica che è presente solo in una bassa percentuale della popolazione. Si tratta di agenti di batterici che si legano covalentemente alle PBPs: quest'ultimi rappresentano enzimi indispensabili per la formazione del peptidoglicano, il quale è un costituente strutturale fondamentale della membrana batterica sia nei Gram-negativi che nei Gram-positivi. Ogni specie batterica possiede il proprio set distintivo di PBP che può variare dai 3 agli 8 enzimi per specie. La penicillina, o un altro β -lattamico, si lega al sito funzionale serinico della PBPs inattivandolo e, dunque, determinando la mancata formazione dei legami del dipeptide terminale D-Ala-D-Ala.

Le PBPs possono essere divise in due classi: a basso peso molecolare e ad alto peso molecolare. Le prime funzionano principalmente come carbossipeptidasi D-Ala-D-Ala e quelle ad alto peso molecolare possono essere a loro volta distinte in classe A (enzimi bifunzionali con azione sia di transeptidasi che di transglicosilasi) mentre quelle di classe B (transeptidasi D-Ala-D-Ala dipendenti). È riconosciuto che almeno un PBP è essenziale in ogni specie batterica. Nei gram-negativi i PBPs essenziali includono:

- PBPs ad alto peso molecolare 1a e 1b la cui inattivazione scaturisce nella lisi della cellula;
- PBP2 la cui inibizione determinano cessazione della divisione della cellula;

- PBP3 la cui inibizione arresta la divisione cellulare ed esitando in filamentazione.

Per quanto riguarda le penicilline, la penicillina G è stato il primo β -lattamico ad essere stato clinicamente usato (trattamento d'infezioni streptococciche), mentre la penicillina V è somministrata oralmente ed è ancora utilizzata nella profilassi e nella terapia di infezioni lievi-moderate da parte di *Streptococchi suscettibili*. Tra le penicilline stabili di significato clinico si menzionano la Meticillina, Oxacillina, Cloxacillina e Nafcillina utilizzate in infezioni della pelle, infezioni correlate a cateteri e batteriemia da *S. aureus meticillina-suscettibile*. Tra le penicilline con migliore attività contro i Gram-negativi si ritrovano l'Ampicillina e Amoxicillina, entrambi introdotti negli anni Settanta del secolo scorso e usati soprattutto per infezioni da *Enterobatterales*. Tuttavia, questi farmaci non inibivano in maniera efficace la crescita di *Pseudomonas aeruginosa*: infatti, il primo antibiotico anti-pseudomonas fu la Carbenicillina che risulta meno potente della Piperacillina e della Ticarcillina che sono diffusamente utilizzate per trattare infezioni nosocomiali; specialmente se combinati a inibitori della β -lattamasi. Due penicilline ad uso parenterale con una struttura insolita sono Mecillinam e la Temocillina. Il Mecillinam si lega esclusivamente alle PBP2 nei batteri enterici e può essere utilizzato con effetto sinergico in combinazioni con β -lattamici che si legano alle PBP 1a, 1b e/o alle PBP3(12): in questo modo viene diminuita la possibilità che una mutazione puntiforme in un singolo PBP possa determinare resistenza. Per quanto riguarda la Temocillina, essa ha un'ottima stabilità, ma ha perso la propria attività antibatterica contro molti gram-negativi anaerobici e gram-positivi e ad alcuni batteri enterici come le *Enterobatterales* e la *Serratia marcescens*. Il Mecillinam e la Temocillina stanno attualmente avendo un rinnovato interesse perché stabili a molti ESBLs. Siccome l'aumentato numero di β -lattamasi ha compromesso l'utilizzo della penicillina in monoterapia, Ampicillina Amoxicillina, Piperacillina e la Ticarcillina continuano ad essere utili primariamente in combinazioni con un inibitore appropriato delle β -lattamasi. Tuttavia, è da evidenziare che Ampicillina, Amoxicillina, Penicillina G e V

risultano ancora attive in monoterapia contro alcuni *Streptococchi (gruppo a)* e contro il *Treponema pallidum* (tra i pochi batteri che non producono b-lattamasi)

Le cefalosporine sono molecole contenenti l'acido 7-amminocefalosporanico, sono relativamente stabili e resistenti alle penicillinasi. Infatti, per trattare le infezioni causate dal principale patogeno produttore di penicillinasi di interesse medico negli anni Ottanta del secolo scorso, *S. aureus*, sono state introdotte dozzine di cefalosporine nella pratica clinica, sia come agenti parenterali che orali. Queste molecole hanno dimostrato attività antibatterica con MIC spesso inferiori a 4 mg/mL non solo contro gli stafilococchi, ma anche contro *Streptococcus pneumoniae* e batteri enterici non produttori di beta-lattamasi. In passato si utilizzava una classificazione arbitraria per generazioni: basata su caratteristiche generali dell'attività antimicrobica, attualmente è stata in parte mantenuta. Le cefalosporine di I generazione (es. cefazolina, cefalexina e cefadroxil) hanno una buon'attività contro i batteri Gram-positivi e attività modesta nei confronti dei Gram-negativi. Le cefalosporine di II generazione, invece, hanno maggiore attività contro i Gram-negativi, seppur minore di quella appartenente alle molecole di III generazione che risultano meno attivi contro i Gram-positivi, ma sono altamente efficaci contro *Enterobatterales*. Le cefalosporine efficaci contro *Pseudomonas aeruginosa* comprendono ceftadizima e la cefepima.

Le prime cefalosporine, come quelle appartenenti alla sottoclasse delle cefalosporine di I generazione (introdotte prima del 1980), erano labili all'idrolisi da parte di molte beta-lattamasi emerse dopo la loro introduzione nella pratica clinica, tanto che solo poche delle prime molecole rimangono in uso principalmente per trattare infezioni cutanee lievi o moderate causate da *S. aureus meticillino-sensibile (MSSA)*. La cefazolina, con alte concentrazioni biliari, è ancora utilizzata per la profilassi chirurgica e per il trattamento delle infezioni addominali.

I carbapenemi sono derivati beta-lattamici che contengono un anello beta-lattamico fuso con un anello a cinque atomi, che differisce da quello delle penicilline perché insaturo e con un atomo di carbonio anziché un atomo di zolfo, con uno spettro di attività più ampio rispetto a quello di altri antibiotici della stessa classe.

Per quanto riguarda i Monobattami, essi contengono un anello β -lattamico fuso con un anello fuso e non un anello tiazolidinico o diidrotiazinico. Ad oggi l'unico antibiotico appartenente a questa classe è rappresentato da Aztreonam.

Per quanto concerne i batteri, essi sviluppano resistenze ai β -lattamici mediante tre meccanismi principali:

- Riduzione della concentrazione di antibiotico nel sito target: questo meccanismo è descritto solo per i Gram-negativi a causa della presenza della loro membrana esterna che protegge il sottile strato di peptidoglicano. Modificazioni delle porine che costituiscono i pori possono cambiarne le dimensioni e/o la carica ostacolando il passaggio dell'antibiotico attraverso la membrana esterna. Possono anche verificarsi meccanismi di efflusso attivo o pompaggio(13);
- Riduzione del legame alle PBP: questo fenomeno può avvenire per sovrapproduzione di PBP (raro), acquisizione di nuove PBP, modificazione della struttura delle PBP mediante mutazione puntiforme o ricombinazione genetica(13);
- Produzione di β -lattamasi che, mediante idrolisi, inattivano i β -lattamici;

Le β -lattamasi ad oggi scoperte sono più di 4000 e poiché presentano attività e caratteristiche diverse possono essere classificate secondo Bush–Jacoby–Medeiros (basata su un aspetto funzionale)(14) oppure secondo Amber (tabella I) che prevede la distinzione in quattro gruppi distinti (A, B, C, D) (figura3). Quest'ultima tiene conto sia delle diverse sequenze che compongono l'enzima sia del meccanismo di idrolisi(15).

Type	Ambler Molecular Class	Characteristics	Examples of Enzymes
Narrow-spectrum β -lactamases ^{12,18,19}	A	Hydrolyze penicillin; produced primarily by <i>Enterobacteriaceae</i>	Staphylococcal penicillinase, TEM-1, TEM-2, SHV-1
Extended-spectrum β -lactamases ²⁰	A	Hydrolyze narrow and extended-spectrum β -lactam antibiotics	SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
Serine carbapenemases ²⁰	A	Hydrolyze carbapenems	KPC-1, IMI-1, SME-1
Metallo- β -lactamases ^{21,22}	B	Hydrolyze carbapenems	VIM-1, IMP-1, NDM-1
Cephalosporinases ^{19,23,24}	C	Hydrolyze cephamycins and some oxymino β -lactams; inducible; chromosomally mediated	AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
OXA-type enzymes ²⁵⁻²⁷	D	Hydrolyze oxacillin, oxymino β -lactams, and carbapenems; produced by <i>Pseudomonas aeruginosa</i> and <i>Acinetobacter baumannii</i>	OXA enzymes

Tabella I Classificazione di Amber (15)

Le β -lattamasi del gruppo A hanno un residuo di serina nel sito catalitico (come le classi C e D) e sono le più diffuse e studiate.

Fanno parte di questo gruppo:

- PC1: conferisce resistenza alle penicilline al *S. aureus*.
- TEM: identificata nei plasmidi dei Gram-negativi, conferisce resistenza all'aminopenicilline e alle cefalosporine delle prime generazioni.
- SHV: variante sulfadrile con azione simile a TEM.
- CTX-M: cefotaximasi, enzima attivo contro le oximino-cefalosporine cefotaxime.
- KPC (Carbapenemasi in *Klebsiella pneumoniae*).

Questi enzimi si sono rapidamente e ampiamente diffusi a livello globale perché codificati in sequenze plasmidiche e anche per il fatto che mutazioni puntiformi (in particolare di TEM e SHV) hanno causato resistenza ad un ampio gruppo di oximino-cefalosporine come cefotaxime e ceftazidime generando il fenotipo ad ampio spettro di β -lattamasi (ESBLs). Questo fenotipo minaccia continuamente l'efficacia delle cefalosporine in diversi ambienti sanitari(16).

Le β -lattamasi di classe B (anche chiamate metallo- β -lattamasi BPLs) sono caratterizzate dalla presenza di due atomi di zinco nel sito catalitico per l'attacco nucleofilo dell'anello β -lattamico. Presentano uno spettro d'azione più ampio

rispetto alla classe A: questi enzimi sono infatti in grado di inibire penicilline, cefalosporine e carbapenemi(15) anche se dimostrano nessuna o poca efficacia contro i monobattami(17,18).

Le β -lattamasi di classe C sono ampiamente distribuite nei cromosomi di molte specie di Gram-negativi. Molti dei più importanti patogeni opportunisti Gram-negativi possiedono geni cromosomici che codificano per enzimi di classe C, tipicamente annotati come ampC, che in condizioni normali non sono espressi. Tuttavia, la de-repressione di questi geni, sia a seguito di mutazioni che per induzione da specifici β -lattamici, può portare a un'espressione elevata con conseguente aumento delle MIC (concentrazioni minime inibitorie) per i β -lattamici suscettibili. La rilevanza clinica degli enzimi di classe C è ulteriormente accentuata dalla diffusione di alcuni membri della famiglia, come gli enzimi CMY, FOX e DHA, su elementi genetici mobili sia negli Enterobacteriaceae che in specie non fermentanti come *P. aeruginosa*(15). Le β -lattamasi di classe C non sono generalmente considerate in grado di avere attività carbapenemasi, e si ritiene che il coinvolgimento nella resistenza ai carbapenemi derivi dalla capacità dei ceppi che combinano una permeabilità ridotta (ad esempio, perdita o mutazione delle porine) con una sovraespressione degli enzimi di classe C di sequestrare i carbapenemi peri-plasmatici prima che possano raggiungere i loro bersagli PBP(19). Tuttavia, sono emerse segnalazioni che identificano specifici enzimi di classe C come capaci di idrolizzare i carbapenemi (ad esempio, l'Imipenem) oltre ai substrati delle cefalosporine ad ampio spettro(20).

Gli enzimi di classe D (enzimi OXA) sono tutti (ad esclusione di OXA-18) contenuti in plasmidi. Sebbene i primi enzimi identificati avessero un'attività limitata alle penicilline, la classe OXA comprende, oggi, enzimi attivi contro cefalosporine e carbapenemi, con sensibilità agli inibitori molto variabile(15). Sebbene molti membri siano localizzati su cromosomi, la diffusione delle cefalosporinasi portate da plasmidi in *P. aeruginosa*(21), e più recentemente la diffusione degli enzimi idrolizzanti carbapenemi in *A. baumannii*(22) e negli *Enterobacterales* (in particolare *Klebsiella pneumoniae* (23)), ha aumentato la

rilevanza clinica di questa classe. La recente identificazione di enzimi OXA in una varietà di specie Gram-positivi conferma quanto sia ormai ampia la diffusione degli enzimi di questa classe.

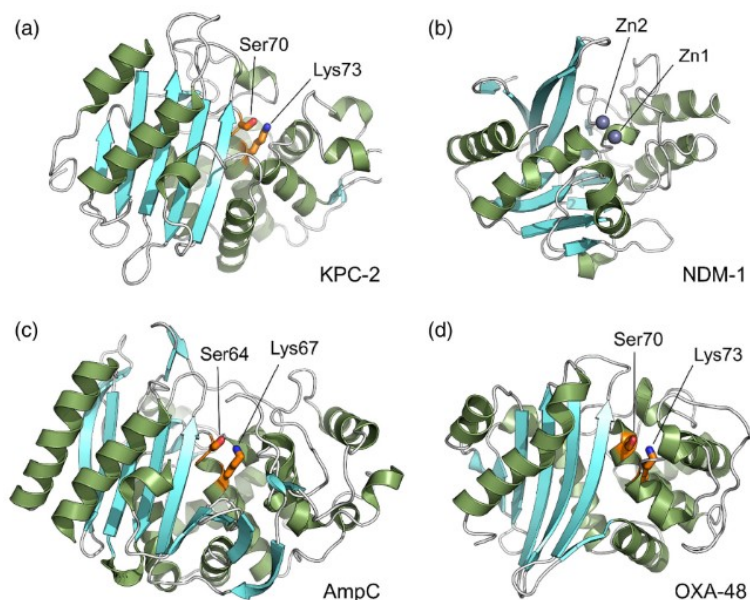


Figura 3 Struttura complessiva delle β -lattamasi rappresentative delle diverse classi. Le figure sono generate da Pymol I (www.pymol.org)(15)

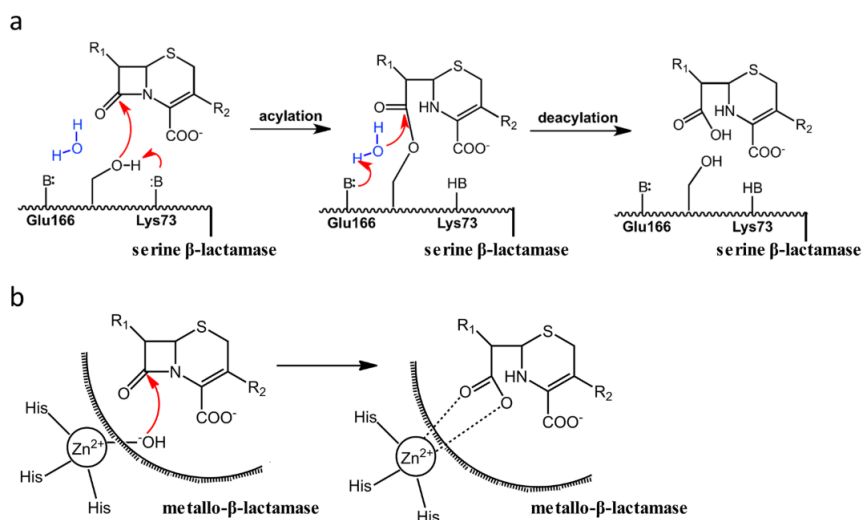


Figura 4 Meccanismo catalitico delle β -lattamasi: (a) Meccanismo delle classi A, C, D; (b) Meccanismo β -lattamasi classe B (24)

Una delle soluzioni alla minaccia delle β -lattamasi è la combinazione di antibiotici β -lattamici con inibitori delle β -lattamasi; gli inibitori esistenti inattivano la maggior parte delle β -lattamasi a serina di classe A e C, ma molte β -lattamasi di classe D e B (metallo- β -lattamasi) risultano resistenti (25). Questo argomento verrà approfondito nel capitolo 4.

3.2.2 Resistenza agli aminoglicosidi

Gli aminoglicosidi (gentamicina, tobramicina, amikacina, netilmicina, kanamicina, streptomina, paromomicina e neomicina) vengono utilizzati principalmente nel trattamento di infezioni causate da batteri aerobi Gram-negativi(26). Diffondono attraverso la membrana esterna grazie a canali acquosi (costituiti da porine) giungendo così nel periplasma, successivamente possono attraversare la membrana interna tramite trasporto energia-dipendente che dipende dal gradiente elettrico. In particolare, questo fenomeno viene sfavorito da alcuni cationi bivalenti (magnesio e calcio), iperosmolarità, riduzione del pH e condizioni di anaerobiosi: per questo motivo tale classe di antibiotici non risulta efficace contro batteri esclusivamente anaerobi e la loro attività è sfavorita in ambienti come l'ascesso o urine acide iperosmolarità(26). Una volta localizzato nel citoplasma, il farmaco agisce bloccando la sintesi proteica mediante legame con la subunità ribosomiale 30S. Viene bloccato l'inizio della sintesi proteica, interrotta prematuramente la traduzione e viene promosso l'inserimento di aminoacidi non corretti con potenziale inserimento di questi in membrana: ciò altera la permeabilità e favorisce un ulteriore ingresso di aminoglicosidi.

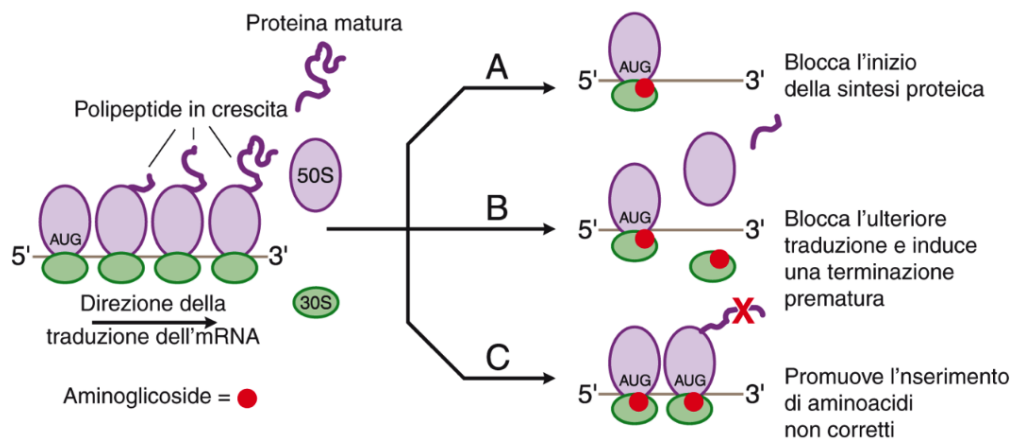


Figura 5 Meccanismo d'azione degli aminoglicosidi (26)

Meccanismi di resistenza a questa classe di antibatterici sono:

- Impossibilità di penetrazione intracellulare.
- Bassa affinità col sistema ribosomiale: generalmente specifica per la Streptomina. Un esempio è la mutazione missenso in *E. Coli* che causa sostituzione di un singolo aminoacido nella sequenza ribosomiale rendendo impossibile il legame (analogamente solo il 5% di *Pseudomonas aeruginosa* presenta tale resistenza(26)).
- Inattivazione del farmaco mediante fosforilazione, acetilazione, adenilazione da parte di enzimi batterici. Questa ampia famiglia di enzimi è suddivisa in tre sottoclassi, basate sul tipo di modifica chimica che applicano ai loro substrati di aminoglicosidi: N-acetiltransferasi (AAC), O-nucleotidiltransferasi(ANT) e O-fosfotransferasi(APH). Ogni enzima modificatore degli aminoglicosidi (AME) altera un aminoglicosidico in una posizione specifica. Inoltre, stanno emergendo patogeni con resistenze doppie come AAC(6')-Ie/APH(2'')-Ia, isolato da *Staphylococcus aureus*, 4 ANT(3'')-Ii/AAC(6')-IId dalla *Serratia marcescens*, 115–117 and AAC(6')-30/AAC(6')-Ib da *Pseudomonas aeruginosa*(27).

3.2.3 Resistenza ai macrolidi

Gli antibiotici di questa classe sono batteriostatici e agiscono legandosi reversibilmente alla subunità 23Rs del complesso ribosomiale batterico 50S

andando a bloccare il processo di traslocazione. Tra i macrolidi utilizzati in ambito clinico si ritrovano: eritromicina, claritromicina, azitromicina, fidaxomicina. I meccanismi di resistenza possono essere:

- Mutazione 23S rRNA. I macrolidi interagiscono principalmente con i residui A2058 e A2059 del 23S rRNA. Mutazioni a questo livello sono state trovate in molti ceppi batterici resistenti ai macrolidi, generalmente in patogeni (*Mycobacterium*, *Brachyspira*, *Helicobacter*, *Treponema*) con una o due copie del gene *rrl*, che codifica per il 23S rRNA o, nei patogeni con tre o più geni rRNA, possono svilupparsi durante il trattamento cronico con macrolidi. Mutazioni in queste posizioni, così come in G2057 in combinazione con A2059, e in C2611, sono state trovate in isolati clinici e di laboratorio di *S. pneumoniae*(28).
- Mutazioni nei geni che codificano per le proteine ribosomali L4 e L22, isolati in *E. coli* e in *S. pneumoniae*, possono conferire resistenza all'eritromicina e ridotta suscettibilità alla telitromicina.
- Geni *erm*: codificano per una RNA metiltransferasi che aggiunge uno o due gruppi metilici al gruppo amminico esociclico di A2058, situato nel tunnel di uscita del peptide (PET) del 23S rRNA. Questi geni possono essere sia inducibili mediante pressione biologica data dagli antibiotici, sia espressa costitutivamente. Oltre a conferire resistenza ai macrolidi e ai ketolidi, viene determinata anche una resistenza ad altre due classi di antibiotici, i lincosamidi e le streptogramine B, conferendo all'ospite un fenotipo MLSBK(28).

3.2.4 Resistenza ai glicopeptidi

I glicopeptidi sono una classe di farmaci antibatterici che interferisce con la formazione della parete cellulare batterica mediante legame ad alta affinità alle terminazioni D-alanil-D-alanina (D-Ala-D-Ala) delle unità precursori della parete cellulare e rendendole inaccessibile all'enzima transglicosilasi, che ha la funzione di legare i monomeri di disaccaridepentapeptide al peptidoglicano. Fanno parte di questa classe: vancomicina, dalbavancina, teicoplanina. È da evidenziare che le

grandi dimensioni molecolari impediscono a questi composti di attraversare la membrana esterna dei batteri Gram-negativi che risultano, dunque, intrinsecamente resistenti. Per quanto riguarda i Gram-positivi il principale meccanismo di resistenza alla vancomicina è dovuto alla presenza di enzimi che producono precursori a bassa affinità di legame, nei quali il residuo carbossi-terminale D-alanina viene sostituito da D-lattato, causando una diminuzione di affinità di legame di 1000 volte a per perdita di un'interazione a legame idrogeno, oppure da D-serina, causando una diminuzione di affinità di legame di sei volte, probabilmente a causa dell'ingombro sterico(29). Organismi come *Enterococcus faecium* ed *Enterococcus faecalis* hanno acquisito resistenza mediante geni (principalmente VanA e VanB, localizzati su plasmide) che mediano modificazioni delle sequenze terminali del pentapeptide compromettendo fortemente l'efficacia della Vancomicina. Da evidenziare il passaggio di questi geni da *Enterococcus faecalis* a *S. aureus* multiresistente per traslocazione del trasposone: si è quindi venuto a creare un plasmide di *S. aureus* contenente geni per la resistenza a β -lattamici, vancomicina, aminoglicosidi(30).

3.2.5 Resistenza ai fluorochinoloni

La resistenza ai Fluorochinoloni è emersa progressivamente dagli anni '90 del secolo scorso a causa del loro utilizzo su larga scala. Queste molecole inibiscono due enzimi: la girasi e la topoisomerasi IV che sono implicati nella risoluzione dei superavvolgimenti del DNA batterico formati durante la replicazione. Appartengono a questa classe di farmaci antibatterici: Norfloxacin, ciprofloxacina, ofloxacina (seconda generazione), levofloxacina, sparfloxacina, e moxifloxacina (chinoloni di nuova generazione). I meccanismi di resistenza comprendono:

- Alterazioni mutazionali nell'affinità al bersaglio farmacologico
- Espressione di pompe di efflusso (meccanismo cromosomico)
- Espressione di proteine Qnr (meccanismo plasmidico)

Le mutazioni di resistenza in uno o entrambi i due enzimi bersaglio del farmaco si trovano comunemente in un dominio localizzato delle sottounità GyrA e ParC rispettivamente codificanti l'enzima girasi e topoisomerasi IV. Le citate modificazioni del target causano una riduzione dell'affinità legame del farmaco al complesso enzimatico-DNA. Altre mutazioni di resistenza si verificano nei geni regolatori che controllano l'espressione delle pompe native di efflusso localizzate nelle membrane batteriche. Queste pompe hanno ampi profili di substrato e possono includere anche altri antimicrobici. Anche in questo caso mutazioni di entrambe le tipologie possono accumularsi in batteri che si trovano in ambienti con forte pressione selettiva producendo ceppi altamente resistenti. Vengono inoltre descritti meccanismi di resistenza acquisiti su plasmidi, che conferiscono resistenza di basso livello e che promuovono la selezione della resistenza mutazionale di alto livello. Infine, seppur più rara, esiste anche un meccanismo di resistenza codificato a livello del plasmide: questi geni determinano l'espressione di proteine Qnr che si legano e proteggono le girasi e le topoisomerasi IV dall'azione del chinoloni. I plasmidi con questi meccanismi spesso codificanti ulteriori co-resistenze ad altri antibiotici(31).

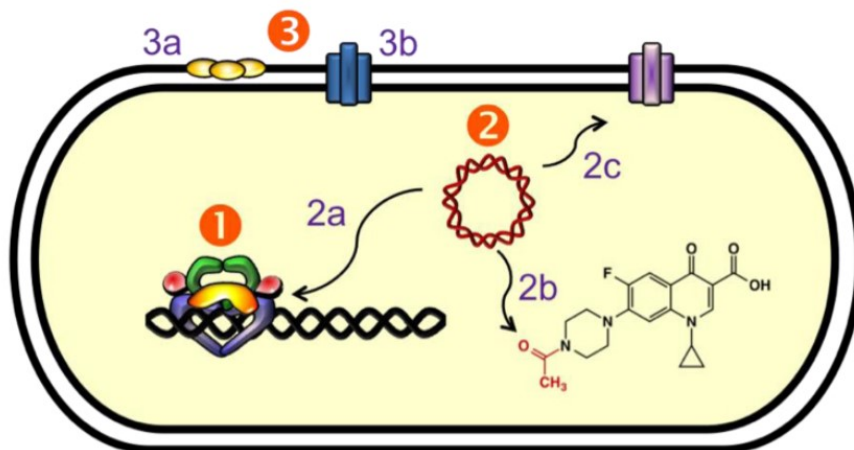


Figura 6 Meccanismi di resistenza ai chinoloni. (1) Resistenza target-mediata. La mutazione nella girasi e topoisomerasi IV indebolisce l'interazione enzima-chinolone. (2) Resistenza plasmide-mediata. (2a) Proteine Qnr (in giallo) proteggono enzima dal farmaco (2b) Aac(6')-Ib-cr è un'acetiltransferasi degli

aminoglicosidi che acetila l'azoto libero sull'anello C7 della ciprofloxacina e della norfloxacina, diminuendone l'efficacia. (2c) Le pompe di efflusso codificate da plasmidi diminuiscono la concentrazione di chinoloni nella cellula. (3) Resistenza mediata dal cromosoma. (3a) La sottoespressione delle porine nelle specie Gram-negative diminuisce l'assorbimento del farmaco. (3b) La sovraespressione delle pompe di efflusso codificate dal cromosoma diminuisce la ritenzione del farmaco nella cellula.

3.3 MECCANISMI DI RESISTENZA NELLE VARIE SPECIE GRAM-NEGATIVE BATTERICHE E LA LORO DIFFUSIONE SUL TERRITORIO

3.3.1 Acinetobacter baumannii

Appartenente alla specie degli *Acinetobacter*, *A. baumannii* è un coccobacillo non fermentante. Attualmente rappresenta una delle principali causa di infezioni nosocomiali per l'intero sistema sanitario mondiale: è stato riconosciuto come un'importante causa di polmoniti, meningiti, setticemia, infezioni del tratto urinario e per le infezioni di ferite cutanee. Come meccanismi di resistenza, *A. baumannii* ha sviluppato β -lattamasi di tutte le classi di Amber, pompe di efflusso, mutazioni *gyrA* e *parC* per girasi e topoisomerasi IV, produzione di enzimi modificanti gli aminoglicosidi (AMEs). A causa dell'acquisizione di questi diversi meccanismi di resistenza che hanno reso questo batterio XDR e PDR in diversi paesi, la mortalità attribuibile a questo patogeno va dal 5% nei vari reparti ospedalieri (non ICU) al 54% nelle terapie intensive (ICU)(32). Per gli organismi sensibili, la classe dei carbapenemi è quella di riferimento per la terapia: ad esempio imipenem-cilastatina, meropenem o doripenem, dove l'imipenem è storicamente considerato lo standard di riferimento per la gestione della polmonite necessitante ventilazione (VAP) causata da questo organismo. Poiché gli isolati sensibili all'imipenem possono essere resistenti al meropenem e viceversa, è consigliabile testare la sensibilità al specifico carbapenemico prima del suo utilizzo clinico. Tuttavia, i tassi di resistenza ai carbapenemici per *A. baumannii* sono aumentati notevolmente in tutto il mondo, rendendo le opzioni

terapeutiche più ristrette. Tra queste, la colistina (polimixina E) e la polimixina B vengono utilizzate per trattare la VAP, la batteriemia e la meningite da *A. baumannii*. Una delle principali limitazioni della colistina riguarda i tassi elevati di nefrotossicità e neurotossicità, così come la scarsa penetrazione nel tessuto polmonare, che ne limita l'utilità. Un altro agente da considerare è la minociclina, dove sono stati riportati esiti clinici e microbiologici positivi per i pazienti con VAP da *A. baumannii*. La tigeciclina, un antibiotico alternativo per i ceppi MDR e XDR di *A. baumannii*, è stata utilizzata con tassi di successo variabili(32). Nel periodo 2020-2022, la specie *Acinetobacter* è stata segnalata come la coinfezione batterica più frequente per i pazienti COVID-19 negli ospedali, e in particolare nelle terapie intensive, in Europa, Nord America e Medio Oriente, con alti tassi di mortalità spesso associati a resistenza multipla ai farmaci(33).

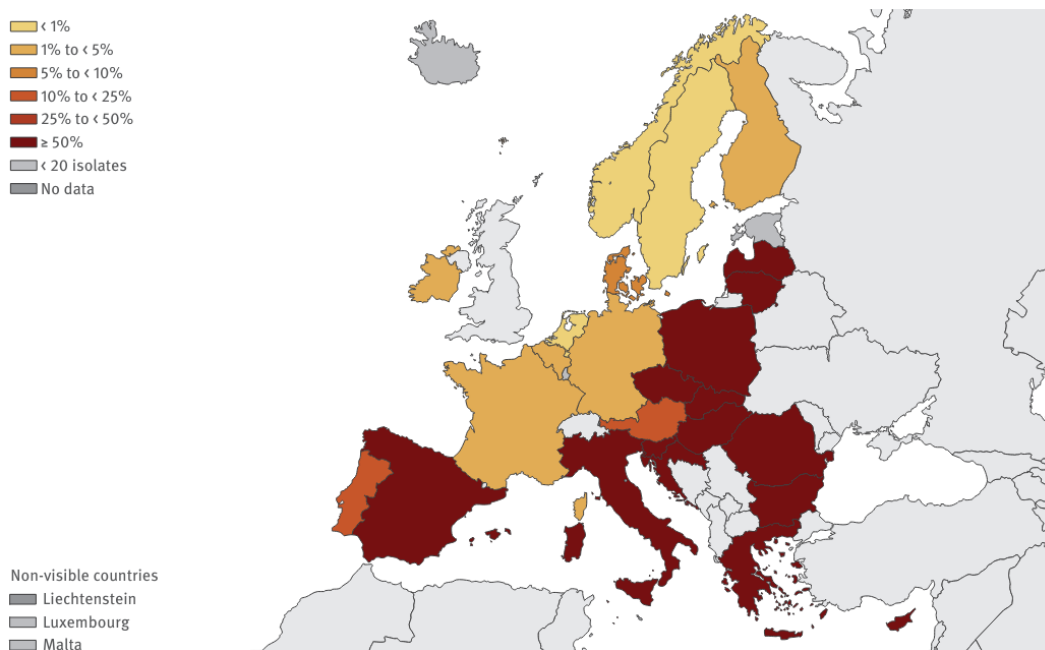


Figura 7 Percentuale di A. baumannii resistenti ai carbapenemi (imipenem/meropenem) da isolati invasivi, EU/EEA, 2021 (33)

Dal rapporto dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS), in Italia sono evidenti percentuali di resistenza e multi-resistenza notevolmente superiori alla media europea, in aumento negli ultimi anni.

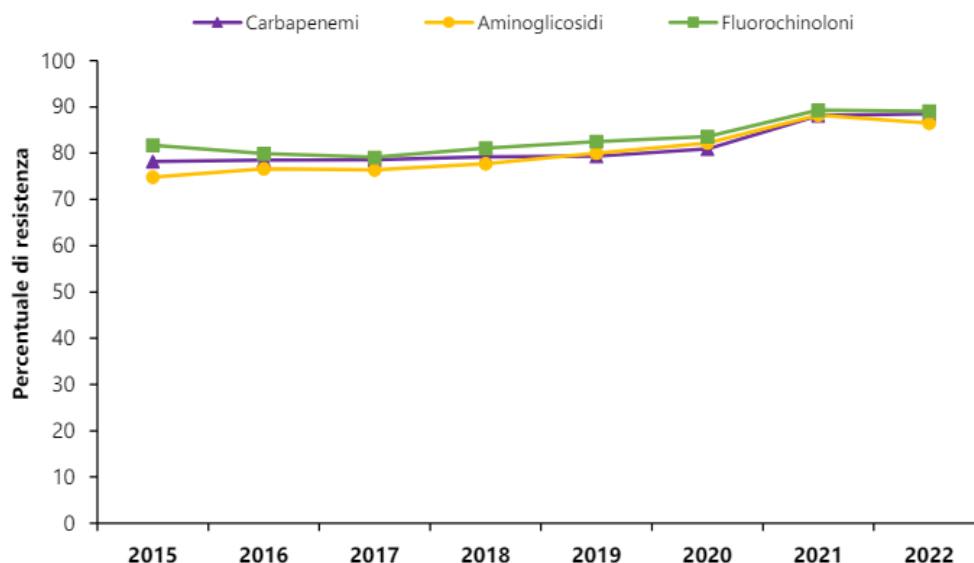


Figura 8 *Acinetobacter* spp.: resistenza a carbapenemi, aminoglicosidi e fluorochinoloni in Italia 2015-2022

3.3.2 *Escherichia coli*

E. coli è un batterio Gram-negativo caratterizzata da una forma a bastoncello, lattosio-fermentante, anaerobio facoltativo della famiglia delle *Enterobacteriales*. In condizioni fisiologiche è presente nel microbiota intestinale dell'uomo, mentre dal punto di vista patologico rappresenta la causa più comune di infezioni di origine alimentare, sepsi e infezioni del tratto urinario (più dell'80% dell'infezioni urinarie è causato da *E.coli* (34)). Infine, questo patogeno causa sia infezioni nosocomiali che acquisite in ospedale; inoltre, è associato a infezioni intra-addominali e meningiti neonatali.

Per quanto riguarda il profilo delle resistenze sono stati descritti:

- Acquisizione di β -lattamasi ESBL: in particolare AmpC, carbapenemasi e CTX-M. Quest'ultima acquisita da sequenze cromosomiche dalla specie *Kluvera* e traslocazione sul plasmide di *E.coli*.
- Pompa di efflusso: nelle *Enterobacteriales*, chiamata divisione della modulazione della resistenza (RND). Uno dei sistemi RND più caratterizzati nelle *Enterobacteriales* è il sistema di efflusso AcrAB-TolC. L'espressione dei geni AcrAB e TolC è regolata dalla proteina MarA in *E. coli*(35).

- Modificazione delle porine transmembrana (OmpF, OmpC): rendono impossibile il passaggio della vancomicina e possono essere implicate anche nella riduzione dell'efficacia dei carbapenemi (oltre che alla presenza rara di carbapenemasi).
- Sostituzione di aminoacidi nei geni per la girasi e topoisomerasi. La sostituzione degli aminoacidi avviene tra le basi 67 e 106, in particolare alle basi 83 e 87, alterando quindi i bersagli dei farmaci e conferendo resistenza ai fluorochinoloni(35).
- Resistenza agli aminoglicosidi per mutazione del target e presenza di enzimi inattivanti.

Nel 2021, la percentuale media di resistenza ponderata sulla popolazione più alta dell'UE/SEE è stata riportata per le aminopenicilline (53,1%), seguite dai fluorochinoloni (21,9%), dalle cefalosporine di terza generazione (13,8%) e dagli aminoglicosidi (9,6%). La resistenza ai carbapenemi è rimasta rara (0,2%). La resistenza combinata a più gruppi di antimicrobici è un fenomeno comune in E.coli. Tra i fenotipi resistenti, la resistenza alle aminopenicilline, sia come resistenza singola che in combinazione con altri gruppi antimicrobici, è la più comune in Europa. Nel 2021, la percentuale di resistenza combinata, misurata come resistenza alle cefalosporine di terza generazione, ai fluorochinoloni e agli aminoglicosidi, era del 5,1% (media ponderata sulla popolazione dell'UE/SEE) e ha mostrato una tendenza alla diminuzione statisticamente significativa durante il periodo 2017-2021(33). Tranne che per la resistenza ai carbapenemi, vanno sottolineate variazioni tra i paesi per tutti i gruppi antimicrobici sotto sorveglianza, con percentuali di resistenza antimicrobica (AMR) generalmente più elevate riportate nell'Europa meridionale e orientale rispetto all'Europa settentrionale.

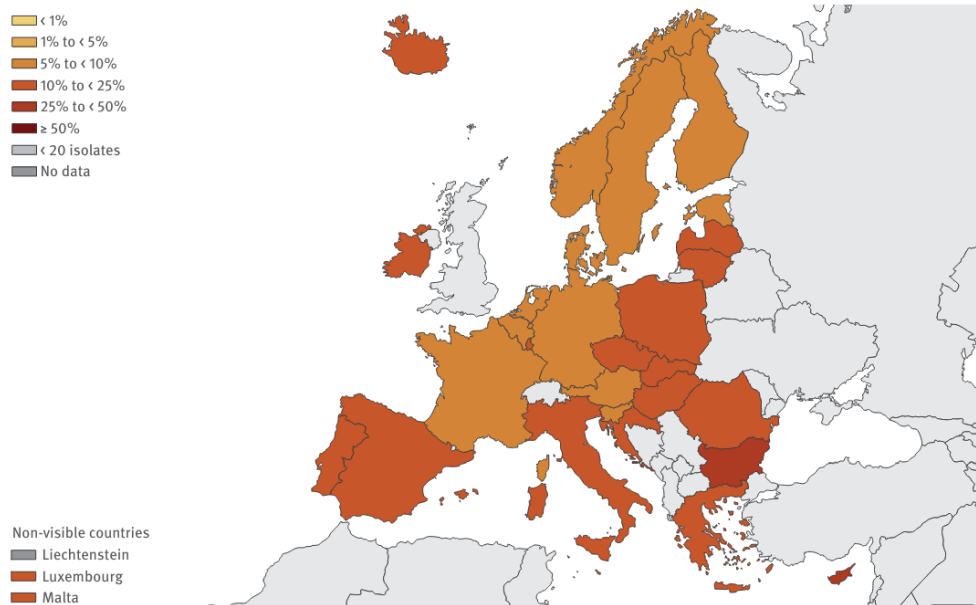


Figura 9 Percentuale di Escherichia coli resistenti alle cefalosporine di terza generazione (cefotaxime/ceftriaxone/ceftazidime) da isolati invasivi nell'UE/SEE 2021(33)

In Italia, dal 2017 si è osservato un costante calo nella resistenza di *E. coli* agli aminoglicosidi e ai fluorochinoloni, con percentuali del 13,2% e del 31,6% nel 2022, rispettivamente. La resistenza alle cefalosporine di terza generazione è diminuita al 24,2% nel 2022, sebbene sia rimasta stabile rispetto al 2021. La resistenza ai carbapenemi è rimasta estremamente bassa, inferiore al 1%. La percentuale di resistenza combinata a cefalosporine di terza generazione, aminoglicosidi e fluorochinoloni è stata dell'8,2% nel 2022, con una tendenza discendente rispetto agli anni precedenti. Questi risultati sottolineano l'importanza di una gestione prudente degli antibiotici ad ampio spettro per contrastare la diffusione di batteri resistenti come *E. coli*(36).

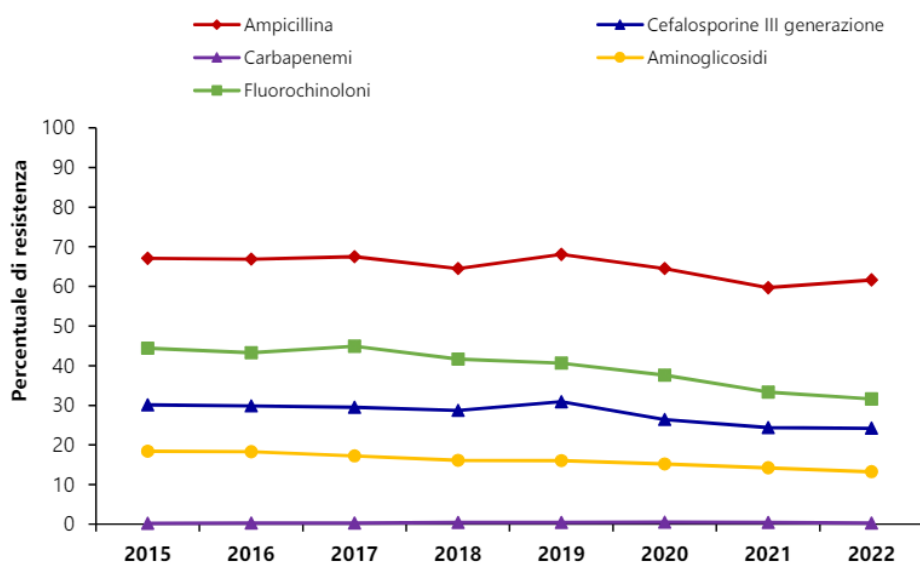


Figura 10 *E. coli*: resistenza ad ampicillina, cefalosporine di terza generazione, carbapenemi, aminoglicosidi e fluorochinoloni. Italia 2015-2022 (36)

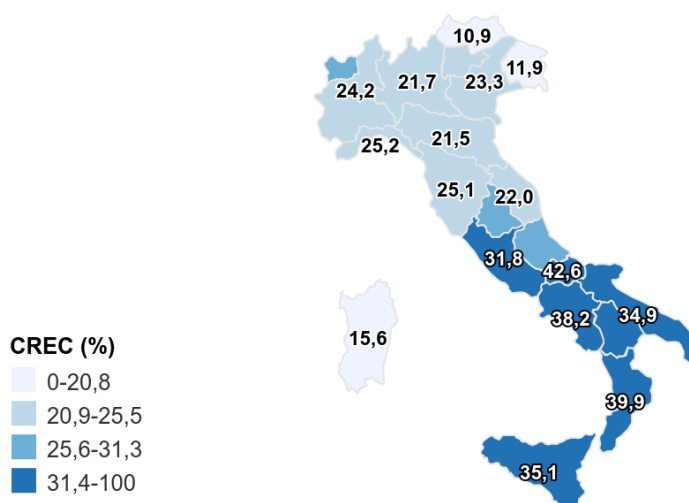


Figura 11 Percentuali di resistenza ai carbapenemi di *E. coli* per regione, 2022 (37)

3.3.3 *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae è un batterio a forma di bastoncello, lattosio fermentante, della famiglia dell'*Enterobacteriales*. È tra i batteri commensali nel tratto gastro-intestinale e lo si ritrova anche nel tratto respiratorio. Rappresenta un'importante minaccia per la salute globale in quanto responsabile di circa un terzo di tutte le infezioni da Gram-negativi e per il fatto di causare infezioni

opportunistiche in persone con sistema immunitario compromesso come neonati, anziani e soggetti immunocompromessi(38). Rispetto agli individui che hanno ricevuto una terapia combinata, quelli che hanno ricevuto una monoterapia hanno avuto più fallimenti nel trattamento (49% vs 25%; $p = 0,01$)(39). *Klebsiella pneumoniae* ha sviluppato resistenza ai β -lattamici mediante acquisizione orizzontale di β -lattamasi ESBLs (SHV, TEM, OXA, CTX). In particolare, OXA ha evidenziato una ridotta capacità idrolitica nei confronti dell'acido clavulanico e un'aumentata attività idrolitica nei confronti della carbapenemasi. È stata riportata anche la presenza di cefalosporinasi (AmpC). Quest'ultima conferisce resistenza alle cefalosporine, alla cefamicina e agli inibitori enzimatici dalla prima alla terza generazione. Inoltre, è stata riportata una diminuzione nel numero e nella permeabilità delle porine necessaria all'ingresso del farmaco: in particolare si fa riferimento alle porine OmpK35 e OmpK36(40). Infine, sono stati descritti sistemi di pompe di efflusso come AcrAB e OqxAB(41). Per quanto riguarda la resistenza ai fluorochinoloni, oltre ai meccanismi di pompe appena descritti, si evidenzia la presenza di mutazioni puntiformi della girasi e topoisomerasi IV (rispettivamente *gyrA* e *parC*) e l'acquisizione di geni *Qnr* per la produzione di proteine che proteggono gli enzimi dall'attacco dei chinoloni.

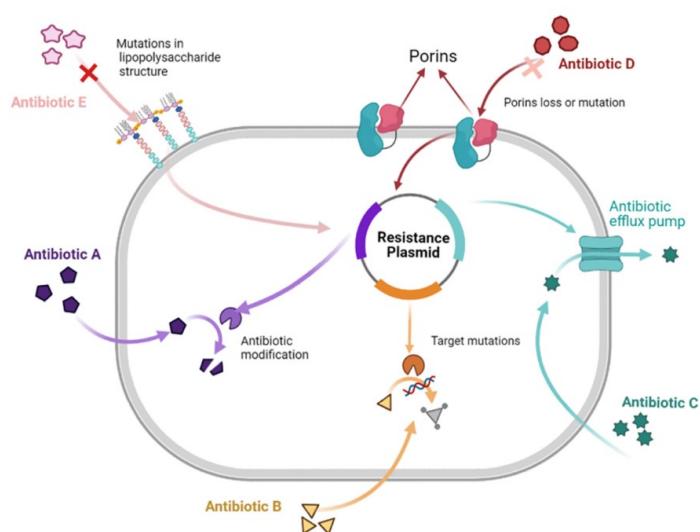


Figura 12 Panoramica dei diversi meccanismi di resistenza di *K. Pneumoniae* (42)

In Europa, nel periodo 2017-2021, più di un terzo delle *Klebsiella pneumoniae* isolate (38,4%) è risultato resistente ad almeno una delle quattro categorie di farmaci testate (fluorochinoloni, cefalosporine di terza generazione, aminoglicosidi, carbapenemi), mentre il fenotipo di resistenza più comune è risultato essere quello con triplice resistenza a: cefalosporine di III generazione, aminoglicosidi e fluorochinoloni. È cruciale evidenziare, infine, un significativo aumento della resistenza alle carbapenemasi (1,7%), rispetto al precedente anno dal 2017 al 2021 si è verificato un aumento del +5%, +6%, +11% +17%(33). Negli ultimi anni, per il trattamento delle infezioni sostenute da *Klebsiella pneumoniae* resistente ai carbapenemi, sono stati introdotti nella pratica clinica nuovi antibiotici ad ampio spettro di attività quali il cefiderocol e le combinazioni β -lattamico/inibitore delle β -lattamasi quali il ceftazidime/avibactam, imipenem/relebactam e meropenem/vaborbactam, sebbene per queste nuove molecole siano stati già isolati ceppi resistenti e descritti diversi tipi di meccanismi di resistenza(36).

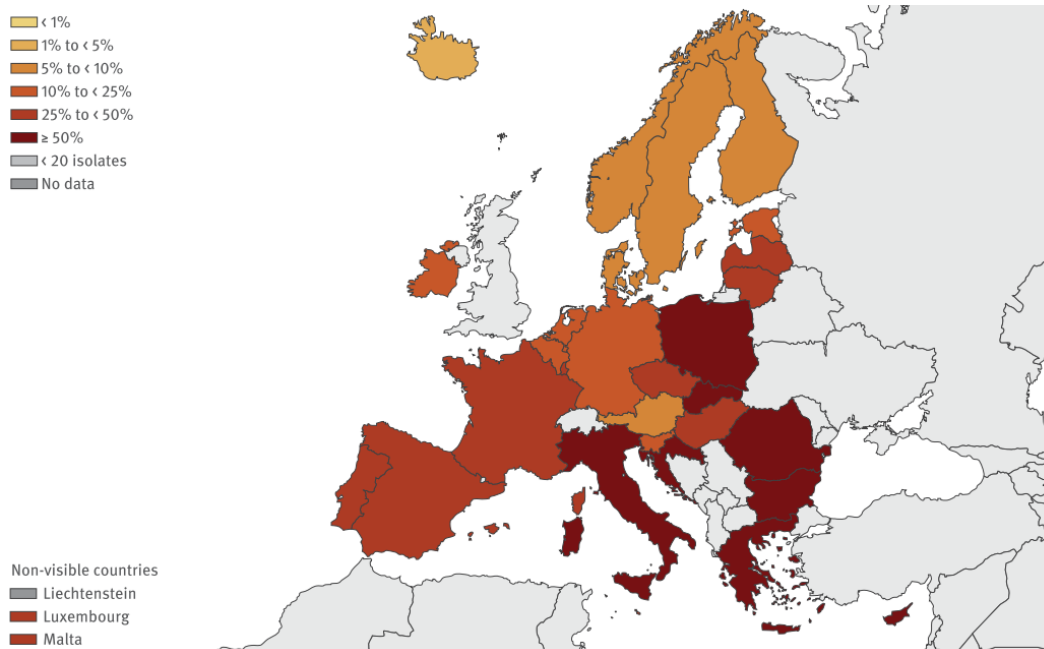


Figura 13 *Klebsiella pneumoniae*. Percentuale di resistenza alle cefalosporine di III generazione (cefotaxime/ceftriaxone/ceftazidime) da isolati invasivi (33)

Dopo un leggero aumento nel 2019 e 2020, nel biennio 2021-2022 si è osservata una nuova diminuzione della percentuale di isolati di *Klebsiella pneumoniae* resistenti ai carbapenemi (imipenem, meropenem); complessivamente il valore è passato da 33,2% nel 2015 a 24,9% nel 2022, mentre per le cefalosporine di terza generazione (cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone) dopo un lieve calo osservato nel biennio precedente, nel 2022 il valore di percentuale (53,3%) è rimasto sostanzialmente stabile rispetto al 2021, ma rappresenta uno dei valori più alti d'Europa. Per gli aminoglicosidi (gentamicina, amikacina) il dato di resistenza per il 2022 mostra un sostanziale decremento rispetto all'anno precedente e si osserva complessivamente un andamento in diminuzione (dal 42,4% nel 2015 al 31,6% nel 2022). In linea con quanto osservato l'anno precedente si riscontra una diminuzione della resistenza ai fluorochinoloni (ciprofloxacina, levofloxacina) che nel 2022 si è attestata al 48,7%(36).

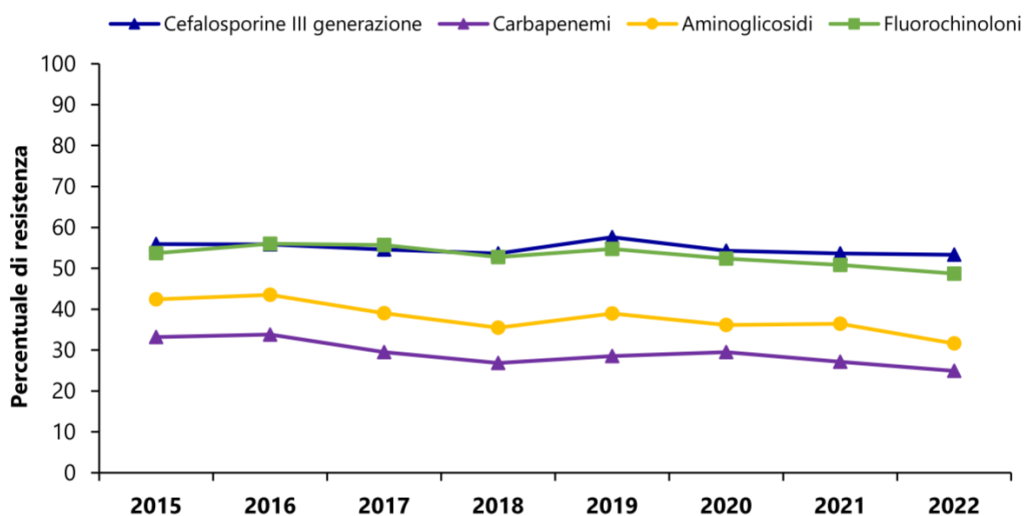


Figura 14 *K. pneumoniae*: resistenza a cefalosporine di terza generazione, carbapenemi, aminoglicosidi e fluorochinoloni. Italia 2015-2022 (36)

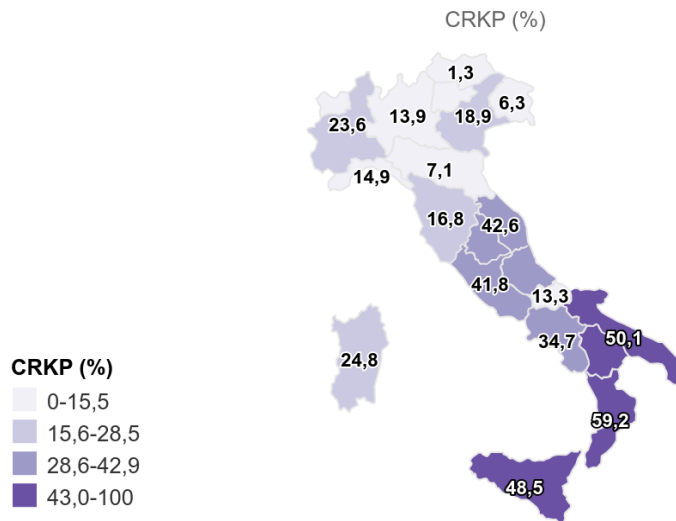


Figura 15 Percentuali di resistenza di *K. pneumoniae* alle carbapenemasi per regione, 2022 (43)

3.3.4 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa è un batterio Gram-negativo, non fermentante il lattosio, ubiquitario. In ambito clinico è di particolare interesse per essere tra le principali cause di infezione nosocomiale, specialmente in pazienti immunocompromessi: da evidenziare che questo patogeno è uno delle principali cause di mortalità e morbilità in pazienti affetti da fibrosi cistica e rappresenta il 5% dell'esacerbazioni infettive in pazienti affetti da broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO)(44). Per questo batterio sono state riportate resistenza a diversi farmaci come chinoloni, aminoglicosidi e β -lattamici. Uno dei meccanismi che si ritrova in questo patogeno è la presenza delle porine OrpF: a causa della loro particolare conformazione solo il 5%(45) di loro si trova in forma aperta e può essere utilizzata per il passaggio degli agenti antimicrobici. Per quanto riguarda il sistema di pompe di efflusso esso è composto da tre principali componenti: componente citoplasmatica, proteine periplasmatiche (ci si riferisce a quest'ultime due con Mex) e porina di membrana esterna (Opr). In *Pseudomonas aeruginosa* varianti di queste componenti sono responsabili dell'estruzione di diversi antimicrobici:

- MexAB-OprM responsabile dell'efflusso di β -lattami e chinoloni(46).
- MexCD-OprJ estrude β -lattami(47).
- MexEF-OprN può estrarre fluorochinoloni(48).
- MexXY-OprM espelle aminoglicosidi(49).

Inoltre, oltre all'acquisizione di geni AmpC e ESBL, *Pseudomonas aeruginosa* ha acquisito geni per la produzione di amino aminoglicosido-fosfotransferasi (APH), aminoglicosido acetil-transferasi (AAC) and aminoglicosido nucleotidiltransferasi (ANT)(50). Il primo agisce fosforilando il gruppo idrossile 3' di aminoglicosidi come neomicina e streptomina(51), AAC trasferiscono un gruppo acetile in 3' e 6' di gentamicina, tobramicina, netilmicina, kanamicina and amikacina (51)e, infine, ANT trasferisce un gruppo adenile o al gruppo aminico o idrossile di gentamicina, amikacina e tobramicina(52).

Dal punto di vista epidemiologico, gli ultimi dati di sorveglianza europea mostrano che il 31% di *Pseudomonas aeruginosa* possiede resistenza ad almeno uno dei quattro farmaci testati (piperacillina-tazobactam, fluorochinoloni, ceftazidime, aminoglicosidi and carbapenemi). Tra il 2017 e il 2021 è stata riportata una significativa diminuzione nelle percentuali di resistenza per tutti i farmaci antimicrobici eccetto per ceftadizime e piperacillina-tazobactam(33). Per quanto riguarda la presenza contemporanea di resistenza a tre farmaci è diminuita dal 14,1% (2016) al 12,6% (2021), ciononostante la percentuale di resistenza nei paesi del Sud e dell'Est Europa rimane ancora elevata.

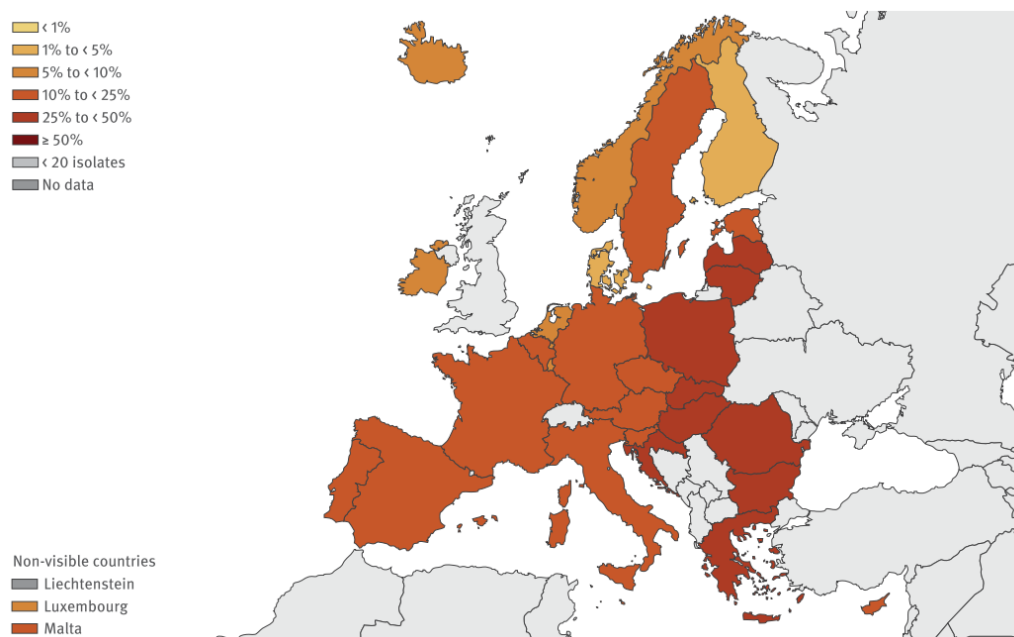


Figura 16 *Pseudomonas aeruginosa*. Percentuale delle resistenze ai carbapenemi (imipenem/meropenem) da isolati invasivi, per paese, 2021 (33)

In Italia, dal 2015 al 2022 sono stati osservati andamenti in diminuzione nella percentuale di isolati di *Pseudomonas aeruginosa* resistenti alle principali classi di antibiotici utilizzati per il trattamento di queste infezioni invasive. In particolare, a partire dal 2017 per gli aminoglicosidi e i fluorochinoloni si evidenzia un andamento in costante diminuzione; per il ceftazidime e la piperacillina-tazobactam un andamento stabile mentre per i carbapenemi, dopo un aumento registrato nel biennio precedente, nel 2022 si osserva una lieve diminuzione nella percentuale di resistenza. Nel 2022, la percentuale di resistenza più alta è stata osservata per piperacillina-tazobactam (24,1%), seguita da ceftazidime (19,0%), fluorochinoloni (ciprofloxacina, levofloxacina, 18,5%), carbapenemi (imipenem, meropenem, 16,4%) e aminoglicosidi (gentamicina, amikacina, 4,0%)(36).

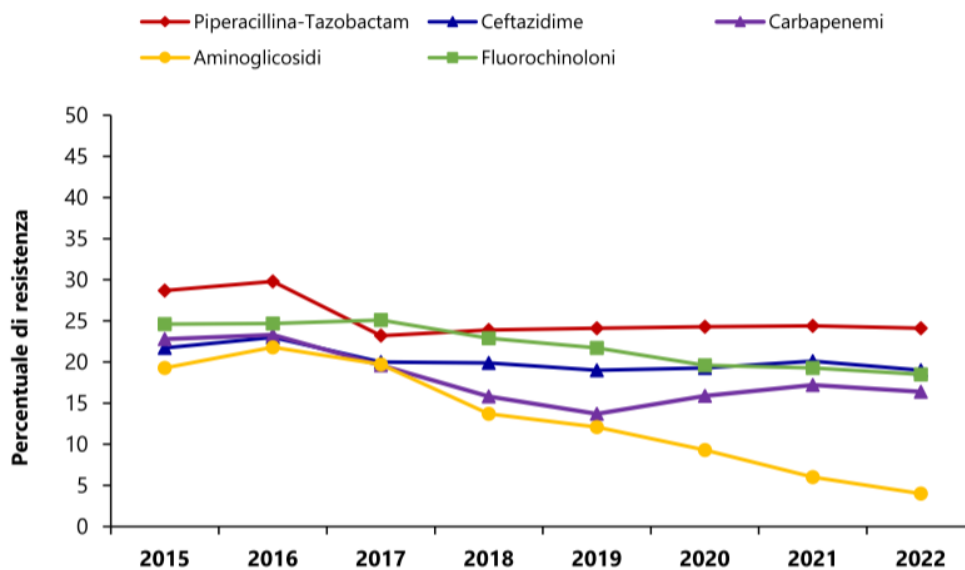


Figura 17 *P. aeruginosa*: resistenza a piperacillina-tazobactam, ceftazidime, carbapenemi, aminoglicosidi e fluorochinoloni. Italia 2015-2022 (36)

3.3.5 Altri gram-negativi

La specie *Citrobacter* è rappresentata da batteri Gram-negativi, non sporigeni, a forma di bastoncino, anaerobi facoltativi appartenenti alla famiglia delle *Enterobacteriales*. Questi batteri si ritrovano nel suolo, nell'acqua dei condotti fognari, nel cibo e compongono parte del microbiota umano. Dal punto di vista dell'interesse clinico, sono spesso associati a infezioni nosocomiali: comunemente implicati in infezioni del tratto urinario, setticemia, sepsi intra-addominale, ascessi cerebrali, polmonite e altre infezioni neonatali, tra cui meningite, sepsi neonatale e infezioni articolari(53). In particolar modo le infezioni causate da questa specie sono spesso di tipo opportunistico: i due principali patogeni in questo caso sono rappresentati da *C. koserii* e *C. freundii*.

L'aumento di resistenze in questa specie è stato riportato a livello internazionale(54). Ci sono diversi modi attraverso i quali i *Citrobacter* possono essere resistenti agli antibiotici: per quanto concerne la resistenza cromosomica ai fluorochinoloni (indicati per il trattamento dell'infezioni urinarie da *Citrobacter*), numerosi studi hanno riportato mutazioni nelle regioni determinanti la resistenza ai chinoloni (QRDR) in *Citrobacter* spp., specialmente

C. freundii, isolati da varie fonti e regioni geografiche. Ad esempio, una mutazione comune nel codone 59 (T59I) di *gyrA* è stata trovata in ceppi di *C. freundii*. Inoltre, mutazioni come S83L e D87N in *gyrA* e S80I in *parC* sono state rilevate in ceppi di *C. freundii* provenienti da diversi paesi. Tuttavia, alcuni germi della specie *Citrobacter* hanno acquisito resistenza ai chinoloni attraverso plasmidi tramite gene *qnr* di cui il più comune in questa specie è *qnrB*. Inoltre, sempre considerando PMQR (resistenza mediata da plasmidi ai chinoloni) nella specie *Citrobacter* si segnala la presenza di meccanismi di modifica dei chinoloni da parte di una variante dell'acetiltransferasi degli aminoglicosidi AAC(6')-Ib. Questo enzima può acetilare i chinoloni con un bersaglio di azoto amminico, ad esempio nel caso di ciprofloxacina e norfloxacina, riducendone l'attività antibatterica. Infine, nella specie *Citrobacter*, la PMQR aumenta l'efflusso dei chinoloni tramite pompe codificate da plasmidi, *OqxAB* e *QepAB*, appartenenti rispettivamente alla superfamiglia dei principali facilitatori (MFS) e alla famiglia della divisione resistenza-nodulazione-cellulare (RND).

Il recente aumento dei germi della specie *Citrobacter* resistenti ai carbapenemi causa gravi preoccupazioni per la salute pubblica a livello mondiale. La resistenza a questa classe di agenti antimicrobici in questa specie è causata dalla famiglia di plasmidi Inc(55) che trasporta i geni per la resistenza ai carbapenemi ed è una delle ragioni principali per la rapida diffusione della specie *Citrobacter* resistente ai carbapenemi in tutto il mondo. Ceppi di *C. freundii* positivi per VIM-1 e VIM-2 sono stati documentati in Italia(56). La prevalenza di vari enzimi modificanti gli aminoglicosidi (AME) nella specie *Citrobacter* dipende dalla regione geografica e dal tipo di infezione. Tra gli AME, i più prevalenti erano le aminoglicoside-N-acetiltransferasi (AAC). Gli enzimi AAC(6')-I sono altamente attivi nell'inattivare l'amikacina e la gentamicina (C1a e C2), mentre gli enzimi AAC(6')-II non modificano l'amikacina ma modificano tutti e tre i tipi di gentamicina (C1, C1a e C2)(57). Inoltre, gli enzimi AAC(3')-II sono attivi contro gentamicina, netilmicina, tobramicina, sisomicina, 2'-N-etilnetilmicina, 6'-N-etilnetilmicina e dibekacina.

Altro patogeno meritevole di attenzione è l'*Enterobacter*, della famiglia dell'*Enterobacteriales*: appartengono a questo genere 22 specie di batteri Gram-negativi, bacilli anaerobi facoltativi che determinano infezioni nosocomiali specialmente di tipo opportunistiche in pazienti con stato immunitario deficitario. Gli *Enterobacter* sono coinvolti in numerose infezioni, tra cui ascesso cerebrale, polmonite, meningite, setticemia e infezioni di ferite, del tratto urinario (particolarmente in quelle correlate a catetere) e della cavità addominale/intestinale(58). Queste specie sono state particolarmente descritte nelle unità di terapia intensiva e possono causare anche casi di sepsi in neonati. Inoltre, alcuni *Enterobacter* tra cui *E. hormaechei* sono stati evidenziati anche in infezioni correlate a dispositivi intravascolari, in infezioni post-operatorie in caso di traumi ortopedici e, in particolare, dopo trapianti d'organo(59).

Nella maggior parte delle specie di *Enterobacter*, la produzione di β -lattamasi è il principale meccanismo responsabile della resistenza ai β -lattamici, in particolar modo nel caso di *E. cloacae* e *Klebsiella aerogenes* (precedentemente noto come *E. aerogenes*). È importante notare che questi batteri sono in grado di produrre un basso livello di cefalosporinasi per la presenza di AmpC β -lattamasi cromosomale che genera resistenza alle cefalosporine di prima generazione(58). Questa tipologia di resistenza cromosomiale promuove la sovrapproduzione di questa cefalosporinasi AmpC durante l'incubazione con una concentrazione subinibitoria di carbapenemi. L'acquisizione di un ampC plasmidico porta ad una sovrapproduzione di AmpC β -lattamasi la quale contribuisce alla resistenza alle cefalosporine di terza generazione. Sono spesso riportati anche tipi TEM o CTX-M (tra questi TEM-24 rimane associato preferenzialmente a plasmidi coniugativi). Negli *Enterobacteriales*, *E. cloacae* è stato identificato come il terzo batterio più comune resistente alle cefalosporine di terza generazione, dopo *E. coli* enterico e *Klebsiella pneumoniae*(60). Infatti, diversi enzimi (ESBL) appartenenti alle classi TEM, SHV e CTX-M sono stati caratterizzati in *E. cloacae*.

Carbapenemasi appartenenti ai tipi NDM e VIM sono state identificate in *E. aerogenes* e *E. cloacae*. KPC o β -lattamasi di classe D con proprietà di

carbapenemasi, come la prevalente OXA-48, sono state identificate in Europa, Asia e America.

Per quanto riguarda la resistenza agli aminoglicosidi, è stata identificata la presenza di enzimi modificanti gli aminoglicosidi distribuiti tra acetiltransferasi (aminoglicoside-N-acetiltransferasi [AAC]), fosfotransferasi (aminoglicoside-O-fosfotransferasi [APH]), adeniltransferasi (aminoglicoside adeniltransferasi [AAD] o aminoglicoside-O-nucleotidiltransferasi [ANT]) e metiltransferasi 16S rRNA, come ArmA e RmtB(61). Questi sono spesso codificati da plasmidi o associati a elementi trasponibili, il che facilita l'acquisizione di fenotipi di resistenza. Riguardo i meccanismi di membrana, numerosi ceppi clinici resistenti all'imipenem sono stati descritti, e presentano una grave alterazione dell'espressione delle porine, associata o meno alla sovraespressione delle pompe di efflusso che si verifica durante la terapia antibiotica: i difetti delle porine e l'aumento dei livelli delle pompe di efflusso, sono ora riconosciuti come partecipanti forti al fenotipo MDR controllando la concentrazione interna degli antibiotici. Ad oggi, tre porine generali (non specifiche), Omp35, Omp36 e Omp37, sono state identificate nelle specie di *Enterobacter*, e sono state identificate due porine specifiche aggiuntive; LamB e PhoE.

Tra gli *Enterobacter* e i *Citrobacter* si evidenziano *Enterobacter cloacae/aerogenes* e *Citrobacter freundii* che assieme a *Serratia marcescens*, *Providencia stuartii* e *Morganella morganii* sono raggruppati nell'acronimo ESCPM. Tutti questi organismi possiedono beta-lattamasi AmpC cromosomiche (cAmpC) con un sistema repressore/induttore che normalmente mantiene queste beta-lattamasi in uno stato represso e resistente agli inibitori.

Serratia marcescens, un bacillo delle *Enterobacteriales*, è noto per essere una causa di infezioni nosocomiali, è ampiamente diffuso e viene spesso rinvenuto in alimenti ricchi di amido, che forniscono un ambiente ideale per la sua crescita. È noto per provocare infezioni oculari, polmonari, del tratto urinario e del flusso sanguigno. Studi recenti hanno dimostrato che questo microrganismo è

responsabile del 2,5-7,7% delle infezioni correlate all'uso di cateteri negli USA(62).

Providencia stuartii, un batterio gram-negativo onnipresente nell'ambiente, è conosciuto per provocare infezioni ospedaliere. L'incidenza di infezioni da *Providencia stuartii* tra i pazienti ospedalizzati è di circa 4 casi ogni 100.000, indicando una bassa virulenza. Tuttavia, nelle infezioni delle vie urinarie, *P. stuartii* causa il 9% delle infezioni associate a cateteri. Focolai nosocomiali di ceppi multiresistenti di *Providencia stuartii* sono particolarmente pericolosi, con una mortalità che può arrivare al 30%(63). *Providencia stuartii* può migrare dalle vie urinarie ad altri organi, causando endocardite, pericardite, peritonite e meningite.

Morganella morganii, appartenente agli *Enterobacteriales*, è considerato un patogeno opportunistico raro che causa principalmente infezioni post-operatorie a livello delle ferite e delle vie urinarie. Alcuni isolati clinici di *Morganella morganii* mostrano resistenza a diversi antibiotici, grazie alla presenza di geni di resistenza come blaNDM-1 e qnrD1, rendendo difficile il controllo delle infezioni.

Se non viene scelto l'antimicrobico corretto per infezioni di patogeni del gruppo ESCPM, è altamente probabile che si induca uno stato di de-repressione di cAmpC: un'espressione temporanea o costitutiva di questi enzimi, tanto da poter causare il fallimento del trattamento anche con i carbapenemi(64). Infatti, sono da evitare induttori potenti di cAmpC come le aminopenicilline, combinazioni basate sul clavulonato (ad esempio Amoxicillina/Clavulonato) e cefalosporine fino alla terza generazione. A seguito dell'individuazione di patogeni appartenenti a questo gruppo si dovrebbe procedere con Cefepime e Cefpirome: questi antibiotici sono considerati ottimali perché sono substrati poveri e induttori poveri delle beta-lattamasi AmpC(64). Infine, il trattamento con aminoglicosidi, spesso in associazioni ad altri antimicrobici di classe diversa, resta un'opzione possibile per il trattamento di infezioni severe.

Per quanto riguarda la specie *Proteus*, essi sono bacilli Gram-negativi appartenenti all'ordine *Enterobacterales*. Sono comunemente presenti nel tratto intestinale umano, ma possono causare varie infezioni, prevalentemente infezioni del tratto urinario (UTI). *P. mirabilis* è resistente alla colistina e mostra una ridotta suscettibilità all'imipenem(65). Altre specie note di *Proteus* includono *P. vulgaris* e *P. penneri*, che sono meno comuni ma possono essere patogeni opportunisti.

Tra i meccanismi di resistenza di questa specie si evidenzia la produzione di β -lattamasi: è stata descritta la presenza di enzimi a spettro ristretto (tra cui TEM-1, TEM-2, HMS, SHV, OXA-1, OXA-9), ad ampio-spettro (ESBL), di AmpC e di carbapenemasi. Tra gli altri meccanismi di resistenza si ritrovano: alterazione delle PBP; pompe di efflusso, modificazione delle porine

Infine, tra gli altri Gram-negativi di ampio interesse clinico, deve essere menzionato *Stenotrophomonas maltophilia*. Le infezioni da *S. maltophilia* si verificano comunemente in ambito ospedaliero e a livello delle terapie intensive (ICU) [37]. Sono stati descritti in letteratura diversi fattori di rischio associati allo sviluppo di tale infezione: ricovero in ICU, infezione da HIV, la presenza di concomitanti neoplasie, la fibrosi cistica, la neutropenia, ventilazione meccanica, la presenza di accessi venosi centrali (CVC), recenti interventi di chirurgia maggiore, l'emodialisi e l'età infantile(66). Ad oggi, vi sono limitate opzioni terapeutiche. Infatti, *S. maltophilia* è capace di essere resistente a moltissimi antibiotici, quali β -lattamine, Cefalosporine, Carbapenemi, Macrolidi e Aminoglicosidi è determinata dall'espressione di diversi meccanismi di resistenza. Tra i più comuni si trovano la produzione di β -lattamasi a codificazione cromosomica e/o plasmidica (L1, L2 o TEM-2), l'espressione di pompe di efflusso, l'espressione cromosomica di geni Qnr (implicati nella resistenza ai Fluorochinoloni), la produzione AME e la modificazione della membrana esterna, in particolar modo della struttura dell'lipopolisaccaride (LPS). Per quanto concerne la resistenza al Trimetoprim/Sulfametossazolo, vi possono essere diverse sequenze genetiche codificanti per enzimi diidrotioato reductasi a

bassa affinità a tale antibiotico. Tra queste si evidenziano gli integroni di classe 1 e il gene *sul2* (appartenenti alle regioni ISCR) e le cassette genetiche *dfrA*.

4 TERAPIE E FARMACI DI NUOVA INTRODUZIONE

I farmaci antibatterici possono agire sulle varie componenti dei batteri:

- Parete batterica: ad esempio, le β -lattamine che costituiscono la classe più numerosa di antibiotici hanno come bersagli cellulari le PBP. I β -lattamici, acilano i residui di serina presenti nel sito attivo delle PBP formando derivati inattivi. Essendo che tale farmaco agisce sulla fase di attiva replicazione della cellula batterica, l'effetto batteriolitico è presente solo in questa fase. Anche i Glicopeptidi, la Fosfomicina e la Bacitracina agiscono a questo livello, ma con meccanismi differenti.
- Membrana citoplasmatica: a questo livello agiscono farmaci come Polimixine e Daptomicina che ne alterano l'architettura e quindi la corretta omeostasi cellulare.
- Sintesi proteica: Aminoglicosidi, le Tetracicline, la Tigeciclina, i Macrolidi, gli Oxazolidino agiscono a livello ribosomiale, impedendo la produzione di proteine.
- Sintesi degli acidi nucleici: ad esempio i Sulfamidici (azione indiretta, per blocco della sintesi dei folati), la Rifamicina, i Fluorochinolonici e il Metronidazolo.

Poiché, come descritto nel capitolo precedente, i meccanismi di resistenza riportati sono molteplici è stato necessario ricorrere a nuove soluzioni per contrastare questo fenomeno: in particolare è stato cruciale sviluppare nuove molecole (ad esempio cefalosporine di V generazione). Un'altra strategia intrapresa è quella di associare farmaci antimicrobici con inibitori di enzimi che determinano alcuni meccanismi di resistenza: un esempio è l'associazione di β -lattamici con inibitori delle β -lattamasi.

Infatti, alcune molecole sono in grado inattivare le β -lattamasi, prevenendo così la distruzione degli antibiotici β -lattamici (substrati di questi enzimi). Si ritrovano molecole di vecchia e nuova generazione; gli inibitori di vecchia generazione sono i seguenti:

- Clavulonato;
- Sulbactam;
- Tazobactam;

Gli inibitori di vecchia generazione sono efficaci nei confronti delle forme codificate da plasmidi (comprese quelle che inattivano per idrolisi ceftazidima e cefotaxima), ma risultano inattivi, alle concentrazioni clinicamente raggiungibili, contro le β -lattamasi cromosomiali AmpC (presenti in batteri Gram-negativi come Enterobacter, Citrobacter e Pseudomonas) così come le carbapenemasi KPC e le metallo- β -lattamasi(67). L'acido clavulanico si lega in modo irreversibile alle β -lattamasi, è ben assorbito nel tratto gastrointestinale e può essere somministrato anche per via parenterale: in particolare viene associato all'amoxicillina in preparazioni orali e alla ticarcillina per somministrazioni parenterali. Il sulbactam è usato in associazione con ampicillina (per somministrazione intramuscolare ed endovenosa), mentre il tazobactam è associato a piperacillina e ceftozolano. Tra i nuovi inibitori delle β -lattamasi si ritrovano:

- Avibactam;
- Tazobactam;
- Vaborbactam;
- Relebactam;

Name	Structure	Subclass	Partner β -lactam	Approval date ^a	Status
Clavulanic acid ^b		Clavam	Amoxicillin	1984	Widely available
Sulbactam ^c		Penicillanic acid sulfone	Ampicillin	1986	Widely available
Tazobactam		Penicillanic acid sulfone	Piperacillin Ceftolozane	1993 2014	Widely available Available in the United States and Europe
Avibactam ^d		DBO ^e	Ceftazidime ^d	2015	Widely available
Relebactam		DBO	Imipenem	Not approved	Phase 3 in the United States
RG6080		DBO	Not selected	Not approved	Phase 1
RPX7009		Boronic acid	Meropenem	Not approved	Phase 3 in the United States

Figura 18 Inibitori delle β -lattamasi di interesse clinico e le loro associazioni con β -lattamici (12)

4.1 PIPERACILLINA/TAZOBACTAM (PTZ)

Piperacillina-tazobactam (PTZ) prevede l'associazione della piperacillina (ureidopenicillina semisintetica) e un inibitore delle β -lattamasi (tazobactam). Rappresenta uno degli agenti antibiotici piú frequentemente utilizzati per la copertura empirica dei batteri Gram-negativi e rimane attivo contro una grande proporzione di batteri Gram-negativi produttori di β -lattamasi ad ampio spettro. Piperacillina/Tazobactam è indicato dall'AIFA per il trattamento delle seguenti infezioni negli adulti e adolescenti(68):

- Polmonite grave, inclusa polmonite nosocomiale e associata a ventilazione;
- Infezioni complicate del tratto urinario (inclusa pielonefrite);

- Infezioni intra-addominali complicate;
- Infezioni complicate della cute e dei tessuti molli (incluse infezioni del piede diabetico);
- Trattamento di pazienti con batteriemia che si verifica in associazione, o in sospetta associazione, ad una delle infezioni sopra elencate.

Piperacillina/Tazobactam può essere usato nel trattamento di pazienti neutropenici con febbre che si sospetti essere dovuta ad infezioni batteriche. Nei bambini dai due a dodici anni esiste un'indicazione d' infezioni intra-addominali complicate(68).

I carbapenemi sono stati considerati la terapia più efficace per le infezioni gravi causate da batteri Gram-negativi resistenti; tuttavia, il loro uso crescente esercita una pressione selettiva per la resistenza ai carbapenemi, una minaccia emergente che ha contribuito all'aumento della pressione selettiva di *Enterobacterales* multi-resistenti. Per controbilanciare questo fenomeno, PTZ è stato proposto come un agente per il risparmio carbapenemi in modo da ridurre l'incidenza di batteri multi-resistenti e superinfezioni(69). Ad esempio, è stata paragonata l'efficacia di trattamento di PTZ con quella dei carbapenemi nel trattamento di polmoniti nosocomiali causate da *Klebsiella pneumoniae* produttrice ESBL. Si è trattato di uno studio retrospettivo di coorte in due ospedali di terzo livello su pazienti ricoverati tra gennaio 2018 e luglio 2021 con diagnosi di polmonite nosocomiale causata da *Klebsiella pneumoniae* produttrice di ESBL: i pazienti hanno ricevuto piperacillina/tazobactam o carbapenemici entro 24 ore dall'insorgenza della polmonite per almeno 72 ore. Sono stati analizzati gli esiti clinici, inclusa la mortalità a 28 giorni e la guarigione clinica e microbiologica a 14 giorni. Dei 136 pazienti totali, 64 hanno ricevuto piperacillina/tazobactam e 72 hanno ricevuto carbapenemici (nello studio poteva trattarsi o di imipenem o meropenem). La mortalità a 28 giorni complessiva è stata del 19,1% (26/136). La coorte in terapia con piperacillina/tazobactam non è stata associata a esiti clinici peggiori, poiché la mortalità a 28 giorni (OR, 0,82, IC al 95%, 0,23-2,87, p = 0,748), la guarigione clinica (OR, 0,94, IC al 95%, 0,38-2,35,

$p = 0,894$) e la guarigione microbiologica (OR, 1,10, IC al 95%, 0,53-2,30, $p = 0,798$) sono state comparabili a quelle dei carbapenemici(70). Le analisi di sottogruppo non hanno mostrato alcune differenze statistiche. In conclusione, la piperacillina/tazobactam potrebbe essere un'alternativa efficace ai carbapenemici per trattare la polmonite nosocomiale causata da *Klebsiella pneumoniae* produttrice di ESBL.

4.2 CEFTAZOLANO/TAZOBACTAM (C/T)

Il ceftolozano appartiene alla classe di antimicrobici delle cefalosporine ed esercita un'attività battericida legandosi a importanti proteine leganti la penicillina (PBP), con conseguente inibizione della sintesi della parete cellulare e successiva morte della cellula. Tazobactam è un inibitore irreversibile di molte β -lattamasi di classe A, compresi gli enzimi CTX-M, SHV e TEM. L'aggiunta di tazobactam al ceftolozan facilita l'azione del farmaco contro *Enterobatterales*, compresi la maggior parte dei produttori di beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL) e alcuni anaerobi.

Da evidenziare che il tazobactam non inibisce tutte le β -lattamasi di classe A e i seguenti tipi di β -lattamasi:

- Enzimi AmpC (prodotti dalle *Enterobatterales*)
- Carbapenemasi a serina (ad es., *Klebsiella pneumoniae* produttrice di carbapenemasi [KPC])
- Metallo- β -lattamasi (ad es., New Delhi metallo-beta-lattamasi [NDM])
- Beta-lattamasi della classe D di Ambler (OXA-carbapenemasi)

I meccanismi di resistenza batterica a ceftolozano/tazobactam comprendono: produzione di beta-lattamasi che possono idrolizzare il ceftolozano e che non sono inibite dal tazobactam, modificazione delle PBP.

Ceftolozano/tazobactam (noto in Europa col nome commerciale di Zerbaxa) è indicato per il trattamento di adulti e bambini con:

- Infezioni intra-addominali complicate;

- Pielonefrite acuta;
- Infezioni complicate delle vie urinarie;

È inoltre utilizzato per trattare adulti con polmonite nosocomiale, compresa la polmonite associata a ventilazione meccanica(71).

4.2.1 Ceftazolano/tazobactam nel trattamento delle polmoniti nosocomiali (hap)

L'efficacia nell'utilizzare C/T nelle HAP (incluse VAP) è stata documentata dallo studio ASPECT-NP condotto dal gennaio 2015 all'Aprile 2018. Si tratta di uno studio randomizzato, in doppio cieco, di non inferiorità condotto in 263 ospedali in 34 paesi. I pazienti eleggibili avevano 18 anni o più, erano sottoposti a ventilazione meccanica e avevano una polmonite nosocomiale (polmonite associata a ventilazione meccanica o polmonite acquisita in ospedale con ventilazione). I pazienti sono stati assegnati in modo casuale con rapporto 1:1 stratificati per tipo di polmonite nosocomiale ed età (<65 anni vs ≥65 anni). 362 pazienti hanno ricevuto 3 g di ceftolozano/tazobactam, mentre 364 hanno ricevuto 1 g di meropenem per via endovenosa ogni 8 ore per 8-14 giorni. L'endpoint primario era la mortalità per tutte le cause a 28 giorni (con un margine di non inferiorità del 10%). L'endpoint secondario era la risposta clinica alla visita di controllo (7-14 giorni dopo la fine della terapia; margine di non inferiorità fissato al 12,5%). Entrambi gli endpoint sono stati valutati nella popolazione intention-to-treat. A 28 giorni, 87 (24,0%) pazienti nel gruppo ceftolozano/tazobactam e 92 (25,3%) nel gruppo meropenem erano deceduti (differenza ponderata del trattamento 1,1% [95% CI -5,1 a 7,4]). Alla visita di controllo, 197 (54%) pazienti nel gruppo ceftolozano/tazobactam e 194 (53%) nel gruppo meropenem erano clinicamente guariti (differenza ponderata del trattamento 1,1% [95% CI -6,2 a 8,3]). Il ceftolozano/tazobactam è risultato quindi non inferiore al meropenem sia in termini di mortalità per tutte le cause a 28 giorni che di guarigione clinica.

4.2.2 Ceftazolanone/tazobactam nel trattamento delle infezioni intra-addominali complicate

L'efficacia di ceftolozano/tazobactam in combinazione con metronidazolo in pazienti ospedalizzati con infezione intra-addominale complicata è stata valutata nello studio multicentrico, in doppio cieco, di non inferiorità ASPECT-clAI. In questo studio, sono stati inclusi adulti (età ≥ 18 anni) che avevano prove cliniche di infezioni intra-addominali complicate (clAI), con diagnosi confermata. I pazienti hanno ricevuto ceftolozano/tazobactam 1,5 g (ceftolozano 1 g più tazobactam 0,5 g) più metronidazolo 500 mg per via endovenosa ogni 8 ore o meropenem 1 g ogni 8 ore più placebo per 4-10 giorni. Nei pazienti con insufficienza renale moderata (CLCR 30-50 mL/min), il dosaggio di ceftolozano/tazobactam è stato ridotto a 750 mg ogni 8 ore e quello di meropenem a 1 g ogni 12 ore(72). L'endpoint primario era il tasso di guarigione clinica nella popolazione con intento di trattamento microbiologico (MITT) alla visita di controllo (TOC) (24-32 giorni dopo l'inizio del farmaco in studio). La guarigione clinica era definita come completa risoluzione o miglioramento significativo dei segni e sintomi dell'infezione iniziale. La popolazione MITT era definita come pazienti randomizzati che avevano almeno un patogeno, verso cui lo studio era rivolto, identificato in un ascesso o fluido peritoneale, indipendentemente dalla suscettibilità al farmaco in studio. Il ceftolozano/tazobactam più metronidazolo è risultato non inferiore al meropenem alla visita TOC nella popolazione MITT. Analisi dei tassi di guarigione clinica alla visita TOC nelle popolazioni clinicamente valutabili (CE), microbiologicamente valutabili (ME) e intention-to-treat (ITT) hanno anche mostrato che ceftolozano/tazobactam più metronidazolo era non inferiore al meropenem(73)

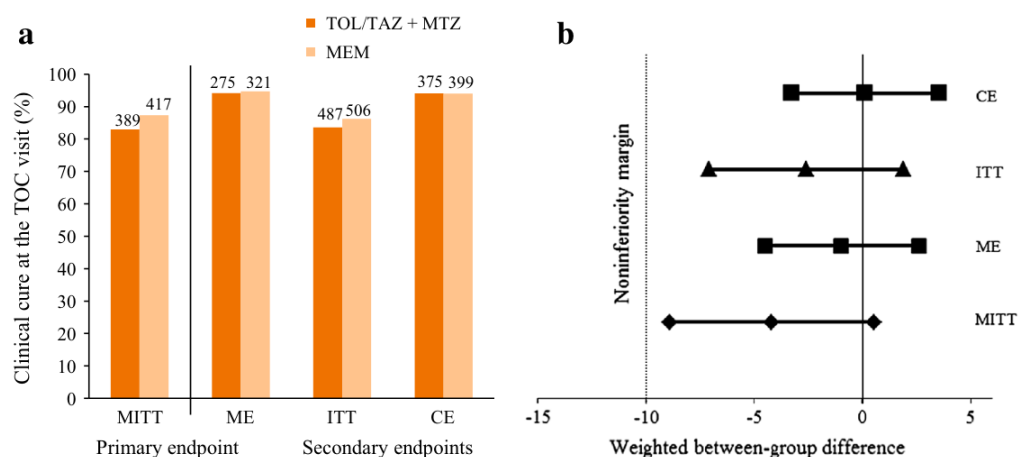


Figura 19 Efficacia di ceftolozano/tazobactam più metronidazole in termini di (a) tassi di guarigione clinica e (b) non inferiorità negli adulti con infezioni intra-addominali complicate nello studio ASPECT-clAI. CE popolazione valutabile clinicamente, ITT intent-to-treat, ME valutabile microbiologicamente, MEM meropenem, MTZ metronidazolo, TOL/TAZ ceftolozane/tazobactam (72)

4.2.3 Ceftazolano/tazobactam nel trattamento delle infezioni complicate del tratto urinario

Lo studio ASPECT-cUTI ha valutato l'efficacia di ceftolozano/tazobactam rispetto a levofloxacina in pazienti ospedalizzati con infezione delle vie urinarie complicate (cUTI) e anche in questo caso si tratta di uno studio multinazionale, doppio-cieco. I pazienti inclusi erano adulti che avevano segni di infiammazione nelle urine e una diagnosi di cUTI o pielonefrite. Gli esclusi includevano pazienti con altre infezioni richiedenti antibiotici non inclusi nello studio o con infezioni che richiedevano trattamento superiore a sette giorni. I pazienti hanno ricevuto o ceftolozano/tazobactam intravenoso ogni 8 ore o levofloxacina intravenosa una volta al giorno per 7 giorni. Il punto principale era la non inferiorità di ceftolozano/tazobactam rispetto a levofloxacina, basata sulla differenza nelle percentuali di guarigione composite alla visita di follow-up, che avveniva 5-9 giorni dopo l'ultimo dosaggio del farmaco in studio. Per guarigione composite si intendono sia la guarigione clinica sia l'eradicazione microbiologica di tutti i patogeni urinari alla visita di follow-up. Non c'erano differenze significative tra i gruppi in termini di caratteristiche di base dei pazienti, con la maggior parte dei

pazienti che presentava pielonefrite e la maggior parte delle infezioni causate da *E. coli*. Ceftolozano/tazobactam ha dimostrato di essere non inferiore a levofloxacina nel trattamento delle cUTI, con una buona tollerabilità e risultati simili nelle principali caratteristiche demografiche dei pazienti(74).

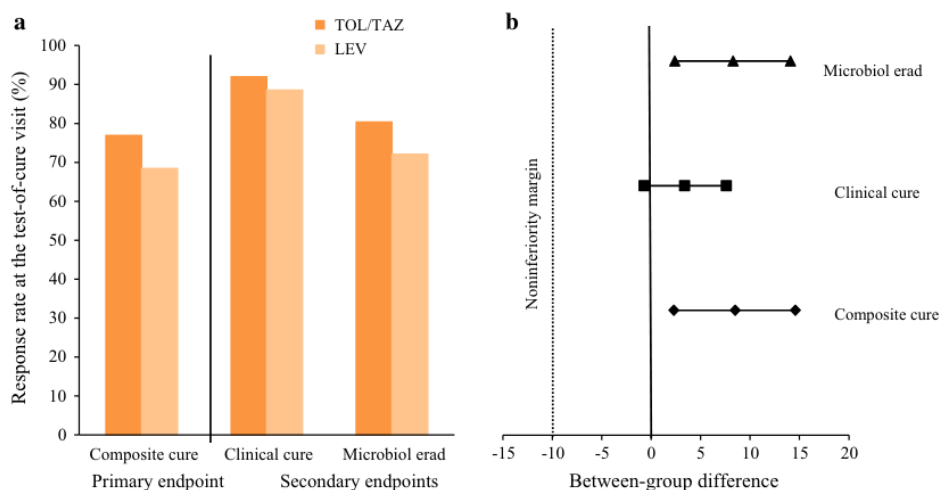


Figura 20 Efficacia di ceftolozano/tazobactam (n = 398) contro levofloxacina (n = 402) in termini di (a) tassi di risposta alla visita di controllo (TOC) e (b) non inferiorità negli adulti con infezione complicata del tratto urinario nello studio ASPECT-cUTI. LEV levofloxacina, TOL/TAZ ceftolozano/tazobactam (72)

4.3 CEFTAZIDIME/AVIBACTAM (C/A)

Ceftazidime è una cefalosporina di terza generazione a largo spettro, che, come altri antimicrobici β -lattamici, esercita il suo effetto antibatterico legandosi alle proteine leganti la penicillina (PBPs), inibendo così il crosslinking del peptidoglicano durante la sintesi della parete cellulare, portando alla lisi e morte della cellula batterica. L'avibactam, invece, è un inibitore delle β -lattamasi non β -lattamico di nuova generazione che non possiede una significativa attività antimicrobica intrinseca. Tuttavia, contribuisce all'attività della combinazione ceftazidime-avibactam proteggendo il ceftazidime dalla degradazione da parte di diverse β -lattamasi seriniche. L'avibactam agisce attraverso l'acilazione covalente dei suoi target (β -lattamasi) in un processo lentamente reversibile, con

deacilazione (senza idrolisi) e rilascio di avibactam intatto(75). L'avibactam ha un ampio spettro di attività, inibendo le β -lattamasi di classe Ambler A (es. TEM-1, CTX-M-15, KPC-2, KPC-3), di classe C (es. AmpC) e alcune β -lattamasi di classe D (es. OXA-10, OXA-48); non risulta, invece, attivo contro le β -lattamasi di classe B (metallo- β -lattamasi)(76). Nell'UE, il ceftazidime-avibactam è approvato per il trattamento degli adulti con infezioni complicate del tratto urinario, infezioni intra-addominali complicate, polmonite nosocomiale (HAP) (inclusa la polmonite associata a ventilatore/ VAP) e infine per il trattamento di altre infezioni dovute a organismi Gram-negativi aerobi in pazienti adulti con opzioni di trattamento limitate(77).

4.3.1 Utilizzo di ceftadizime/avibactam (c/a) nel trattamento delle infezioni del tratto urinario

Tra i principali studi che hanno dimostrato l'efficacia dell'associazione (C / A), per il trattamento empirico di pazienti con infezione del tratto urinario, vanno evidenziati il RECAPTURE-1 e il RECAPTURE-2: entrambi gli studi, identici, sono stati condotti in doppio-cieco, doppio-placebo e hanno comparato la non inferiorità di ceftadizime/avibactam con il doripinem in termini di efficacia e sicurezza per il trattamento delle infezioni del tratto urinario (incluso pielonefrite). Dei 1033 pazienti, randomizzati, a 393 è stato somministrato ceftadizime/avibactam e a 417 il doripinem. Tutti i pazienti erano adulti ospedalizzati con sospetta o confermata infezione tratto urinario/pielonefrite acuta e sono stati randomizzati 1:1 a ceftazidime-avibactam 2000 mg/500 mg ogni 8 ore (infusione in due ore) o doripenem 500 mg ogni 8 ore (dosi aggiustate in base alla funzione renale), con possibile passaggio a terapia orale dopo ≥ 5 giorni (la durata totale del trattamento è stata fino a 10 giorni o 14 giorni per i pazienti con batteriemia). Il ceftazidime-avibactam è stato somministrato come 2 infusioni IV concomitanti di 1 ora e il doripenem come un'infusione IV di 1 ora seguita da un'infusione placebo di 1 ora. L'outcome di eradicazione (definito come una coltura delle urine che mostra $\leq 10^4$ CFU/mL del patogeno, e risoluzione della batteriemia se presente) non ha evidenziato significative

differenze tra il gruppo Ceftazidime/Avibactam rispetto al gruppo di controllo(78).

4.3.2 Utilizzo di ceftazidime/avibactam (c/a) nel trattamento dell'infezioni intra-addominali complicate

Le evidenze sull'efficacia del ceftazidime-avibactam, nel trattamento delle infezioni intra-addominali complicate negli adulti (cIAI), derivano principalmente dagli studi RECLAIM-1 e RECLAIM-2: si tratta di due studi clinici randomizzati, in doppio cieco e con doppio placebo, multinazionali, di fase III e di disegno identico, che hanno investigato la non inferiorità del ceftazidime-avibactam più metronidazolo rispetto al meropenem. Successivamente, i dati degli studi RECLAIM-1 e -2 sono stati combinati in un unico dataset inferenziale. Negli studi, i pazienti erano in totale 1066 e sono stati randomizzati 1:1. Un gruppo ha ricevuto ceftazidime-avibactam 2,5 g ogni 8 ore come infusione endovenosa di 2 ore, seguito da metronidazolo 500 mg (per la copertura dei patogeni anaerobi) in somministrazione endovenosa di 1 ora ogni 8 ore, oppure meropenem 1000 mg come infusione endovenosa di 30 minuti ogni 8 ore. Il Ceftazidime-avibactam più metronidazolo è risultato non inferiore al meropenem nel trattamento degli adulti ospedalizzati con cIAI, basato sul tasso di guarigione clinica alla visita di controllo (endpoint primario)(79).

4.3.3 Utilizzo di ceftazidime/avibactam (c/a) nel trattamento della polmonite acquisita in ospedale (hap), inclusa polmonite associata a ventilazione meccanica (vap)

L'efficacia del ceftazidime-avibactam nel trattamento degli adulti con polmonite nosocomiale (HAP), inclusa la polmonite associata a ventilazione meccanica (VAP), è stata valutata nello studio REPROVE, uno studio clinico randomizzato, in doppio cieco e con doppio placebo, multinazionale, di fase III, che ha investigato la non inferiorità del ceftazidime-avibactam rispetto al meropenem. Nel trial, 879 pazienti, di età compresa tra 18 e 90 anni, con HAP (inclusa VAP) sono stati randomizzati 1:1 per ricevere 2,5 g di ceftazidime-avibactam ogni 8 ore in infusione endovenosa di 2 ore o 1000 mg meropenem ogni 8 ore come infusione

endovenosa di 30 minuti per 7-14 giorni. La randomizzazione è stata stratificata in base al tipo di infezione (VAP o HAP non-VAP) e alla regione geografica (Europa occidentale, Europa orientale, Cina o resto del mondo). L'endpoint primario del trial, secondo le linee guida dell'EMA, era il tasso di guarigione clinica alla visita di controllo (TOC) (21-25 giorni dopo la randomizzazione), valutato in due popolazioni co-primarie di analisi: la popolazione clinicamente modificata per l'intenzione di trattare (cMITT) (escludendo i pazienti in cui si sono isolati solo patogeni non bersaglio) e il sottoinsieme CE della popolazione cMITT (cioè quelli che hanno ricevuto un adeguato trattamento per la sua durata e senza deviazioni significative dal protocollo). Nell'analisi primaria d'efficacia, la non inferiorità del ceftazidime-avibactam rispetto al meropenem è stata valutata con un margine di non inferiorità prespecificato (suggerito dall'EMA) di -12,5%. Il ceftazidime-avibactam è risultato non inferiore al meropenem nel trattamento di HAP (inclusa la VAP) basato sul tasso di guarigione clinica alla visita di controllo sia nella popolazione cMITT ($p = 0,007$) che nella popolazione CE ($p < 0,001$). Il tasso di guarigione clinica alla visita di controllo è stato evidenziato nel 68,8% e nel 73,0% dei pazienti trattati rispettivamente con ceftazidime-avibactam e meropenem nella popolazione cMITT e dal 77,4% rispetto al 78,1% dei pazienti trattati rispettivamente con ceftazidime-avibactam e meropenem nella popolazione CE(80).

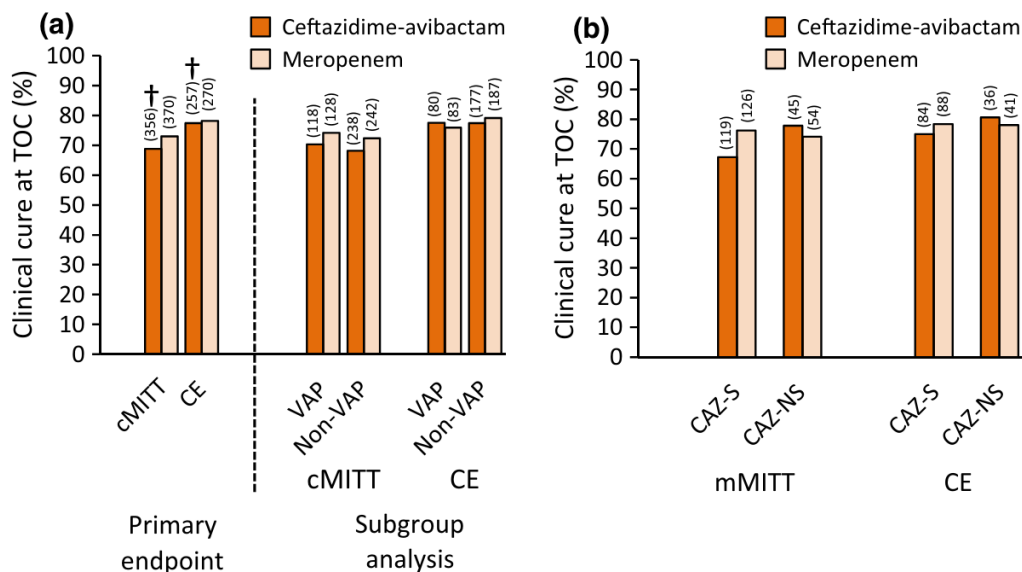


Figura 21 Tassi di guarigione clinica alla TOC nello studio di fase III REPROVE in pazienti con polmonite nosocomiale (compresa la VAP). (a) Analisi primaria dell'efficacia e di sottogruppo e (b) per suscettibilità degli isolati basali. CAZ-NS ceftazidime-nonsensibile, CAZ-S ceftazidime-sensibile, CE popolazione clinicamente valutabile, cMITT popolazione clinicamente modificata per l'intenzione di trattare, mMITT popolazione clinicamente modificata per l'intenzione microbiologica di trattare(76).

4.4 MEROPENEM/VABORBACTAM (MER/VAB)

Vaborbactam è un inibitore delle β -lattamasi a base di acido boronico ciclico con un'ampia attività inibitoria contro le serin- β -lattamasi, in particolare la carbapenemasi di *Klebsiella pneumoniae*. Vaborbactam in combinazione con meropenem è stato sviluppato per le infezioni gravi da gram-negativi, comprese quelle dovute a *Enterobacteriales* resistenti ai carbapenemi(81).

MER/VAB rappresenta una soluzione per il trattamento delle infezioni causate da batteri appartenenti agli *Enterobacteriales* produttori di ESBL, KPC e AmpC, riducendo così efficacemente il livello di resistenza. Inoltre, mostra attività contro i microrganismi MDR, XDR (estremamente resistenti ai farmaci) e *Enterobacteriales* carbapenemasi-resistenti (CRE). MER/VAB è utilizzato nelle infezioni con microrganismi MDR che producono carbapenemasi di tipo A (TEM-

116, CTX-M, SHV, ESBL) e C (FOX, MIR, P99), ma non è utilizzato nel trattamento delle infezioni con ceppi produttori di carbapenemasi di tipo B e D. Pertanto, non è utilizzato nelle infezioni con batteri che mostrano resistenza di tipo MBL (metallo- β -lattamasi) (NDM—New Delhi metallo- β -lattamasi, IMP—imipenemasi, VIM—Verona-integron-imipenemasi) e/o resistenza di tipo OXA-48 (oxacilinas-48), poiché è stata dimostrata la limitata attività di questa combinazione contro di essi(82). Le diverse β -lattamasi inibite e non da Vaborbactam sono riassunte nella tabella II.

Class According to Ambler	Effect of the Vaborbactam	β -Lactamases
Class A	Inhibition	Serine carbapenemases: KPC, NMC-A, SME-2
		ESBL: SHV-2, PER-1
		Narrow spectrum: TEM-1, TEM-2
Class B	Lack of inhibition	Metallo- β -lactamases: VIM, NDM-1
Class C	Inhibition	Cephalosporinases: AmpC, P99, ACT-1
Class D	Lack of inhibition	OXA-48

Tabella II Schema d'azione del Vaborbactam sulle varie classi di β -lattamasi

Meropenem/Vaborbactam è indicato dall'EMA per il trattamento delle seguenti infezioni negli adulti(83):

- Infezione del tratto urinario complicata (cUTI), compresa pielonefrite;
- Infezione intra-addominale complicata (cIAI);
- Polmonite nosocomiale (HAP), inclusa polmonite associata a ventilazione (VAP).
- Trattamento di pazienti con batteriemia che si verifica in associazione o in sospetta associazione con una qualsiasi delle infezioni sopra elencate.
- Trattamento di infezioni dovute a organismi Gram-negativi aerobi in adulti che dispongono di opzioni terapeutiche limitate.

In particolare, due studi hanno dimostrato l'efficacia del trattamento con questa associazione: si tratta dello studio TANGO1 e TANGO2. In particolare, TANGO1 è un trial clinico randomizzato, multicentrico, multinazionale, condotto da

novembre 2014 a aprile 2016 in pazienti maggiorenni con UTI complicata, stratificato per tipo d'infezione e regione geografica. I pazienti eleggibili sono stati randomizzati 1:1 per ricevere meropenem-vaborbactam (2g/2g in 3 ore; n = 274) o piperacillina-tazobactam (4g/0.5g in 30 minuti; n = 276) ogni 8 ore(84). Dopo 15 o più dosi, i pazienti potevano essere passati a levofloxacina orale se soddisfacevano i criteri predefiniti di miglioramento, per completare un totale di 10 giorni di trattamento. Il principale endpoint per i criteri dell'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA) era l'eradicazione microbica alla visita di test di guarigione (intesa come il riscontro di concentrazione nelle urine del patogeno riscontrato all'inizio < 10³ CFU/mL) nella popolazione modificata ITT (Intent-to-Treat) microbiologica e nella popolazione microbiologica valutabile. L'eradicazione microbica nella popolazione modificata ITT microbiologica si è verificata in 128 su 192 (66.7%) che avevano ricevuto meropenem-vaborbactam rispetto a 105 su 182 (57.7%) trattati con piperacillina-tazobactam. L'eradicazione microbica nella popolazione microbiologica valutabile si è verificata in 118 su 178 (66.3%) rispetto a 102 su 169 (60.4%) (differenza, 5.9% [95% CI, -4.2% a 16.0%]; P < .001 per non inferiorità). Nel trial TANGO II si è invece indagata l'efficacia di MER/VAB nel trattamento dell'*Enterobatterales* carbapenemi-resistenti (CRE) rispetto alla miglior terapia disponibile dal 2014 al 2017. In questo studio di fase tre, multinazionale, multicentrico e randomizzato, un totale di 77 pazienti con infezione confermata/sospetta da CRE (batteriemia, polmonite batterica acquisita in ospedale/associata a ventilatore, infezione intra-addominale complicata, infezione del tratto urinario complicata/pielonefrite acuta) sono stati randomizzati, e 47 con infezione da CRE confermata hanno costituito la popolazione di analisi primaria (microbiologic-CRE-modified intent-to-treat, mCRE-MITT). I pazienti eleggibili sono stati randomizzati in un rapporto 2:1 a meropenem-vaborbactam (2 g/2 g in 3 ore, ogni 8 ore per 7–14 giorni) o BAT (terapia mono/combinata con polimixine, carbapenemi, aminoglicosidi, tigeciclina; o monoterapia ceftazidime-avibactam). Gli endpoint di efficacia includevano: cura dal punto di vista clinico, la mortalità per tutte le cause al

giorno 28, la cura microbiologica e il successo complessivo (cura clinica + eradicazione microbiologica). La monoterapia con MER/VAB per l'infezione da CRE è stata associata a un aumento della cura clinica, una diminuzione della mortalità e una riduzione della nefrotossicità rispetto alla BAT(85).

4.5 IMIPENEM/RELEBACTAM (IMI/REL)

Imipenem/cilastatina/relebactam è una combinazione disponibile per la somministrazione intravenosa. Imipenem è un agente antimicrobico della classe dei carbapenemi che, come altri antibatterici β -lattamici, inibisce il cross-linking del peptidoglicano durante la sintesi della parete cellulare inattivando le proteine leganti la penicillina, portando infine alla lisi e alla morte della cellula batterica. La cilastatina, invece, è un inibitore della deidropeptidasi-I: in questo modo viene ridotto il metabolismo renale dell'imipenem(86). Dunque, la cilastatina non ha alcuna attività antibatterica.

Relebactam è un nuovo inibitore delle β -lattamasi di classe A e C. Sebbene relebactam non abbia attività antibatterica intrinseca, può proteggere l'imipenem dalla degradazione da parte delle β -lattamasi di classe A (ad esempio KPC) e di classe C (ad esempio AmpC) e della cefalosporinasi derivata da *Pseudomonas* (PDC); tuttavia, relebactam non è attivo contro le metallo- β -lattamasi di classe B (MBL) (ad esempio NDM, VIM e IMP) o le oxacillinasi di classe D (ad esempio OXA-48).

Questa combinazione è stata approvata per il trattamento di polmoniti nosocomiali, associate a ventilazione meccanica e ad altre gravi infezioni causate da Gram-negativi quali: infezioni complicate del tratto urinario (inclusa la pielonefrite) e infezioni intra-addominali complicate.

L'efficacia di imipenem/cilastatina/relebactam nel trattamento di pazienti maggiorenni con polmonite nosocomiale e polmonite associata a ventilazione meccanica è stata valutata nello studio di fase III RESTORE IMI-2. Questo studio randomizzato, in doppio cieco e multinazionale ha valutato la non inferiorità di imipenem/cilastatina/relebactam rispetto a piperacillina/tazobactam per il trattamento di polmoniti nosocomiali e polmoniti associate a ventilazione meccanica negli adulti. I pazienti ospedalizzati che necessitavano di terapia antibiotica sono stati randomizzati per ricevere imipenem/cilastatina/relebactam 500/500/250 mg (n = 268) o piperacillina/tazobactam 4 g/500 mg (n = 269) ogni

6 ore come infusione endovenosa di 30 minuti per 7-14 giorni; le dosi sono state aggiustate in base alla funzione renale. Inoltre, linezolid in somministrazione endovenosa è stato aggiunto a entrambi i regimi di trattamento fino a quando le colture respiratorie di base non hanno confermato l'assenza di *Staphylococcus aureus resistente alla meticillina*. La randomizzazione è stata stratificata in base alla diagnosi (polmonite nosocomiale non associata a ventilazione meccanica vs polmonite nosocomiale associata a ventilazione meccanica) e al punteggio dell'Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (APACHE II) (< 15 vs ≥ 15)(87).

L'efficacia di questa combinazione di farmaci per il trattamento delle infezioni non suscettibili all'imipenem, inclusi infezioni complicate del tratto urinario, infezioni intra-addominali complicate e polmoniti nosocomiali e associate a ventilazione meccanica, è stata valutata nello studio di fase III RESTORE IMI-1. In particolare, lo studio supporta l'uso di imipenem/colistina/relebactam come opzione di trattamento adeguata alle infezioni gravi da Gram-negativi, inclusi quei patogeni non suscettibili ai carbapenemi in pazienti ad alto rischio. IMI/REL potrebbe essere preferibile alla terapia basata sulla colistina per il trattamento di infezioni non suscettibili ai carbapenemi, dato che IMI/REL ha mostrato un'efficacia comparabile alla sola associazione imipenem/colistina, ma significativamente meno nefrotossicità e altri eventi avversi(88).

4.6 CEFIDEROCOL

Il cefiderocol presenta una struttura chimica simile alle cefalosporine, da cui si differenzia per la presenza di un gruppo catecolico sulla catena laterale in posizione 3. Ad oggi, l'AIFA indica l'uso di cefiderocol per il trattamento delle infezioni dovute a organismi aerobi gram-negativi negli adulti con opzioni terapeutiche limitate.

Grazie alla presenza di un gruppo catecolico, la molecola risulta più stabile all'azione delle lattamasi e, poiché lo stesso gruppo agisce come sideroforo, questa cefalosporina può oltrepassare la membrana esterna tramite

trasportatori del ferro (oltre che per trasporto passivo). Una volta localizzatosi nel periplasma, il Cefiderocol si dissocia dal ferro e può esplicare la propria azione inibitoria nei confronti delle PBP (in particolar modo agisce sulle PBP3). La combinazione di ingresso efficiente delle cellule e stabilità all'idrolisi della β -lattamasi, permette a cefiderocol di superare i tre principali meccanismi di resistenza: idrolisi enzimatica, mutazione delle porine e sovrapproduzione della pompa di efflusso.

Lo studio CREDIBLE-CR ha valutato la non inferiorità di cefiderocol (2 g ogni 8 ore, somministrato tramite infusione prolungata di 3 ore) rispetto alla miglior terapia disponibile (BAT) in pazienti con polmonite nosocomiale (HAP), polmonite associata a ventilazione meccanica (VAP), sepsi e infezioni complicate del tratto urinario (cUTI), tutte causate da batteri Gram-negativi resistenti ai carbapenemi. Nei casi di HAP/VAP e sepsi, cefiderocol poteva essere combinato con un secondo farmaco (esclusi polimixine, cefalosporine e carbapenemi). Il trattamento, indipendentemente dalla terapia scelta, aveva una durata compresa tra 7 e 14 giorni. I patogeni resistenti ai carbapenemi più frequentemente isolati erano *Acinetobacter baumannii* (46%), *Klebsiella pneumoniae* (33%) e *Pseudomonas aeruginosa* (19%). Per quanto riguarda gli endpoint primari, i risultati per HAP/VAP e sepsi erano simili tra cefiderocol e BAT, sia in termini di risposta clinica alla fine del trattamento (TOC) (HAP/VAP 50% vs 53%; sepsi 43% vs 43%) sia nell'analisi della popolazione modificata per l'intenzione di trattare (mMITT). Per le cUTI, l'outcome era definito come eradicazione microbiologica al TOC, e cefiderocol mostrava una superiorità rispetto alla BAT (53% vs 20%)(89).

La resistenza a cefiderocol non è ancora ben caratterizzata, ma sono state descritte mutazioni del trasportatore del ferro TonB-dipendente. Questi trasportatori TonB-dipendenti sono localizzati sulla membrana esterna dei Gram-negativi, mentre l'energia necessaria al suo funzionamento è determinata dalle proteine presenti sulla membrana interna, esse sono: TonB-ExbB-ExbD. Le mutazioni che portano a una diminuzione dell'espressione di questi componenti

provocano un aumento della concentrazione minima inibente (MIC) dei composti sideroforo-antibiotici, incluso cefiderocol. In particolare, la delezione del gene per i trasportatori PiuA e PirA è stata riportata in *Acinetobacter baumannii* (90).

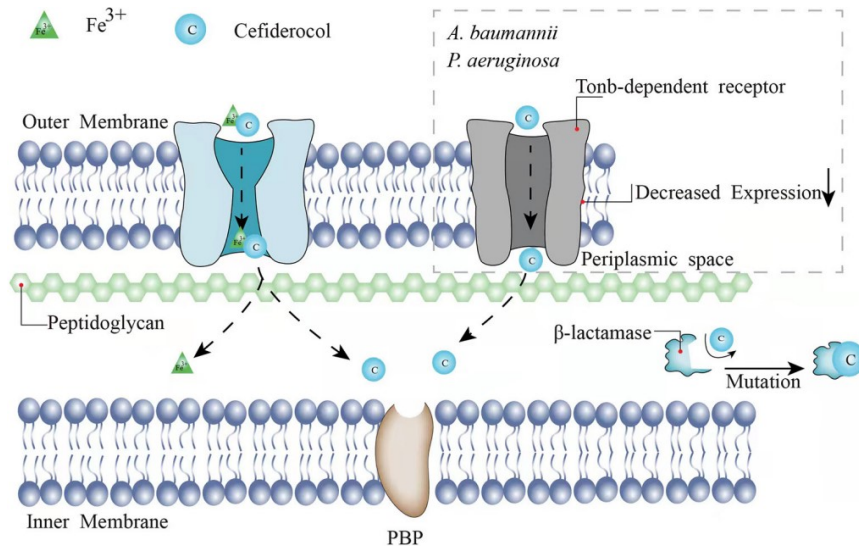


Figura 22 Meccanismo d'azione del Cefidericol (91)

4.7 TRIMETOPRIM/SULFAMETOSSAZOLO (TMP/SMX)

Il Sulfametossazolo, farmaco appartenente alla classe delle sulfonamidi, è un analogo strutturale dell'acido para-aminobenzoico e agisce inibendo la sintesi dell'acido diidrofolic dai suoi precursori. Il Trimetoprim è un analogo strutturale della parte pteridinica dell'acido diidrofolic e inibisce competitivamente la diidrofolato reduttasi, prevenendo così la formazione di tetraidrofolato a partire dall'acido diidrofolic. Questo duplice e sinergico blocco enzimatico lungo la stessa via metabolica si traduce in un'azione battericida(92).

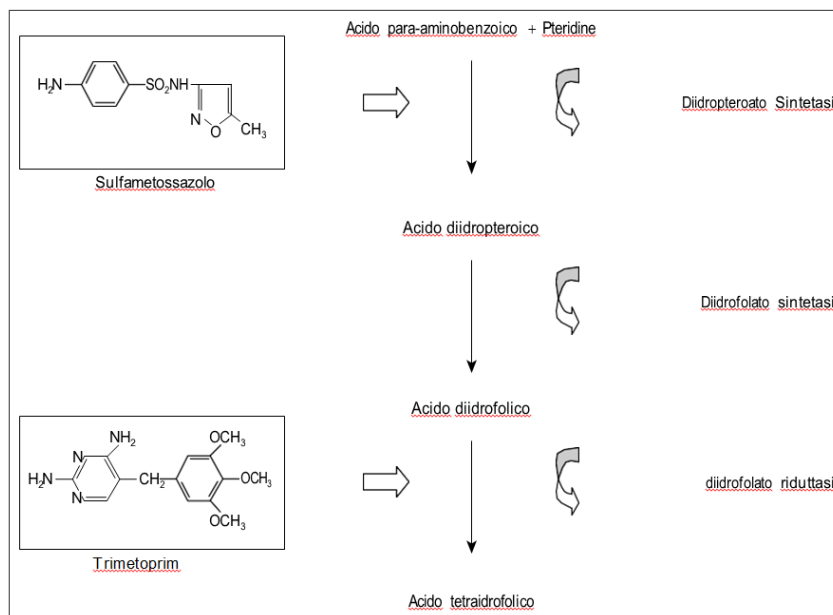


Figura 23 Pathway di sintesi dei folati e siti di azione del trimetoprim e sulfametossazolo(92)

L'associazione trimetoprim/sulfametossazolo è indicata dall'AIFA negli adulti e nei bambini di età superiore a sei settimane per trattare:

- Infezioni delle vie respiratorie: sinusite, bronchite acuta, polmonite (anche dovuta a *Pneumocystis jirovecii*), riacutizzazioni in corso di bronchite cronica o di bronchiectasie;
- Otite media;
- Infezioni renali e delle vie urinarie: cistite, prostatite, uretrite, riacutizzazioni in corso di infezioni croniche delle vie urinarie;
- Infezioni dell'apparato genitale compresa l'uretrite gonococcica;
- Infezioni dell'apparato digerente: infezioni da *Shigella*, da *Salmonella typhi* e *paratyphi* e altre enteriti da germi sensibili;

Inoltre, l'utilizzo di TMP/SMX si è dimostrato efficace nella prevenzione della nocardiosi dopo trapianto d'organo solido (SOT)(93).

4.8 TIGECICLINA

La tigeciclina è una glicilcilina approvata dalla Società americana del farmaco (FDA) nel 2005. Si tratta di un composto semisintetico: infatti la tigeciclina deriva dalla minociclina (appartenente alla classe delle tetracicline) a cui è stato aggiunta una catena laterale di N-alchil-glicilamido al carbonio C9 dell'anello "D" della struttura tetraciclinica. Proprio questa aggiunta conferisce al composto la capacità di evadere alcuni meccanismi di resistenza tipici del composto originale, tra cui l'efflusso mediante pompe specifiche per le tetracicline e la protezione ribosomiale: aspetti cruciali per il funzionamento dell'agente antimicrobico. Come le tetracicline, la tigeciclina è un batteriostatico in quanto inibisce la sintesi proteica legandosi reversibilmente alla subunità 30S del ribosoma batterico e, quindi, viene prevenuto l'accesso del tRNA al sito accettore. Rispetto alle tetracicline, la tigeciclina ha evidenziato una maggiore efficacia contro *enterococchi*, *Acinetobacter* e *Bacteroides fragilis*(94).

La tigeciclina è indicata, dall'EMA e dall'AIFA, negli adulti e nei bambini da otto anni di età per il trattamento delle seguenti infezioni:

- Infezioni complicate della cute e dei tessuti molli, escluse le infezioni del piede diabetico;
- Infezioni complicate intra-addominali;

Da evidenziare che in entrambi i casi la tigeciclina è inserita come ultima linea di trattamento per batteri MDR tra cui Enterobatterales e ha mostrato una buona efficacia nel trattamento di enterococchi vancomicina-resistenti (VRE), ed è stata riportata suscettibilità anche per *C. difficile*(95). Tuttavia, sono state riportate resistenze alla tigeciclina, in particolare in *Enterobatterales* ESBL-producenti, *Acinetobacter baumannii* e *S. marcescens*(96). Tra i meccanismi che possono spiegare la riduzione della suscettibilità si devono evidenziare:

- Produzione di proteine Tet (ad esempio TetX, TetA, TetM, TetK). Si tratta di proteine che alterano la struttura della tigeciclina mediante idrossilazione e conseguente perdita di legame la subunità 30S. Queste

proteine possono subire modificazioni che ne conferiscono un'attività aumentata e possono essere trasmesse mediante diffusione traferimento orizzontale. In particolare, Tet(X) è stata riportata in *Enterobacterales* e in alcuni casi anche nella specie *Acinetobacter*(96);

- Eccessiva espressione delle pompe di efflusso AdeABC, AdeFGH, AdeIJK, MexXY, e AcrAB. Si tratta di geni presenti nel cromosoma di batteri Gram-negativi;

4.9 FOSFOMICINA

La fosfomicina è un antibiotico battericida ad ampio spettro, isolato per la prima volta negli anni Sessanta dello scorso secolo dalla specie *Streptomyces* e attualmente prodotto in maniera sintetica. È un derivato dell'acido fosfonico ad alta polarità e rappresenta una categoria di antibiotici a sé stante. La fosfomicina ha un meccanismo d'azione peculiare in quanto inibisce irreversibilmente la sintesi della parete batterica. In particolare, questa molecola entra nel citoplasma della cellula batterica mediante trasporto attivo delle proteine GlpT e UhpT mimando le molecole normalmente trasportate: rispettivamente Glucosio-6-fosfato (G6P) e Glicerolo-3-fosfato (G3P). Una volta nel citoplasma, la fosfomicina agisce come un analogo del fosfoenolpiruvato e si lega a MurA (UDP-GlcNAc enopiruvil transferasi) determinando l'inattivazione di questo enzima cruciale per la sintesi del peptidoglicano con conseguente lisi della cellula batterica. Da evidenziare che la fosfomicina ha dimostrato avere buona attività, sia in vitro che in vivo, contro *Enterobacterales* MDR, XDR, produttori ESBL, metallo- β -lattamasi e resistenti a carbapenemi: infatti la fosfomicina può essere usata per il trattamento d'infezioni causati dai patogeni riportati, specialmente se associati ad antibiotici di classe diversa(97). I meccanismi di resistenza possibili per questa classe di antimicrobico fino ad ora proposti sono i seguenti:

- Mutazioni dei trasportatori GlpT e UhpT che riducono l'affinità e quindi l'uptake della fosfomicina;

- Mutazioni puntiformi del gene MurA che riducono affinità del legame (meccanismo riportato in *E.coli*);
- Produzione di metallo-enzimi che causano inattivazione per fosforilazione o clivaggio. Nello specifico, sono state descritte le proteine FosA, FosB, FosX che tagliano la struttura epossidica della fosfomicina. FomA e FomB determinano rispettivamente fosforilazione della fosfomicina in forma difosfato e trifosfato;

Per quanto riguarda le indicazioni terapeutiche, l'AIFA distingue tra uso endovenoso e uso orale. La fosfomicina per via endovenosa deve essere utilizzata solo per il trattamento delle seguenti gravi infezioni, qualora altri trattamenti antibiotici si rivelino non adeguati: infezioni complicate delle vie urinarie, endocardite infettiva, infezioni osteoarticolari, polmonite contratta in ospedale, compresa la polmonite associata a ventilazione meccanica, infezioni complicate della pelle e dei tessuti molli, meningite batterica, infezioni intra-addominali complicate e batteremia presumibilmente associata a una delle infezioni sopra elencate. Per quanto concerne la fosfomicina per uso orale sono attualmente disponibili il granulato da 3 g (fosfomicina trometamolo) e le capsule per uso orale (fosfomicina calcica): possono essere utilizzati per il trattamento della cistite acuta non complicata nelle donne e nelle adolescenti. Fosfomicina trometamolo può continuare ad essere utilizzata anche come profilassi negli uomini che si sottopongono a biopsia prostatica transrettale.

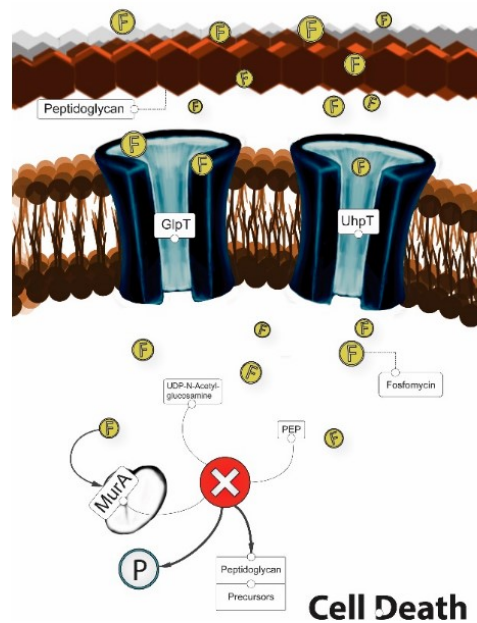


Figura 24 Panoramica del meccanismo di entrata e di azione della fosfomicina(97)

4.10 COLISTINA

La colistina è un agente antimicrobico prodotta dal *Bacillus colistinus*, appartenente alla classe delle polimixine, in particolare questa molecola è nota anche come polimixina E. La colistina e la polimixina B rappresentano le uniche due molecole di questa famiglia di farmaci attualmente in uso in ambito clinico. Per numerosi anni questi composti sono stati esclusi dall'utilizzo nel trattamento delle infezioni batteriche a causa degli effetti avversi (in particolare neurotossicità e nefrotossicità dose-dipendente). Tuttavia, a causa dell'incessante aumento del numero di patogeni resistenti, il loro impiego è stato rivalutato e, ad oggi, rappresentano l'ultima linea di trattamento dopo il fallimento terapeutico di agenti antimicrobici più sicuri. In particolare, la colistina può rappresentare l'unico trattamento funzionante nei confronti di *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* resistente ai carbapenemi e *Haemophilus influenzae*. Sono disponibili due formulazioni di colistina: colistina solfato per uso orale e topico (ad esempio uso oftalmico e otologico), colistemetato di sodio per uso parenterale. Le polimixine svolgono la

loro funzione determinando la rottura della membrana cellulare dei batteri: per fare ciò attraversano la membrana esterna dei Gram-negativi grazie alla loro natura anfipatica e si legano alla componente lipidica A dell'LPS provocando un'alterazione del LPS stesso e della membrana esterna del batterio. Altri meccanismi d'azione riportati in letteratura descrivono la fusione del foglietto interno della membrana esterna con la membrana plasmatica del batterio tramite vescicole che si formano a causa del passaggio delle polimixine. Un altro meccanismo proposto è quello della formazione di ROS una volta che l'agente antimicrobico si localizza nel citoplasma. Sono stati riportati casi di resistenza, in particolar modo da parte di *Acinetobacter* e *Klebsiella*, principalmente per modificazione di LPS e sviluppo di enzimi inattivanti le polimixine. Degno di nota è il fatto che alcune specie batteriche, come *Serratia marcescens*, specie *Proteus*, specie *Providencia*, *Morganella morganii*, *Vibrio cholera*, *Brucella*, *Campylobacter*, *Legionella*, *Chromobacterium*, specie *Neisseria*, alcune specie di *Aeromonas*, *Burkholderia cepacia*, possiedono una resistenza intrinseca alla colistina.

5 SCOPO DELLA TESI

Lo scopo principale di questo studio è di descrivere i dati epidemiologici-microbiologici dei batteri Gram-negativi presso l'ULSS3 Serenissima, dal 1 gennaio 2022 al 31 dicembre 2023.

Gli obiettivi secondari erano: descrivere l'incidenza delle varie resistenze microbiologiche alle principali molecole antinfettive, valutare la frequenza degli isolati microbiologici e i loro meccanismi di resistenza a livello territoriale e ospedaliero (degenza ordinaria e terapia intensiva) e descrivere la frequenza delle resistenze a carico dei nuovi antibiotici, quali:

- Ceftolozano/Tazobactam;
- Ceftazidime/Avibactam;
- Meropenem/Vaborbactam;

6 MATERIALI E METODI

6.1 DISEGNO DELLO STUDIO

È stato condotto uno studio osservazionale retrospettivo multicentrico da gennaio 2022 a dicembre 2023 che ha coinvolto:

- Il distretto di Chioggia;
- Il distretto del veneziano (Venezia città storica e isole);
- Il distretto del veneziano terraferma (Mestre, Marcon e Quarto d'Altino);
- Il distretto di Mirano-Dolo (incluso da gennaio 2023);

6.2 CRITERI DI ARRUOLAMENTO

I criteri di inclusione sono stati i seguenti:

- Tutti gli isolamenti microbiologici da Gram negativi riscontrati in vari campionamenti microbiologici

I criteri di esclusione sono stati:

- Riscontro di isolamenti di Gram Positivi
- Riscontro di isolamenti di Fungini
- Riscontro di isolamenti di microrganismi anaerobi
- Riscontro di isolamenti di microrganismi atipici o micobatteri
- Isolamenti multipli avvenuti entro i 30 giorni, con stesso fenotipo, nello stesso paziente, provenienti dallo stesso distretto corporeo;

6.3 ANALISI MICROBIOLOGICA

Sono stati campionati diversi materiali biologici, quali ad esempio: urocoltura, tampone cutaneo-ulcera-pus, vie respiratorie mediante BAL, materiale addominale (bile-liquido peritoneale-feci), tampone otologico, tampone

faringeo, tampone naso-faringeo, tampone vaginale, tampone uretrale, aspirato osso-articolare-protesi, emocolture, tampone congiuntivale, tampone rettale, da liquor cefalo-rachidiano mediante puntura lombare, liquido pleurico, da protesi vascolare, liquido pericardico, linfonodo e materiale vario.

Il sangue prelevato è stato inoculato in flaconi speciali BACTEC (Becton, Dickinson and Company (BD), Franklin Lakes, New Jersey, USA). Dopo l'inoculazione, i flaconi sono stati inseriti nell'incubatore BACTEC a 37°C.

Una volta segnalato un flacone positivo l'identificazione dei microrganismi isolati è stata eseguita mediante metodica Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization (MALDI-TOF) (Bruker Corporation, Billerica, MA, USA) e Microscan (Beckman Coulter, Brea, CA, USA). Per quanto riguarda la determinazione della MIC sono stati eseguiti mediante sistema automatizzato di microdiluzione Microscan. L'interpretazione della MIC è avvenuta secondo i criteri EUCAST 13.0, anno 2023(98).

6.4 ANALISI STATISTICA

I dati sono stati raccolti mediante Microsoft Excel® (Redmond, Washington, USA). Per prima cosa si è proceduto a raggruppare i dati dei singoli microrganismi isolati in base alla specie di appartenenza. Sono stati raggruppati come "Altri gram negativi": *Actinotignum schaalii*, *Burkholderia gladioli*, *Delftia acidovorans*, *Fusobacterium gonidiaformans*, *Fusobacterium mortiferum*, *Fusobacterium necrophorum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Hafnia alvei*, *Kluyvera intermedia*, *Kosakonia cowanii*, *Moraxella catarrhalis*, *Moraxella osloensis*, *Pantoea agglomerans*, *Parabacteroides distasonis*, *Porphyromonas somerae*, *Prevotella bivia*, *Prevotella baroniae*, *Prevotella buccae*, *Prevotella oris*, *Prevotella timonensis*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Psychrobacter phenylpyruvicus*, *Raoultella ornithinolytica*, *Veillonella parvula*, *Veillonella ratti*, *Vibrio albensis*, *Yersinia enterocolitica*. La percentuale di sensibilità della specie ai vari antibiotici è stata definita come il rapporto tra il totale dei microrganismi sensibili a quel determinato antibiotico (numeratore) rapportato al numero

totale di microrganismi isolati appartenente a quella specie (denominatore), espresso in percentuale. Per i Gram-negativi non fermentanti la percentuale di sensibilità è stata definita come il rapporto di tutti gli isolati Sensibili o Intermedi ad un determinato antibiotico, rapportati al numero totale degli isolati, espresso in percentuale.

7 RISULTATI

7.1 CARATTERISTICHE GENERALI

Sono stati isolati in totale 21,006 microrganismi di cui 10,172 nel 2022 e 10,834 nel 2023. Nel 2022 sono stati isolati 776 microrganismi da emocolture, mentre nel 2023 gli isolati da emocolture sono stati 995.

Per quanto riguarda la prevalenza dei patogeni Gram-negativi isolati da emocolture, *E. coli* si è confermato il microrganismo più riscontrato: infatti, è stato isolato 296 volte (30%) nel 2022 e 331 volte (57%) nel 2023. Si è mantenuta, invece, stabile la percentuale di *K. pneumoniae*: dal 25% (241 riscontri) al 23% (137 riscontri). Nel 2022 *P. aeruginosa* ha rappresentato il terzo patogeno più isolato da emocoltura con 121 riscontri pari al 12%, seguito da *A. baumannii* che è stato isolato 54 volte (5%). Nel 2023 i due germi isolati più volte sono stati *E. coli* e *K. pneumoniae* rispettivamente con 331 isolati (57%) e 137 isolati (23%). I dati degli isolati da emocolture sono riportati nelle figure 25 e 26.

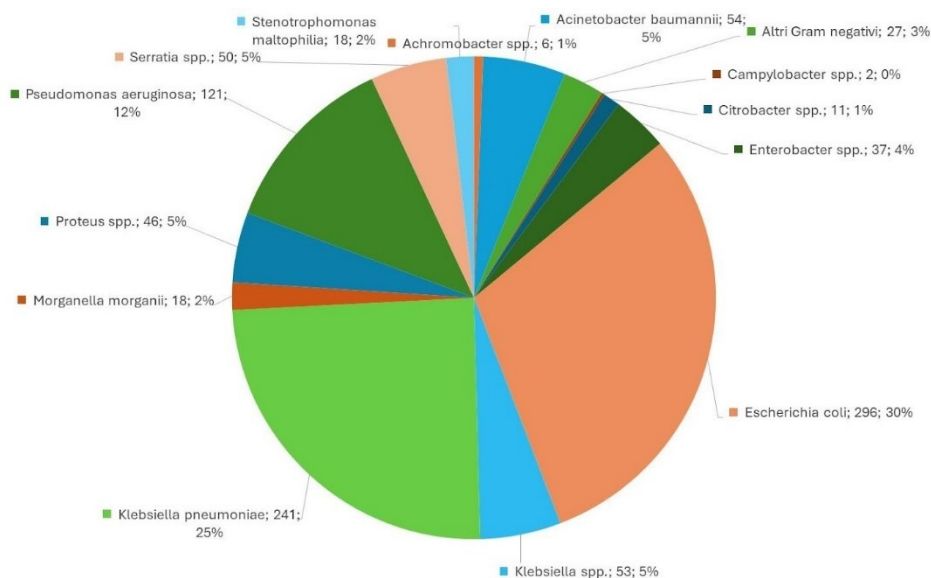


Figura 25 Gram-negativi isolati da emocolture nel 2022

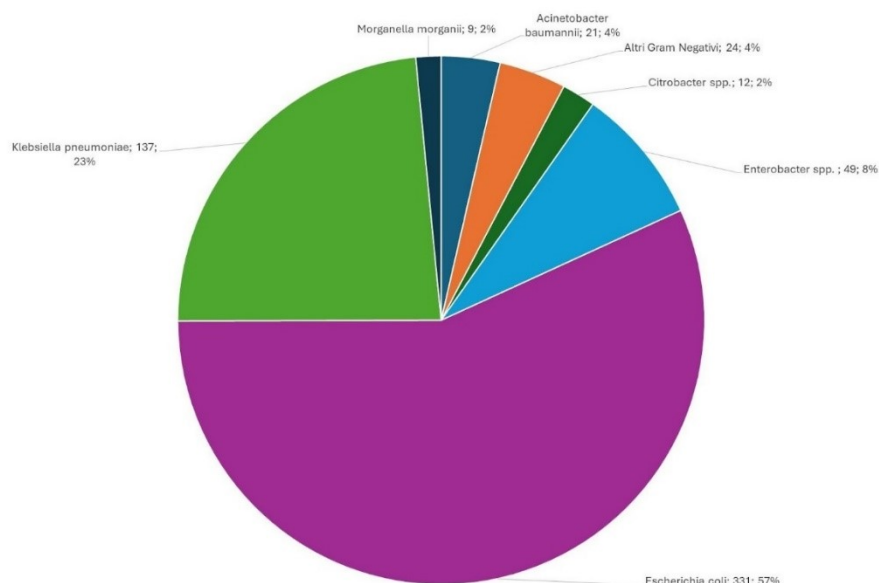


Figura 26 Gram-negativi isolati da emocolture nel 2023

7.2 ISOLAMENTI PER DISTRETTI SANITARI

Nel 2022 la situazione, nei vari distretti sanitari, è stata la seguente:

- Distretto di Venezia terraferma (Mestre): in ambito territoriale il germe isolato più frequentemente è stato *E. coli* (isolato 1424 volte, 56.46%), seguito da *Klebsiella* spp. (esclusa *K. pneumoniae*) (267 isolati, 10.59%) e *P. aeruginosa* (91 isolati, 3.61%). Nei reparti di degenza ordinaria il più isolato è stato *E. coli* (939 isolati, 19.91%), seguito da *K. pneumoniae* (731 isolati, 15.50%) e *P. aeruginosa* (382 isolati, 8.10%). Nelle terapie intensive il microrganismo più riscontrato è risultato essere *P. aeruginosa* (173 isolati, 18.21%), seguito da *K. pneumoniae* (145 isolati, 15.26%) e da *S. maltophilia* (88 isolati, 9.26%).
- Distretto di Venezia terraferma (Marcon e Quarto d'Altino): in ambito territoriale il microrganismo isolato più spesso è stato *E. coli* (129 isolati, 67.54%), seguito da *K. pneumoniae* (13 riscontri, 6.8%).

- Distretto del Veneziano (Venezia città storica e isole): per quanto concerne il territorio, il batterio più frequentemente isolato è risultato essere *E. coli* (isolato 773 volte, pari 44.32%), il secondo germe più riscontrato è stato *K. pneumoniae* con 278 isolati (15.94%), seguito da specie *Proteus* che è stato riscontrato 85 volte (4.87%). Nei reparti di degenza ordinaria il germe più frequente è risultato essere *K. pneumoniae* con 490 isolamenti (22.87%), seguito *E. coli* con 384 isolati (17.92%). Nei reparti di terapia intensiva il patogeno più frequentemente isolato è stato *A. baumannii* (91 riscontri pari al 18.31%), il secondo è stato *K. pneumoniae* con 82 isolati (16.50%), mentre il terzo è stato *P. aeruginosa* (riscontrato 63 volte pari 12.68%).
- Distretto di Chioggia: a livello territoriale il primo germe per numero di riscontri è stato *E. coli* con 392 isolati (50,65%) seguito da *K. pneumoniae* con 119 isolati (15.37%). I reparti di degenza ordinaria hanno avuto come patogeno più isolato *K. pneumoniae* con 188 riscontri (26.22%), mentre *E. coli* è stato isolato 142 volte (19.80%). Nei reparti di rianimazione il patogeno *K. pneumoniae* è stato isolato 57 volte (22.53%), *P. aeruginosa* 55 volte (21.74%), *E. coli* è stato il terzo patogeno più isolato con 28 riscontri (11.07%), mentre il quarto è risultato essere *A. baumannii* con 22 isolati (8.70%).

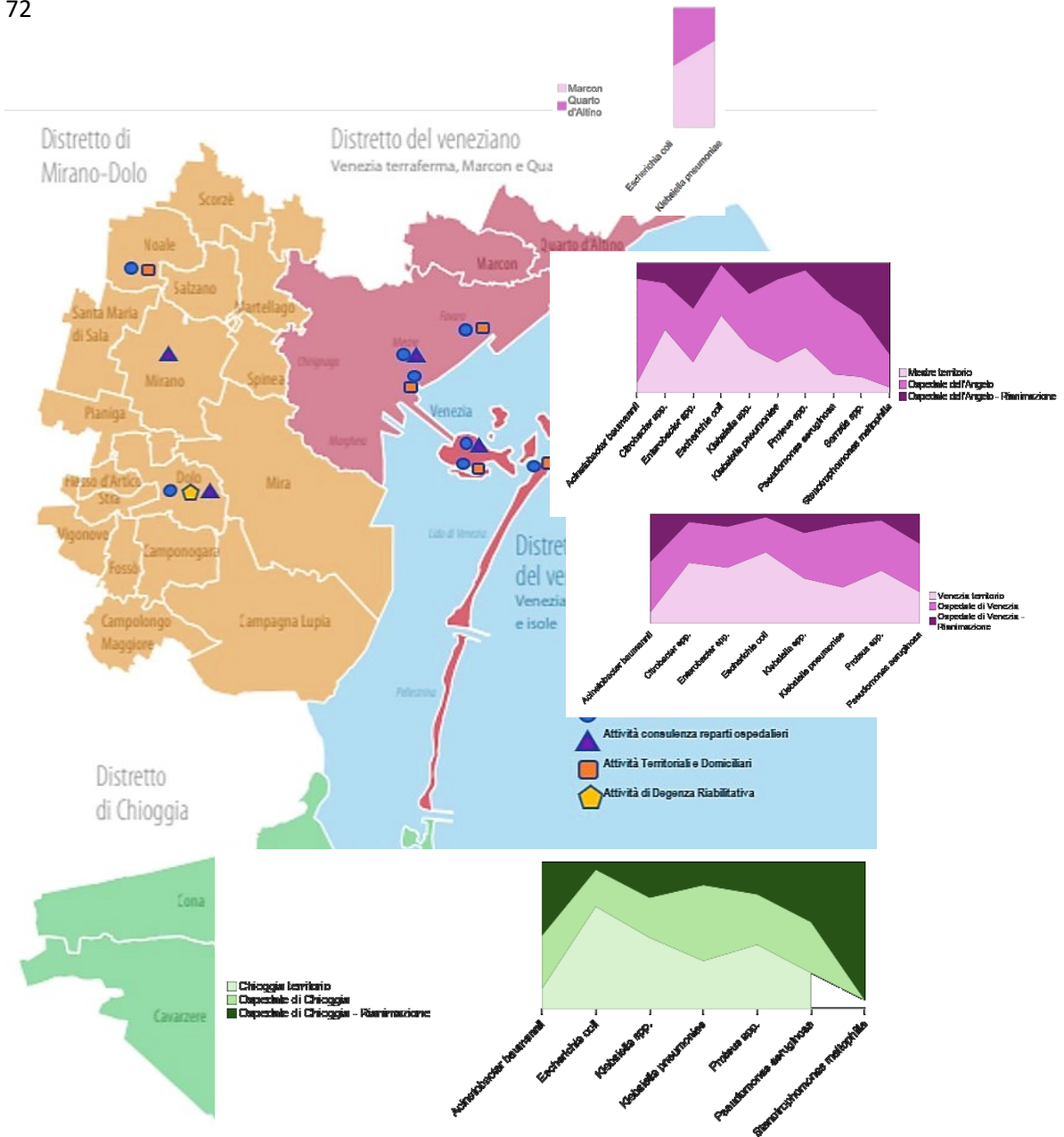


Figura 27 Grafico ad area stratificata che rappresenta la prevalenza di diversi batteri Gram-negativi nei territori divisi per territorio, per ospedale di territorio separando la rianimazione dagli altri reparti, 2022

Per quel concerne la situazione nel 2023, i vari distretti sono stati caratterizzati nel seguente modo:

- Distretto di Venezia terraferma (Mestre): in ambito territoriale il germe isolato più frequentemente è stato *E. coli* (isolato 1434 volte, 53.71%) seguito dalla specie *Klebsiella* (347 isolati, 13%) e *P. aeruginosa* (121 isolati, 4.53%). Nei reparti di degenza ordinaria il più isolato è stato *E. coli* con 902 isolati complessivi (22.49%), seguito da *P. aeruginosa* (362

riscontri corrispondenti al 9.03%). Nelle terapie intensive il microrganismo più riscontrato è risultato essere *P. aeruginosa* (246 isolati che corrispondono al 27.09%), seguito dalla specie *Klebsiella* (118 isolati pari al 13%).

- Distretto di Venezia terraferma (Marcon e Quarto d'Altino): in questo caso il germe più isolato è stato *E. coli* (121 isolati, 68.36%) seguito dalla specie *Klebsiella* (18 isolati, 10.17%).
- Distretto del Veneziano (Venezia città storica e isole): a livello territoriale il batterio più frequentemente isolato è risultato essere *E. coli* con 642 isolati (48.56%), con la specie *Klebsiella* al secondo posto con 187 isolati (14.15%). Nei reparti di degenza ordinaria il germe più frequente è risultato essere la specie *Klebsiella* (346 riscontri), seguito *E. coli* con 328 isolati (17.92%). Nei reparti di terapia intensiva la specie *Klebsiella* è stata isolata 78 volte (21.91%), al secondo posto per numero di isolati si trova *P. aeruginosa* (49 riscontri totali pari al 13.76%).
- Distretto di Chioggia: a livello territoriale il primo germe per numero di riscontri è stato *E. coli* con 380 isolati (51.21%) seguito da *K. pneumoniae* con 101 isolati (13.61%) e da *P. aeruginosa* con 56 riscontri (7.55%). Nei reparti di degenza ordinaria la specie *Klebsiella* si colloca al primo posto con 205 isolati (25.22%), seguito da *E. coli* (131 isolamenti pari al 16.11%). Nei reparti di rianimazione il patogeno isolato più di frequente è risultato *P. aeruginosa* (41 isolati), seguito da *E. coli* (34 riscontri).
- Distretto di Mirano-Dolo: per quel che riguarda il territorio, il patogeno più comunemente riscontrato è stato *E. coli* con 219 isolati (50.34%), il secondo germe per numero di ritrovamenti è risultato essere *K. pneumoniae* con 32 isolati (7.36%). Nei reparti di degenza ordinaria l'ordine è stato il medesimo con *E. coli* primo per i 62 riscontri e con *K. pneumoniae* secondo (39 isolati). Nei reparti di terapia intensiva *P.*

aeruginosa è stato il più frequente con 42 isolati (35.90%), seguito dai 12 isolati della specie *Serratia*.

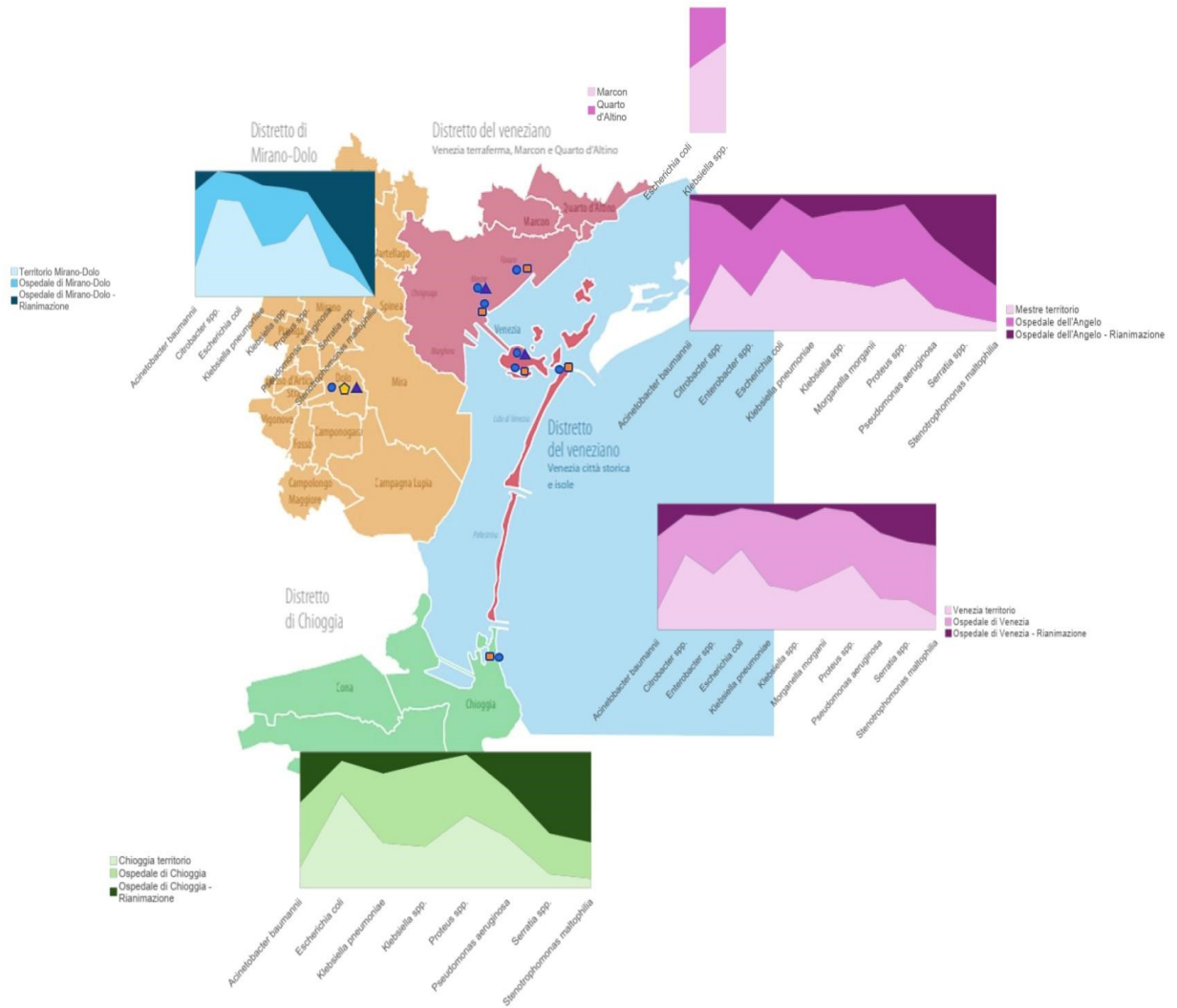


Figura 28 Grafico ad area stratificata che rappresenta la prevalenza di diversi batteri Gram-negativi nei territori divisi per territorio, per ospedale di territorio separando la rianimazione dagli altri reparti, 2023

Microorganismo	Gram Negativi 2022											Totale (14,508)
	Chioggia			Mestre			Venezia			Altri distretti		
	Territorio (774)	Ospedale (717)	Terapia Intensiva (253)	Territorio (2,522)	Ospedale (4,717)	Terapia Intensiva (949)	Territorio (1,744)	Ospedale (2,143)	Terapia Intensiva (497)	Marcon (106)	Quarto d'Altino (85)	
<i>Achromobacter</i> spp.	1	0	0	0	16	11	6	2	4	0	0	40
<i>Acinetobacter</i> spp.	2	2	0	2	5	1	9	2	0	0	0	23
<i>Acinetobacter baumannii</i>	6	16	22	11	120	18	21	97	91	0	1	403
<i>Aeromonas</i> spp.	0	3	0	1	5	1	0	1	1	0	0	12
Altri Gram Negativi	0	6	1	17	39	13	19	11	2	0	2	110
<i>Campylobacter</i> spp.	5	4	0	8	11	0	8	4	0	1	1	42
<i>Citrobacter</i> spp.	9	3	2	62	46	20	31	21	4	4	1	203
<i>Enterobacter</i> spp.	6	10	2	31	55	47	31	23	7	0	2	214
<i>Escherichia coli</i>	392	142	28	1,424	939	36	773	384	33	72	57	4,280
<i>Haemophilus</i> spp.	0.13%	0.14%	0.40%	0.08%	0.28%	1.58%	0.29%	0.05%	0.00%	0.00%	0.00%	0.27%
<i>Klebsiella</i> spp.	16	9	8	77	93	53	38	39	16	2	1	352
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	119	188	57	267	731	145	278	490	82	13	3	2,376
<i>Morganella morganii</i>	8	6	4	22	39	4	14	25	2	0	3	127
<i>Proteus</i> spp.	14	11	7	87	149	14	85	82	10	5	4	468
<i>Pseudomonas</i> spp.	1	3	0	0	1	0	0	2	0	0	0	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	33	47	55	91	382	173	66	104	63	0	0	1,014
<i>Salmonella</i> spp.	1	2	0	1	9	0	4	8	0	1	0	26
<i>Serratia</i> spp.	0	9	7	18	70	61	14	13	7	0	0	199
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0	1	16	5	32	88	2	9	12	0	0	165

Microorganismo	Gram Negativi 2023											Totale (13,860)			
	Chioggia			Mestre			Venezia			Altri distretti			Mirano-Dolo		
	Territorio (742)	Ospedale (813)	Terapia Intensiva (212)	Territorio (2,670)	Ospedale (4,011)	Terapia Intensiva (908)	Territorio (1,322)	Ospedale (1,796)	Terapia Intensiva (356)	Marcon (89)	Quarto d'Altino (88)		Territorio (435)	Ospedale (301)	Terapia Intensiva (117)
<i>Achromobacter</i> spp.	0	1	1	1	5	7	1	2	0	0	0	0	0	0	18
<i>Acinetobacter baumannii</i>	4	13	10	3	86	3	17	64	28	0	1	3	8	2	242
<i>Acinetobacter</i> spp.	0	0	1	4	8	4	1	1	1	0	0	3	1	1	25
Altri Gram Negativi	0	4	1	10	24	7	5	6	3	0	0	1	1	0	62
<i>Campylobacter</i> spp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter</i> spp.	12	8	0	62	54	10	42	22	6	1	2	14	4	0	237
<i>Enterobacter</i> spp.	7	10	7	43	83	45	23	24	5	0	2	3	1	6	259
<i>Escherichia coli</i>	380	131	34	1,434	902	56	642	328	32	62	59	219	62	8	4,349
<i>Haemophilus</i> spp.	0.40%	0.25%	0.94%	0.67%	0.92%	2.20%	0.53%	0.39%	0.84%	0.00%	0.00%	2.07%	0.33%	2.56%	0.81%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	21	33	10	67	78	30	45	75	8	3	3	32	39	9	453
<i>Morganella morganii</i>	10	8	3	25	44	9	14	20	1	0	1	3	2	0	140
<i>Prevotella</i> spp.	4	0	0	6	7	0	2	0	0	0	0	1	0	0	20
<i>Proteus</i> spp.	31	26	1	109	154	20	67	55	8	2	3	20	5	5	506
<i>Providencia</i> spp.	4	1	0	5	9	2	5	4	1	0	0	0	0	0	31
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	56	54	41	121	362	246	52	112	49	1	0	24	32	42	1,192
<i>Pseudomonas</i> spp.	1	0	0	6	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	9
<i>Serratia</i> spp.	2	6	12	11	40	54	7	14	9	0	0	3	3	12	173
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	4	10	3	14	35	1	5	3	0	0	0	0	1	77

Figura 29 Tabella III Numero di isolamenti per specie e ambiente di raccolta del materiale nei diversi distretti, 2022 e 2023

7.3 CONFRONTO TRA 2022 E 2023

I patogeni più frequentemente isolati erano: *E. coli* con 4280 isolati (29.50%), a seguire *K. pneumoniae* 2376 volte (16.38%), *P. aeruginosa* con 1014 isolamenti (6.99%), la specie *Proteus* (*P. mirabilis*, *P. hauseri*, *P. penneri*, *P. vulgaris*) con un totale di 468 (3.23%) e *A. baumannii* con 403 (2.78%). Per quanto riguarda il 2023, *E. coli* si è confermato il primo microorganismo Gram-negativo essendo stato isolato 4349 volte (31.38%), seguito dalla specie *Klebsiella* (*K. aerogenes*, *K. oxytoca*, *K. varicola*) con 1984 (14.31%), *P. aeruginosa* isolata 1,192 volte (8.60%), *K. pneumoniae* (pari al 3.27% essendo stata riscontrata 453 volte) e *A. baumannii* 242 volte (1.75%).

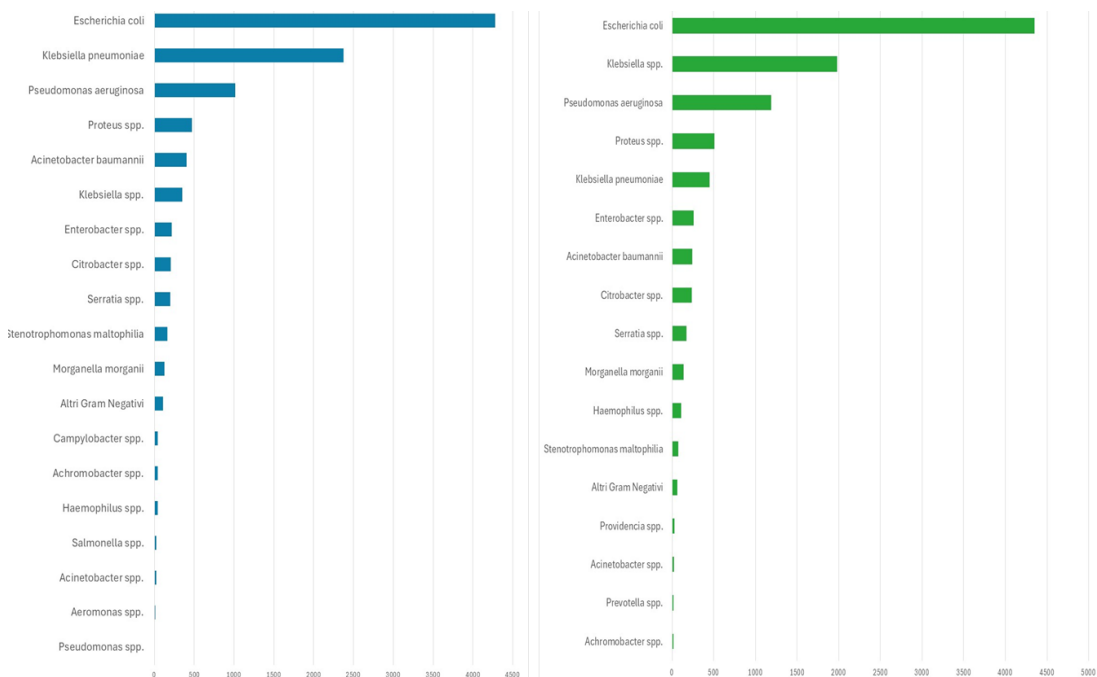


Figura 30 Isolamenti Gram negativi da tutti i campionamenti 2022 (a sinistra) e 2023 (a destra)

Dagli isolati eseguiti sul territorio *E. coli* è stato il germe più comunemente riscontrato in entrambi gli anni dello studio (51.95% nel 2022 e 52.3% nel 2023). Al secondo posto, invece, si ritrova *K. pneumoniae* nel 2022 (12.94%) e la specie *Klebsiella* nel 2023 (12.72%). Al terzo posto nel 2022 si trova la specie *Proteus* (3.72%) che nel 2023 ha, invece, rappresentato la quarta categoria in ordine di

isolamenti (4.34%), viceversa, *P. aeruginosa* è salita dal quarto posto, nel primo anno dello studio, al terzo posto nel 2023 (4.75%).

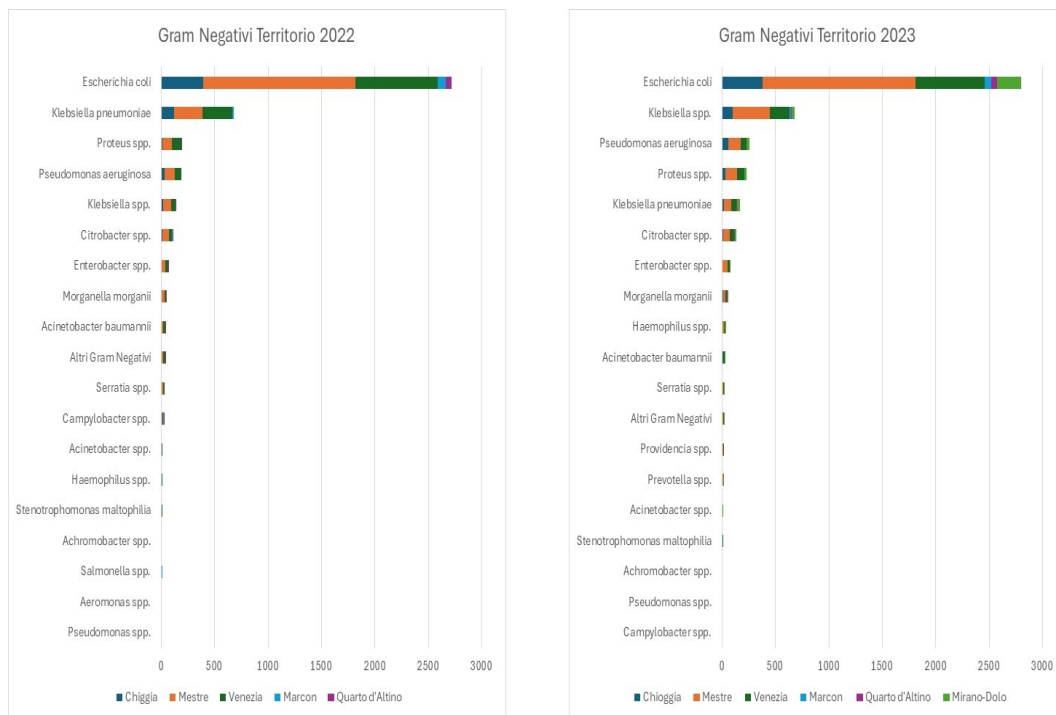


Figura 31 Microrganismi Gram-negativi isolati nel territorio (TI) nel 2022 (a sinistra) e nel 2023 (a destra)

Nei reparti di degenza ordinaria *E. coli* è stato il più frequentemente riscontrato in entrambi gli anni presi in considerazione (19.33% nel 2022, 20,56% nel 2023). Al secondo posto nel 2022 si ritrova *K. pneumoniae* (18.6%), mentre nel 2023 la specie *Klebsiella* è stata la seconda più isolata (15.50%). Nei due anni dello studio sia il terzo che il quarto patogeno sono rimasti invariati: si tratta, rispettivamente, di *P. aeruginosa* (7.03% nel 2022, 8.09% nel 2023) e della specie *Proteus* (3.19% nel 2022, 3.47% nel 2023).

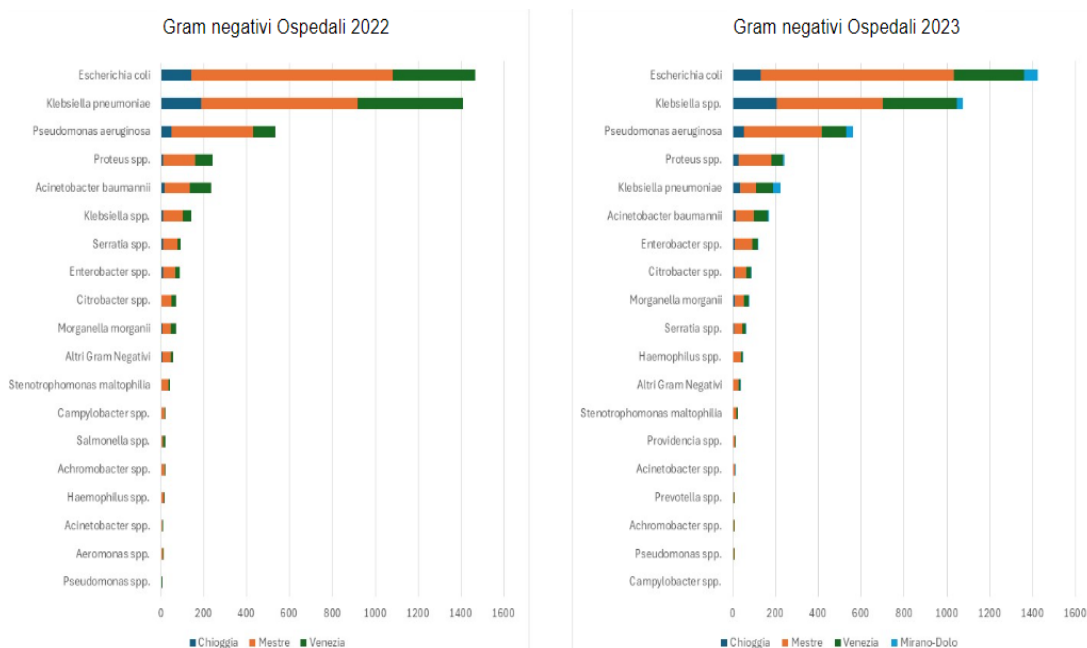


Figura 32 Microrganismi Gram-negativi isolati nei reparti di degenza ordinaria (TI) nel 2022 (a sinistra) e nel 2023 (a destra)

Nei reparti di rianimazione, facendo riferimento ai 1246 isolamenti effettuati all'anno 2022, il microorganismo isolato più rappresentato è *P. aeruginosa* con 291 riscontri (23.36%), seguito da *K. pneumoniae* a 284 (22.79%). Al terzo posto, si ritrova poi *A. baumannii* (isolato 131 volte, corrispondente al 10.5%), seguito da *S. maltophilia* che è stato isolato 116 volte (9.3%). *E. coli* ha rappresentato, nel 2022, il quinto microorganismo per numero di isolamenti, seguito dalla specie *Klebsiella*, poi specie *Serratia* ed *Enterobacter*.

Nel 2023 sono stati inclusi nello studio 1255 campioni analizzati e, anche in questo caso, il microorganismo più frequente è stato *P. aeruginosa*, aumentando, con 378 riscontri, al 30.12%: si segnala che è stato il più isolato anche nel territorio di Mirano-Dolo che è stato inserito proprio dal primo gennaio 2023. Da evidenziare l'aumento di *E. coli* al terzo posto e dei microorganismi della specie *Serratia* al quarto posto. Nel 2023, i microorganismi della specie *Enterobacter* si sono piazzati al quinto posto, mentre *S. maltophilia* e *A. baumannii* sono scesi rispettivamente al settimo e ottavo posto per numero di isolati.

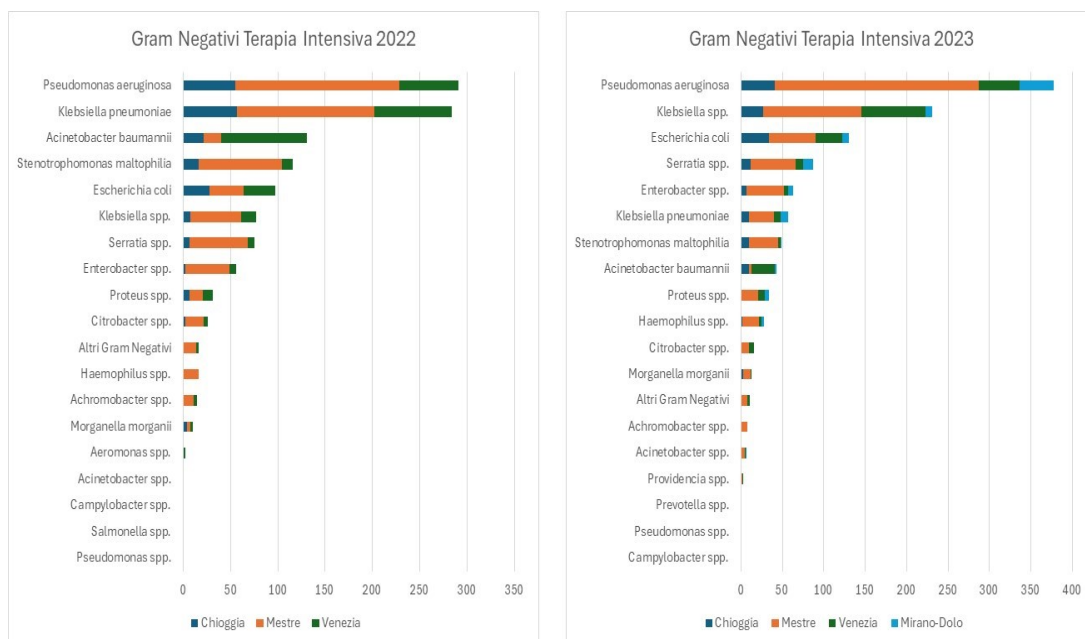


Figura 33 Microrganismi Gram-negativi isolati in terapia intensiva (TI) nel 2022 (a sinistra) e nel 2023 (a destra)

7.3 SENSIBILITÀ AGLI ANTIBIOTICI NELLA FAMIGLIA ENTEROBATTERALES

7.3.1 Sensibilità nella popolazione generale

In merito alle cefalosporine di III generazione, il patogeno con la sensibilità minore è stato *K. pneumoniae* con una sensibilità pari a 31.36% nel 2022 e a 37.67% nel 2023, seguito nel 2022 da *Morganella morganii* che ha mostrato una sensibilità a questa classe di antimicrobici pari 58.27%, mentre nel 2023 la specie *Klebsiella* si è posizionata al secondo posto con il 48.02%. Per quanto riguarda Cefepime il patogeno con sensibilità minore è risultato essere ancora *Klebsiella pneumoniae* con il 31.10% nel 2022 e il 36.67% nel 2023. Al secondo posto, nel 2022 si evidenzia la *Proteus* spp. (79.91%). Considerando Piperacillina/Tazobactam il germe più resistenze è stato *K. pneumoniae* con sensibilità pari a 35.94% nel 2022 e al 41.01% nel 2023, seguito nel primo anno di studio dalla specie *Enterobacter* (79.44%) e dalla specie *Klebsiella* nel 2023 (51.35%). La sensibilità a Meropenem è rimasta superiore al 98% in entrambi gli anni di studio tranne che per *K. pneumoniae* che ha evidenziato una sensibilità

pari al 46.55% nel 2022 e al 49.68% nel 2023. Riguardo all'associazione Ceftazolanolo/Tazobactam, le sensibilità si sono mantenute sopra il 90% per tutti i germi ad eccezione di *K. pneumoniae* (46.55%) e specie *Enterobacter* (82.24%). Nel 2023 le sensibilità minori si sono riscontrate in *K. pneumoniae* (48.40%) e nella specie *Klebsiella* (58.05%). L'associazione Ceftazidime/Avibactam ha evidenziato sensibilità superiori al 95% in entrambi gli anni: infatti *E. coli* è stato il più resistente nel 2022 con sensibilità del 95.02%, mentre nel 2023 è stata *Serratia* spp. con il 96.88%. Come già esplicito in precedenza Meropenem/Vaborbactam è stato testato solo nel 2023, nel quale *K. Pneumoniae* ha mostrato la resistenza più bassa (79.76%).

2022						
Microrganismo	CEFTAZIDIME/CEFTRIAXONE/CEFOTAXIME	CEFEPIME	PIPERACILLINA/TAZOBACTAM	MEROPENEM	CEFTOLOZANO/TAZOBACTAM	CEFTAZIDIME/AVIBACTAM
Citrobacter spp.	91.13%	96.55%	94.58%	99.51%	93.60%	98.03%
Enterobacter spp.	68.69%	80.37%	79.44%	99.53%	82.24%	99.53%
Escherichia coli	82.08%	82.94%	95.21%	99.60%	93.41%	95.02%
Klebsiella spp.	84.94%	93.47%	86.65%	98.30%	91.48%	99.43%
Klebsiella pneumoniae	31.36%	31.10%	35.94%	46.55%	41.33%	97.73%
Morganella morganii	58.27%	92.13%	96.85%	99.21%	92.13%	96.06%
Proteus spp.	81.20%	79.91%	98.72%	99.79%	93.59%	99.36%
Serratia spp.	90.95%	92.46%	89.45%	97.49%	91.96%	99.50%

Figura 34 Sensibilità degli Enterobacterales ai beta-lattamici nella popolazione generale, 2022

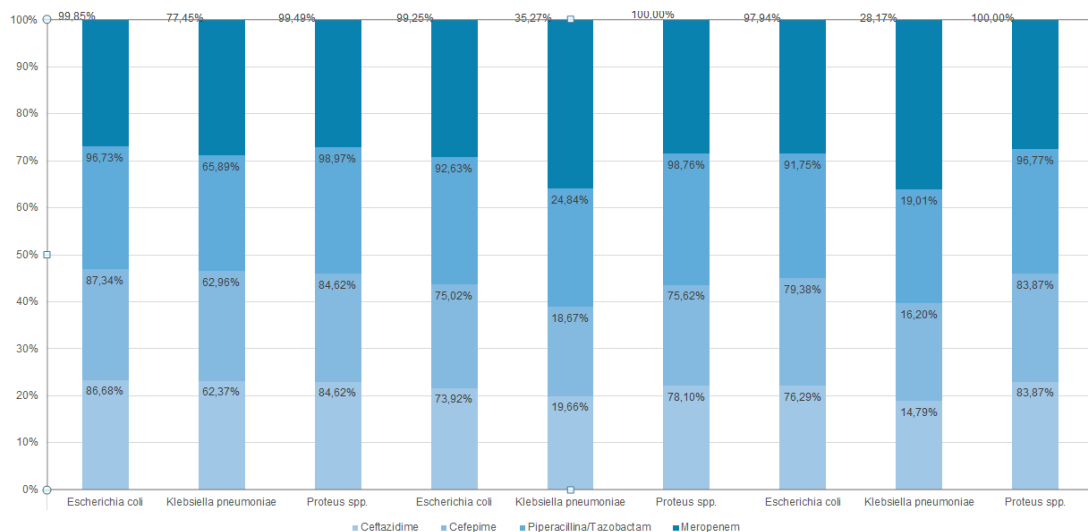


Figura 35 Confronto 2022 - beta-lattamici

2023							
Microrganismo	CEFTAZIDIME/CEFTRIAXONE/CEFOTAXIME	CEFEPIME	PIPERACILLINA/TAZOBACTAM	MEROPENEM	CEFTOLOZANO/TAZOBACTAM	CEFTAZIDIME/AVIBACTAM	MEROPENEM/VABORBACTAM
Citrobacter spp.	88.02%	94.22%	94.63%	99.59%	93.81%	99.59%	92.15%
Enterobacter spp.	67.49%	84.32%	78.91%	98.80%	83.73%	100.00%	82.63%
Escherichia coli	80.96%	81.39%	93.40%	99.38%	97.50%	99.48%	85.00%
Klebsiella spp.	48.02%	49.35%	51.35%	60.66%	58.05%	98.45%	83.62%
Klebsiella pneumoniae	37.67%	36.67%	41.01%	49.68%	48.40%	98.22%	79.76%
Morganella morganii	52.68%	95.54%	98.21%	98.21%	93.75%	98.21%	100.00%
Proteus spp.	79.68%	76.13%	97.04%	99.01%	91.72%	98.82%	96.65%
Serratia spp.	77.50%	92.50%	83.75%	98.75%	95.00%	96.88%	87.50%

Figura 36 Sensibilità degli Enterobacterales ai beta-lattamici nella popolazione generale, 2023

Per quel che concerne l'Amikacina, la sensibilità minore nel 2022 è stata riportata nella specie *Proteus* (90.17%) e in *K. pneumoniae* (90.87%). Nel 2023, *Proteus* spp. si è confermata avere la sensibilità più bassa (93.30%). Riguardo i fluorochinoloni, *K. pneumoniae* ha evidenziato le resistenze più basse con il 27.40% nel 2022 e con il 32.20% nel 2023. *Proteus* spp. ha mostrato la seconda

sensibilità più bassa nel primo anno dello studio (52.99%), mentre nel secondo anno è stata la specie *Klebsiella* (45.82%). Prendendo in considerazione la Colistina, le sensibilità sono rimaste sopra il 90%, nel 2022, con il valore più basso registrato nella specie *Enterobacter* (91.59%). Nel secondo anno preso in analisi la sensibilità della specie *Enterobacter* è scesa all'85%, mentre le sensibilità degli altri *Enterobacteriales* è rimasta sopra il 93%. Infine, si evidenzia che la peggiore sensibilità a Trimetoprim/Sulfametossazolo nel 2022 è stata pari al 37.37%, appartenente a *K. pneumoniae*, seguita dal 45.51% da *Proteus spp.* . Nell'anno successivo l'ordine è rimasto invariato con la sensibilità di *K. pneumoniae* corrispondente al 36.03% e in *Proteus spp* pari al 47.14%.

Microorganismo	2022				Microorganismo	2023			
	AMIKACINA	FLUOROCINOLONI	COLISTINA	TRIMETOPRIM/SULFAMETOSSAZOLO		AMIKACINA	FLUOROCINOLONI	COLISTINA	TRIMETOPRIM/SULFAMETOSSAZOLO
Citrobacter spp.	99.51%	95.07%	98.03%	96.55%	Citrobacter spp.	98.76%	97.11%	95.45%	93.80%
Enterobacter spp.	100.00%	89.25%	91.59%	89.72%	Enterobacter spp.	99.40%	93.98%	85.00%	92.15%
Escherichia coli	99.00%	67.48%	98.18%	70.58%	Escherichia coli	97.75%	69.11%	96.89%	70.07%
Klebsiella spp.	99.15%	94.03%	97.16%	94.89%	Klebsiella spp.	95.62%	45.82%	93.39%	48.74%
Klebsiella pneumoniae	90.87%	27.40%	96.00%	37.37%	Klebsiella pneumoniae	94.67%	32.20%	94.09%	36.03%
Morganella morganii	96.06%	66.93%		73.23%	Morganella morganii	98.21%	72.32%		78.57%
Proteus spp.	90.17%	52.99%		45.51%	Proteus spp.	93.30%	59.96%		47.14%
Serratia spp.	98.49%	92.46%		96.48%	Serratia spp.	97.50%	91.88%		96.88%

Figura 37 Sensibilità degli Enterobacteriales ai farmaci non beta-lattamici nel 2022 e nel 2023

7.3.2 CONFRONTO TERRITORIO-OSPEDALE-TERAPIA INTENSIVA NEL 2022

Nel primo anno dello studio la minor resistenza a Cefalosporine di terza generazione sul territorio è stata riscontrata in *K. pneumoniae* che ha evidenziato una sensibilità del 62.37%, e *Morganella morganii* (63.83%). Nel contesto della degenza ordinaria, *K. pneumoniae* ha evidenziato una sensibilità del 19.66%, seguito da *Morganella morganii* (sensibilità del 52.86%). Nell'ambiente delle terapie intensive la sensibilità è scesa al 14.79% in *K. pneumoniae* che si è confermato il germe più resistente anche in questo contesto.

La resistenza più bassa a Cefepime è stata riscontrata in *K. pneumoniae* in tutti e tre i contesti analizzati: 62.96% nel territorio, 18.67% in ambiente ospedaliero e 16.20% nei reparti di terapia intensiva.

Per quel che riguarda Piperacillina/Tazobactam, in ambiente territoriale, *K. pneumoniae* ha fatto registrare il valore minore di sensibilità con una percentuale del 65.89%. In ambiente ospedaliero la sensibilità a questa associazione ha mostrato valori superiori all'80%, eccezion fatta per *K. pneumoniae* (24.84%) e per la specie *Enterobacter* (68.18%). Nel contesto della terapia intensiva la sensibilità minore registrata è stata pari al 19.01%, appartenente a *K. pneumoniae*.

La sensibilità al Meropenem è rimasta superiore al 94% per tutti gli ambientianalizzati: fa eccezione *K. pneumoniae* con una sensibilità del 77.45% in ambiente territoriale, 35.27% in reparti di degenza ordinaria e con il 28.17% in terapia intensiva.

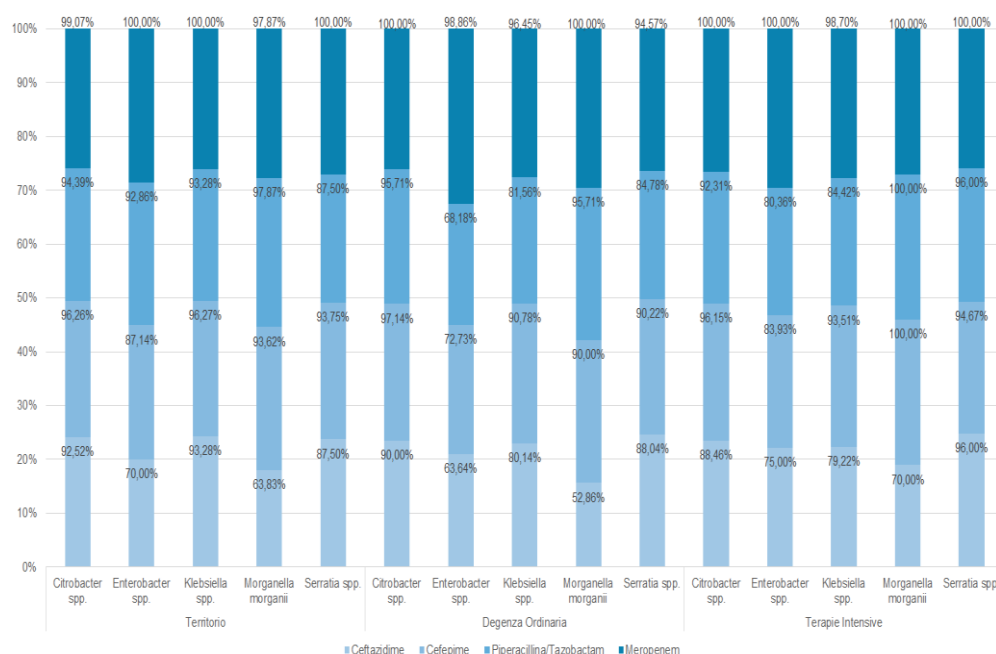


Figura 38 Confronto 2022 – Germi ESCPM – Beta-lattamici

Per quel che concerne l'associazione Ceftazolano/Tazobactam nel contesto territoriale il germe con la sensibilità minore è stato *K. pneumoniae* (73.94%).

Questo patogeno è risultato essere il più resistente anche nei reparti di degenza ordinaria e nei reparti di rianimazione con una sensibilità che è risultata essere rispettivamente pari al 29.38% e al 22.18%.

La sensibilità a Ceftazidime/Avibactam in ambito territoriale è risultata essere uguale o superiore al 95% in tutti gli *Enterobacteriales*, con la percentuale minore pari al 95% in *E. coli*. Questo germe è risultato essere anche quello con minor sensibilità nei reparti di degenza ordinaria con una sensibilità del 94.95%; valore che sale sopra il 95% per gli altri *Enterobacteriales*. Nel contesto delle terapie intensive la sensibilità più bassa registrata è stata del 95.42% in *K. pneumoniae*.

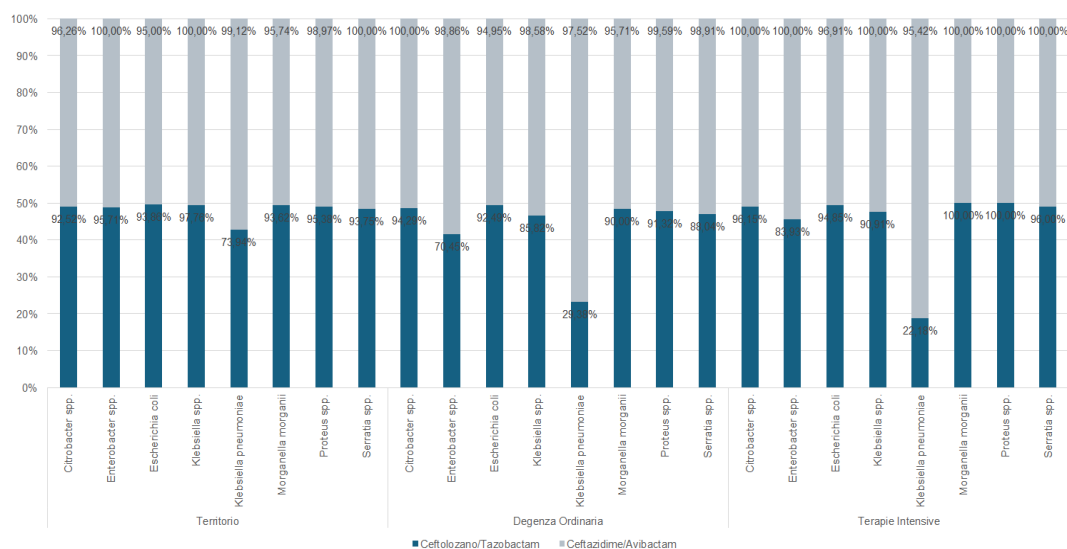


Figura 39 Confronto 2022 – Nuovi antibiotici

La sensibilità minore per l'Amikacina nei diversi ambienti di riscontro è risultata essere:

- Ambiente territoriale: 92.82% registrata per *Proteus spp.*;
- Degenza ordinaria: 89.26% registrata per *Proteus spp.*;
- Terapia intensiva: 76.06% registrata in *K. pneumoniae*;

Per quel che riguarda Ciprofloxacina la minor sensibilità registrata sul territorio è stata in *Proteus spp.* (54.36%), mentre in ambiente ospedaliero (non terapia intensiva e terapia intensiva) il patogeno più resistente è risultato essere *K. pneumoniae* (rispettivamente sensibilità del 16.61% e 15.14%).

La sensibilità alla colistina si è mantenuta sopra l'89% in tutti gli ambienti considerati: i valori inferiori in tutti i contesti appartengono alla *specie Enterobacter*: 91.43% in ambiente ospedaliero, 93.18% in ambiente ospedaliero ordinario e 89.29% nei reparti di terapia intensiva.

Infine, la minor sensibilità per il Trimetoprim/Sulfametossazolo è stata registrata: in ambito territoriale in *Proteus spp.*(47.69%), nel contesto ospedaliero in *K.pneumoniae*. In particolare, per quest'ultimo germe, la sensibilità è stata del 42.56% in degenza ordinaria e del 38.38% nelle terapie intensive.

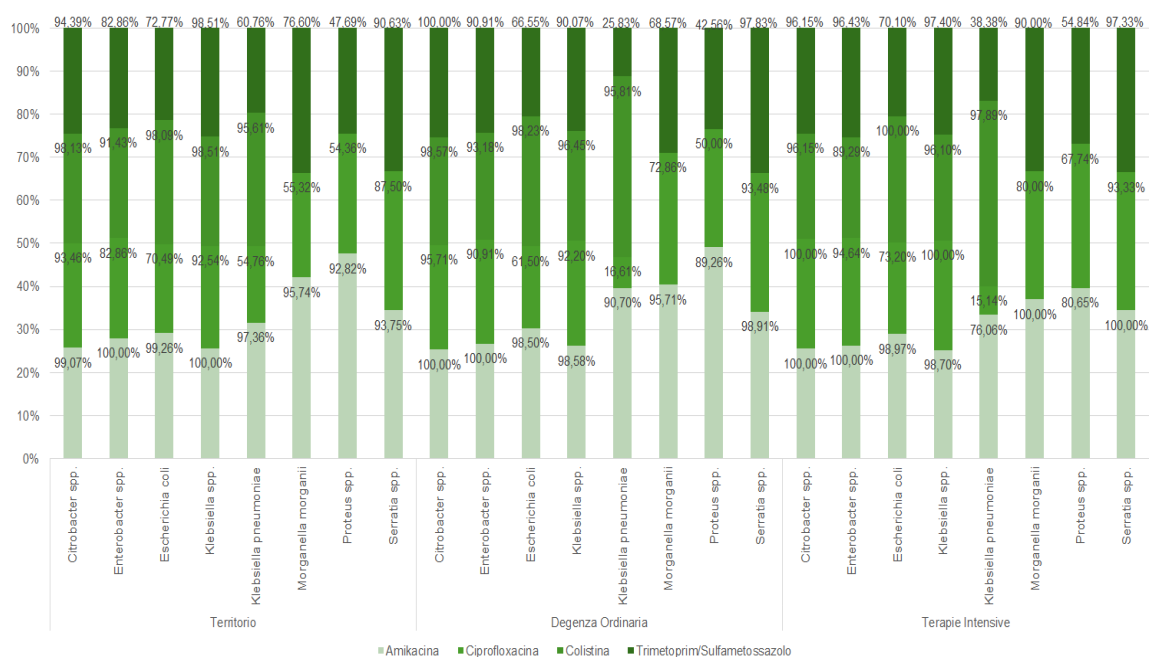


Figura 40 Confronto 2022 – Altre classi antibiotici

2022											
Microorganismi	Isolamenti	Amikacina	Cefepime	Ceftazidime	Ceftazidime/Avibactam	Ceftolozano/Tazobactam	Ciprofloxacina	Colistina	Meropenem	Piperacillina/Tazobactam	Trimetoprim/Sulfametossazolo
Territorio											
Citrobacter spp.	107	99.07%	96.26%	92.52%	96.26%	92.52%	93.46%	98.13%	99.07%	94.39%	94.39%
Enterobacter spp.	70	100.00%	87.14%	70.00%	100.00%	95.71%	82.86%	91.43%	100.00%	92.86%	82.86%
Escherichia coli	2718	99.26%	87.34%	86.68%	95.00%	93.86%	70.49%	98.09%	99.85%	96.73%	72.77%
Klebsiella spp.	134	100.00%	96.27%	93.28%	100.00%	97.76%	92.54%	98.51%	100.00%	93.28%	98.51%
Klebsiella pneumoniae	683	97.36%	62.96%	62.37%	99.12%	73.94%	54.76%	95.61%	77.45%	65.89%	60.76%
Morganella morganii	47	95.74%	93.62%	63.83%	95.74%	93.62%	55.32%		97.87%	97.87%	76.60%
Proteus spp.	195	92.82%	84.62%	84.62%	98.97%	95.38%	54.36%		99.49%	98.97%	47.69%
Serratia spp.	32	93.75%	93.75%	87.50%	100.00%	93.75%	87.50%		100.00%	87.50%	90.63%
Degenza Ordinaria											
Citrobacter spp.	70	100.00%	97.14%	90.00%	100.00%	94.29%	95.71%	98.57%	100.00%	95.71%	100.00%
Enterobacter spp.	88	100.00%	72.73%	63.64%	98.86%	70.45%	90.91%	93.18%	98.86%	68.18%	90.91%
Escherichia coli	1465	98.50%	75.02%	73.92%	94.95%	92.49%	61.50%	98.23%	99.25%	92.63%	66.55%
Klebsiella spp.	141	98.58%	90.78%	80.14%	98.58%	85.82%	92.20%	96.45%	96.45%	81.56%	90.07%
Klebsiella pneumoniae	1409	90.70%	18.67%	19.66%	97.52%	29.38%	16.61%	95.81%	35.27%	24.84%	25.83%
Morganella morganii	70	95.71%	90.00%	52.86%	95.71%	90.00%	72.86%		100.00%	95.71%	68.57%
Proteus spp.	242	89.26%	75.62%	78.10%	99.59%	91.32%	50.00%		100.00%	98.76%	42.56%
Serratia spp.	92	98.91%	90.22%	88.04%	98.91%	88.04%	93.48%		94.57%	84.78%	97.83%
Terapie Intensive											
Citrobacter spp.	26	100.00%	96.15%	88.46%	100.00%	96.15%	100.00%	96.15%	100.00%	92.31%	96.15%
Enterobacter spp.	56	100.00%	83.93%	75.00%	100.00%	83.93%	94.64%	89.29%	100.00%	80.36%	96.43%
Escherichia coli	97	98.97%	79.38%	76.29%	96.91%	94.85%	73.20%	100.00%	97.94%	91.75%	70.10%
Klebsiella spp.	77	98.70%	93.51%	79.22%	100.00%	90.91%	100.00%	96.10%	98.70%	84.42%	97.40%
Klebsiella pneumoniae	284	76.06%	16.20%	14.79%	95.42%	22.18%	15.14%	97.89%	28.17%	19.01%	38.38%
Morganella morganii	10	100.00%	100.00%	70.00%	100.00%	100.00%	80.00%		100.00%	100.00%	90.00%
Proteus spp.	31	80.65%	83.87%	83.87%	100.00%	100.00%	67.74%		100.00%	96.77%	54.84%
Serratia spp.	75	100.00%	94.67%	96.00%	100.00%	96.00%	93.33%		100.00%	96.00%	97.33%

Tabella VII Confronto delle sensibilità degli Enterobatterales Territorio-Ospedale-Terapia Intensiva, 2022

7.3.3 Confronto territorio-ospedale-terapia intensiva nel 2023

Nel secondo anno dello studio la minor resistenza a Ceftazidime sul territorio è stata riscontrata in *Morganella morganii* che ha evidenziato una sensibilità del 51.11%; inferiore rispetto a quella riscontrata nella specie *Serratia* (61.11%) che quindi risulta essere il secondo per resistenza in questo ambiente. Nel contesto della degenza ordinaria il valore più basso è stato evidenziato in *K. pneumoniae* che ha evidenziato una sensibilità del 23.20%, seguito dalla specie *Klebsiella* (sensibilità del 33.10%). Nell'ambiente delle terapie intensive la sensibilità a Ceftazidime è scesa al 26.32% in *K. pneumoniae* che si è confermato il germe più resistente anche in questo contesto.

La resistenza più bassa a Cefepime è stata riscontrata in *K. pneumoniae* in tutti e tre i contesti analizzati: 67.43% nel territorio, 21.86% in ambiente ospedaliero (non TI) e 28.29% nei reparti di terapia intensiva.

La sensibilità al Meropenem è rimasta superiore al 95% per tutti gli ambienti analizzati: fanno eccezione *K. pneumoniae* (con una sensibilità del 80.05% in ambiente territoriale, 35.78% in reparti di degenza ordinaria e con il 37.50% in TI) e la specie *Klebsiella* (sensibilità in ambiente territoriale pari a 85.64%, 46.31% in ambiente ospedaliero non terapia intensiva e 56.02% nelle terapie intensive).

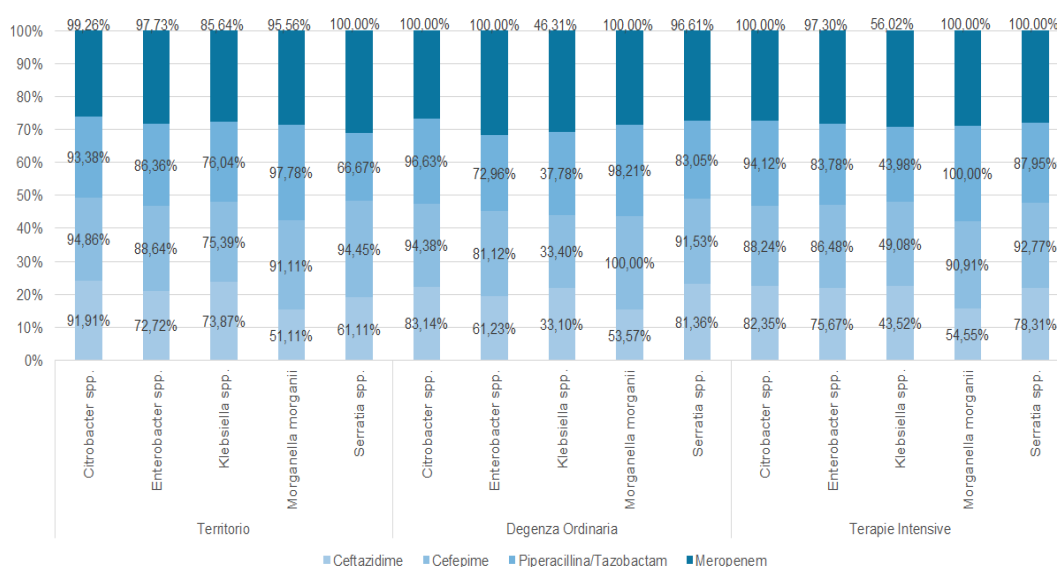


Figura 41 Confronto 2023 – Germi ESCPM – Beta-lattamici

Per quel che riguarda Piperacillina/Tazobactam in ambiente territoriale, la specie *Serratia* ha fatto registrare il minor valore di sensibilità con una percentuale del 66.67%. In ambiente ospedaliero (non TI) la sensibilità a quest'associazione ha mostrato valori superiori al 70%, eccezion fatta per *K. pneumoniae* (27.72%) e per la specie *Klebsiella* (37.78%). Nel contesto della terapia intensiva la sensibilità minore registrata è stata pari al 27.63%, appartenente a *K. pneumoniae*.

La sensibilità a Ceftazidime/Avibactam in ambito territoriale è risultata essere uguale o superiore al 97% in tutti gli *Enterobacteriales*, con la percentuale minore pari al 97.78% in *Morganella morganii*. La specie *Serratia* è risultata essere quella con minor sensibilità nei reparti di degenza ordinaria con una sensibilità del

94.92% (valore che sale sopra il 97% per gli altri *Enterobacterales* in questo ambiente). Nel contesto delle terapie intensive la sensibilità più bassa registrata è stata del 97.59% nella specie *Serratia*.

Per quel che concerne l'associazione Ceftazolano/Tazobactam nel contesto territoriale il germe con la sensibilità minore è stato *K. pneumoniae* (80.5%). Questo patogeno è risultato essere il più resistente anche nei reparti di degenza ordinaria e nei reparti di rianimazione con una sensibilità che è risultata essere rispettivamente pari al 33.86% e al 34.44%.

E. coli ha mostrato maggior resistenza al Meropenem/Vaborbactam nel contesto del territorio con una sensibilità del 66.67%. Il valore di sensibilità più basso nei reparti ospedalieri non TI, al Meropenem/Vaborbactam, si è registrato nella specie *Citrobacter* (65.17%). Nell'ambiente delle terapie intensive il valore più basso si è riscontrato nella specie *Enterobacter* con il 78.38% dei microrganismi di questa specie risultati sensibili a Meropenem/Vaborbactam.

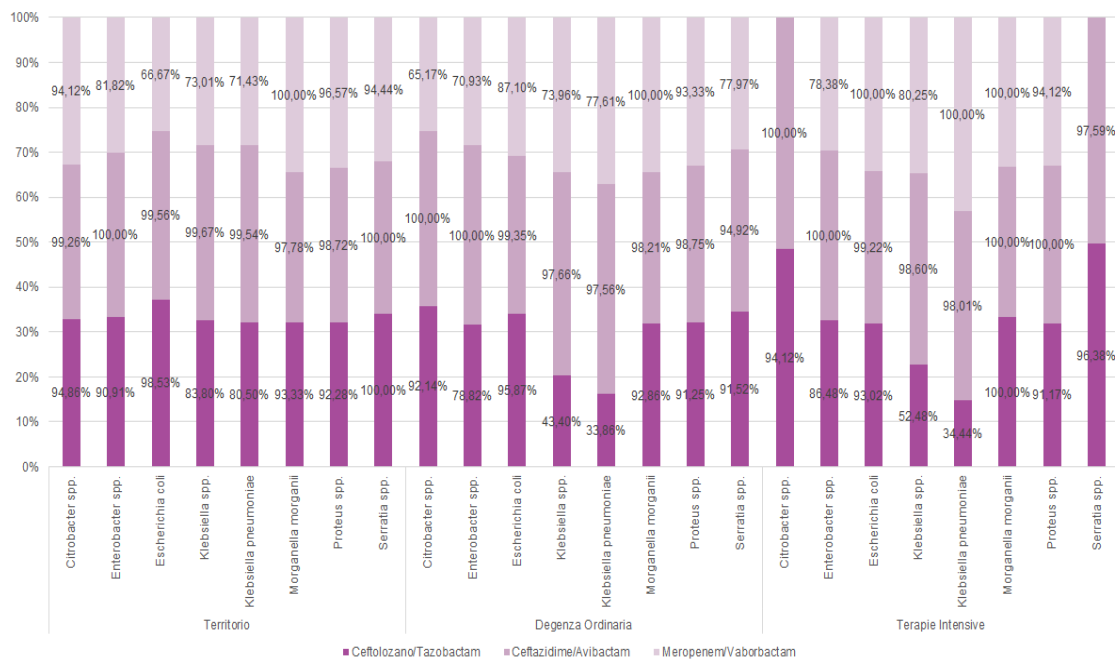


Figura 42 Confronto 2023 – Nuovi antibiotici

La sensibilità minore per l'Amikacina nei diversi ambienti di riscontro è risultata essere:

- Ambiente territoriale: 92.28% registrata per *Proteus spp.*;
- Degenza ordinaria: 893.77% registrata in *K. pneumoniae*;
- Terapia intensiva: 91.17% registrata per *Proteus spp.*;

Per quel che riguarda Ciprofloxacina la minor sensibilità registrata sul territorio è stata in *K. pneumoniae* (58.72%), seguita da *Proteus spp.* (59.22%). Anche in ambiente ospedaliero (sia nei reparti di degenza ordinaria che nelle terapie intensive) il patogeno con il tasso di resistenza più elevato è risultato *K. pneumoniae* (rispettivamente con valori di sensibilità del 18.56% e 29.61%).

La minor sensibilità alla colistina in ambiente territoriale è stata registrata nella specie *Klebsiella* con un valore del 93.03%. Invece, nel contesto di degenza ordinaria e delle terapie intensive il valore più basso da attribuire alla specie *Enterobacter* con sensibilità rispettivamente pari a 82.54% e 81.08%.

La sensibilità più bassa per il Trimetoprim/Sulfametossazolo è stata registrata: in ambito territoriale nella specie *Proteus* (45.92%), nel contesto ospedaliero in *K. pneumoniae*. In particolare, per quest'ultimo germe, la sensibilità è stata del 22.83% in degenza ordinaria e del 37.50% nelle terapie intensive.

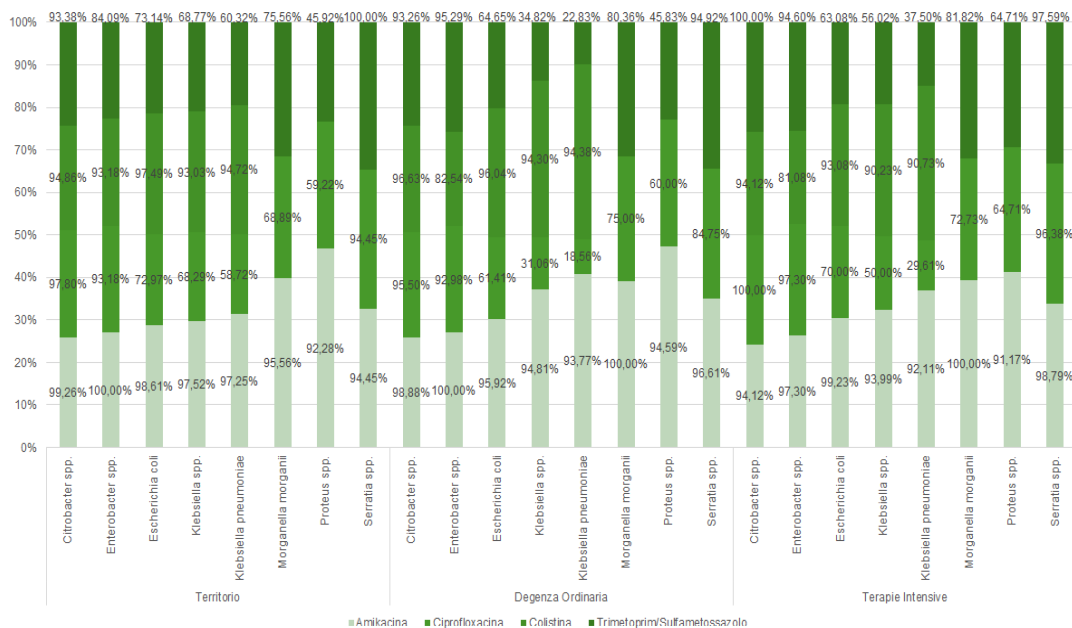


Figura 43 Confronto 2023 - Altre classi di antibiotici

2023												
Microorganismi	Isolamenti	Amikacina	Cefepime	Ceftazidime	Ceftazidime/Avibactam	Ceftolozano/ tazobactam	Ciprofloxacina	Colistina	Meropenem	Piperacillina/ tazobactam	Trimetoprim/Sulfametossazolo	Meropenem/Vaborbactam
Territorio												
Citrobacter spp.	136	99.26%	94.86%	91.91%	99.26%	94.86%	97.80%	94.86%	99.26%	93.38%	93.38%	94.12%
Enterobacter spp.	44	100.00%	88.64%	72.72%	100.00%	90.91%	93.18%	93.18%	97.73%	86.36%	84.09%	81.82%
Escherichia coli	2798	98.61%	86.41%	85.77%	99.56%	98.53%	72.97%	97.49%	99.68%	95.60%	73.14%	66.67%
Kebsiella spp.	607	97.52%	75.39%	73.87%	99.67%	83.80%	68.29%	93.03%	85.64%	76.04%	68.77%	73.01%
Kebsiella pneumoniae	437	97.25%	67.43%	68.81%	99.54%	80.50%	58.72%	94.72%	80.05%	70.64%	60.32%	71.43%
Morganella morganii	45	95.56%	91.11%	51.11%	97.78%	93.33%	68.89%		95.56%	97.78%	75.56%	100.00%
Proteus spp.	233	92.28%	78.97%	81.54%	98.72%	92.28%	59.22%		98.29%	97.85%	45.92%	96.57%
Serratia spp.	18	94.45%	94.45%	61.11%	100.00%	100.00%	94.45%		100.00%	66.67%	100.00%	94.44%
Degenza Ordinaria												
Citrobacter spp.	89	98.88%	94.38%	83.14%	100.00%	92.14%	95.50%	96.63%	100.00%	96.63%	93.26%	65.17%
Enterobacter spp.	86	100.00%	81.12%	61.23%	100.00%	78.82%	92.98%	82.54%	100.00%	72.96%	95.29%	70.93%
Escherichia coli	1423	95.92%	72.11%	72.39%	99.35%	95.87%	61.41%	96.04%	98.94%	89.93%	64.65%	87.10%
Kebsiella spp.	987	94.81%	33.40%	33.10%	97.66%	43.40%	31.06%	94.30%	46.31%	37.78%	34.82%	73.96%
Kebsiella pneumoniae	822	93.77%	21.86%	23.20%	97.56%	33.86%	18.56%	94.38%	35.78%	27.72%	22.83%	77.61%
Morganella morganii	56	100.00%	100.00%	53.57%	98.21%	92.86%	75.00%		100.00%	98.21%	80.36%	100.00%
Proteus spp.	240	94.59%	75.00%	78.75%	98.75%	91.25%	60.00%		100.00%	97.92%	45.83%	93.33%
Serratia spp.	59	96.61%	91.53%	81.36%	94.92%	91.52%	84.75%		96.61%	83.05%	94.92%	77.97%
Terapie Intensive												
Citrobacter spp.	17	94.12%	88.24%	82.35%	100.00%	94.12%	100.00%	94.12%	100.00%	94.12%	100.00%	
Enterobacter spp.	37	97.30%	86.48%	75.67%	100.00%	86.48%	97.30%	81.08%	97.30%	83.78%	94.60%	78.38%
Escherichia coli	130	99.23%	74.62%	71.54%	99.22%	93.02%	70.00%	93.08%	97.69%	83.85%	63.08%	100.00%
Kebsiella spp.	216	93.99%	49.08%	43.52%	98.60%	52.48%	50.00%	90.23%	56.02%	43.98%	56.02%	80.25%
Kebsiella pneumoniae	152	92.11%	28.29%	26.32%	98.01%	34.44%	29.61%	90.73%	37.50%	27.63%	37.50%	100.00%
Morganella morganii	11	100.00%	90.91%	54.55%	100.00%	100.00%	72.73%		100.00%	100.00%	81.82%	100.00%
Proteus spp.	34	91.17%	64.71%	73.53%	100.00%	91.17%	64.71%		97.06%	85.30%	64.71%	94.12%
Serratia spp.	83	98.79%	92.77%	78.31%	97.59%	96.38%	96.38%		100.00%	87.95%	97.59%	

Tabella VIII Confronto delle sensibilità degli Enterobacterales Territorio-Ospedale-Terapia Intensiva, 2023

7.4 SENSIBILITÀ NEI GRAM-NEGATIVI NON FERMENTANTI

7.4.1 CONFRONTO TERRITORIO-OSPEDALE-TERAPIA INTENSIVA NEL 2022

Nel 2022 la minor resistenza alle Cefalosporine di terza generazione in tutti gli ambiti è stata riscontrata in specie *Achromobacter* spp. (territorio 57.14%, degenza ordinaria 5.56% e terapia intensiva 0.00%). In questo contesto *S. maltophilia* ha evidenziato la sua sensibilità pari al 37.07%.

La resistenza a Cefepime, nell'ambiente territoriale, è stata pari a 28.57% per la specie *Achromobacter* e del 94.21% per *P. aeruginosa*. Nel contesto ospedaliero e delle terapie intensive la specie *Achromobacter* ha mostrato la sensibilità minore: 5.56% nei reparti di degenza ordinaria e 0% in terapia intensiva.

Per quel che riguarda Piperacillina/Tazobactam, *P. aeruginosa* ha mostrato una sensibilità dell'86.84% a livello territoriale. Il valore più basso nel contesto dei reparti di degenza ordinaria è stato del 66.67%, appartenente alla specie *Achromobacter*. Quest'ultima ha riportato un tasso di resistenza ancora più elevato in terapia intensiva (6.67%).

La sensibilità più bassa al Meropenem, in tutti gli ambienti analizzati, è stata riscontrata in *A. baumannii* (2.56% in ambiente territoriale, 1.29% nei reparti di degenza ordinaria e 6.87% nelle terapie intensive). *P. aeruginosa* ha evidenziato una sensibilità maggiore del 93.00% in tutti e tre gli ambiti, mentre la specie *Achromobacter* ha mantenuto una sensibilità superiore all'80.00% con valore massimo nel contesto territoriale (100.00%).

Per quel che concerne l'associazione Ceftazolano/Tazobactam nel contesto territoriale la specie *Achromobacter* ha riportato una sensibilità del 42.86%. Nel contesto ospedaliero per la specie *Achromobacter* è stata evidenziata una sensibilità del 5.56%, mentre tutti gli isolati dalle terapie intensive di questa specie sono risultati resistenti. *P. aeruginosa* ha mostrato una sensibilità maggiore del 96.00% in tutte le aree.

Riguardo a Ceftazidime/Avibactam, in ambiente territoriale, per la specie *Achromobacter* è stata evidenziata una sensibilità del 57.14%, mentre per *P. aeruginosa* del 98.95%. Nel contesto ospedaliero per la specie *Achromobacter* è stata evidenziata una sensibilità del 5.56%, mentre tutti gli isolati dalle terapie intensive di questa specie sono risultati resistenti.

La sensibilità minore per l'Amikacina in tutti i diversi ambienti di riscontro è risultata essere quella di *A. baumannii*: 2.56% sul territorio, 7.73% in ambiente ospedaliero e 5.34% nei reparti di terapia intensiva.

Per quel che riguarda i fluorochinoloni, la sensibilità registrata sul territorio in *P. aeruginosa* è stata del 37.89%. Tale percentuale, in questo germe, scende al 30.58% nei reparti di degenza ordinaria e al 31.96% in terapia intensiva.

La sensibilità alla colistina è rimasta superiore al 97% in *A. baumannii* e *P. aeruginosa* in tutti gli ambienti presi in analisi.

Infine, riguardo a Trimetoprim/Sulfametossazolo la sensibilità in *S. maltophilia* è stata del 100.00% nel territorio, mentre nei reparti di degenza ordinaria e delle terapie intensive, la sensibilità è stata, rispettivamente, pari a 97.62% e del 97.41%. *Achromobacter* presentava sensibilità dello 0.00% in ambiente territoriale, 11.11% nei reparti di degenza ordinaria e 13.33% nelle terapie intensive.

Microrganismi	Isolamenti	Amikacina	Cefepime	Ceftazidime	Ceftazidime/Avibactam	Ceftolozano/Tazobactam	Fluorochinoloni	Colistina	Meropenem	Piperacillina/Tazobactam	Trimetoprim/Sulfametossazolo
Territorio											
<i>Achromobacter</i> spp.	7		28,57%	57,14%	57,14%	42,86%			100,00%	100,00%	0,00%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	39	2,56%						100,00%	2,56%		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	190	97,89%	94,21%	88,42%	98,95%	97,89%	37,89%	98,42%	98,95%	86,84%	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	7						100,00%				100,00%
Degenza Ordinaria											
<i>Achromobacter</i> spp.	18		5,56%	5,56%	5,56%	5,56%			83,33%	66,67%	11,11%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	233	7,73%						100,00%	1,29%		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	533	99,25%	86,49%	85,93%	97,37%	96,06%	30,58%	97,19%	94,93%	82,18%	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	42			40,48%			92,86%				97,62%
Terapie Intensive											
<i>Achromobacter</i> spp.	15		0,00%	0,00%	0,00%	0,00%			80,00%	6,67%	13,33%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	131	5,34%						99,24%	6,87%		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	291	100,00%	79,73%	78,69%	95,53%	97,25%	31,96%	98,97%	93,47%	71,82%	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	116			37,07%			97,41%				97,41%

Figura 44 Confronto delle sensibilità dei Gram-negativi non fermentanti Territorio-Ospedale-Terapia Intensiva, 2022

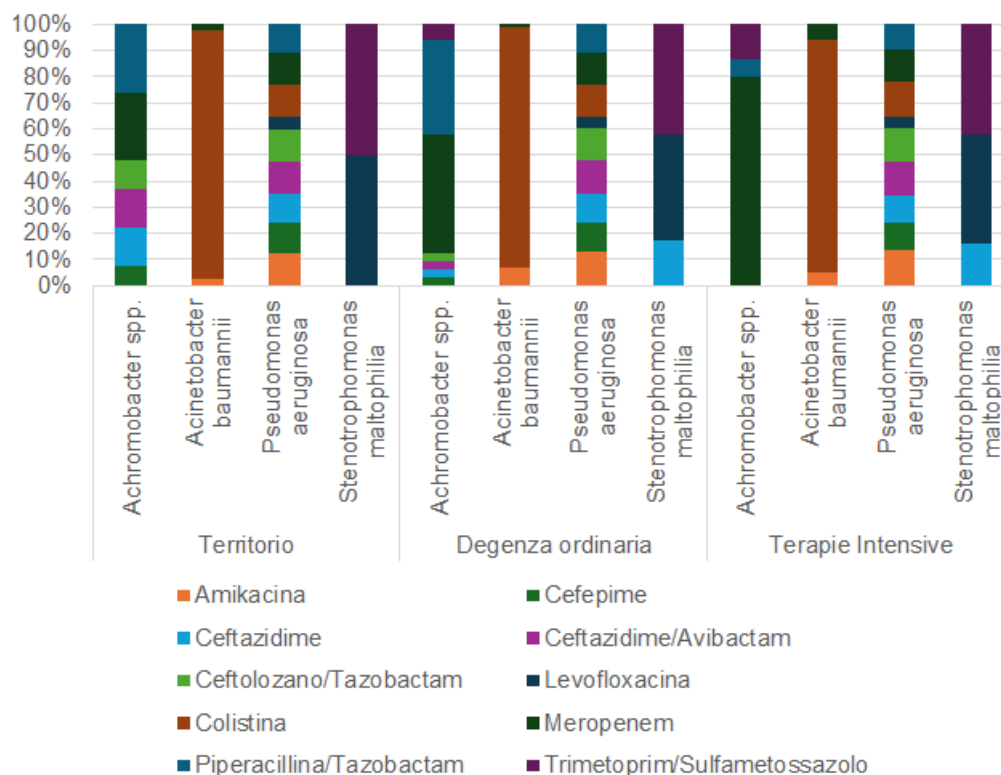


Figura 45 Panoramica delle resistenze ai farmaci nei Gram-negativi non fermentanti, 2022

7.4.2 CONFRONTO TERRITORIO-OSPEDALE-TERAPIA INTENSIVA NEL 2023

Nel 2023 la minor resistenza alle Cefalosporine di terza generazione sul territorio *P. aeruginosa* ha riportato una sensibilità dell'89.41%. Nel contesto della degenza ordinaria il valore più basso stato evidenziato nella specie *Achromobacter* e in *P. aeruginosa* rispettivamente con una sensibilità dello 0,00% e dello 0.36%. Nelle terapie intensive gli *Achromobacter* hanno mostrato sensibilità del 12.50%. In questo contesto *S. maltophilia* ha evidenziato sensibilità minore del 52.08%.

La resistenza a Cefepime è stata particolarmente alta, in tutti gli ambienti, per la specie *Achromobacter*: sensibilità dello 0% nelle terapie intensive e 5.56% nei reparti di degenza ordinaria.

Per quel che riguarda Piperacillina/Tazobactam, *P. aeruginosa* ha mostrato una sensibilità del 91.37% sul territorio, mentre la specie *Achromobacter* ha riportato

una sensibilità del 100%. Quest'ultima specie è stata caratterizzata, nei reparti di degenza ordinaria, da una sensibilità del 75%. Nei reparti di terapia intensiva la sensibilità riportata è stata di: 87.5% nella specie *Achromobacter* e 83.24% per *P. aeruginosa*.

La sensibilità più bassa al Meropenem, in tutti gli ambienti analizzati, è stata riscontrata in *A. baumannii*: 14.29% in ambiente territoriale, 3.53% nei reparti di degenza ordinaria e 7.14% nelle terapie intensive. *P. aeruginosa* ha evidenziato una sensibilità maggiore del 75% in tutti e tre gli ambienti, mentre la specie *Achromobacter* ha mantenuto una sensibilità superiore all'85% con valore massimo nel contesto territoriale e delle terapie intensive (100.00%).

Per Ceftazolano/Tazobactam, la maggior parte degli isolati di *P. aeruginosa* erano sensibili alla molecola (96.00%). *Achromobacter* è risultata completamente resistente nell'ambiente del territorio e delle degenze ordinarie, mentre ha riportato valore di sensibilità pari a 12.50% nel contesto delle terapie intensive.

Riguardo a Ceftazidime/Avibactam, *P. aeruginosa* è stata caratterizzata da una sensibilità superiore al 96.00% in tutti gli ambienti studiati, mentre la specie *Achromobacter* è risultata completamente resistente nell'ambiente del territorio e delle degenze ordinarie, mentre ha riportato valore di sensibilità pari a 12.50% nel contesto delle terapie intensive.

Per i fluorochinoloni, *P. aeruginosa* ha mostrato sensibilità dell'82.74% in ambiente territoriale, 34.94% nei reparti di degenza ordinaria e 89.63% nelle terapie intensive.

La sensibilità alla colistina è rimasta superiore al 98.00% in *A. baumannii* e superiore al 95% per *P. aeruginosa* in tutti gli ambienti presi in analisi.

Riguardo a Trimetoprim/Sulfametossazolo la sensibilità in *S. maltophilia* è stata del 100% nel contesto territoriale, mentre nei reparti delle terapie intensive la sensibilità è stata del 97.41%. Tutti gli isolati della specie *Achromobacter* riscontrati nel contesto ospedaliero e delle terapie intensive sono risultati

resistenti. Quest'ultima specie ha riportato una sensibilità pari al 10.71% a livello territoriale. Infine, *P. aeruginosa* ha mostrato una sensibilità del 98.70% nel territorio, 89.95% nei reparti di degenza ordinaria e 66.67% nelle terapie intensive.

Microrganismi	Isolamenti	Amikacina	Cefepime	Ceftazidime	Ceftazidime/Avibactam	Ceftolozano/Tazobactam	Fluorochinoloni	Colistina	Meropenem	Piperacillina/Tazobactam	Trimetoprim/Sulfametossazolo	Meropenem/Vaborbactam
Territorio												
<i>Achromobacter</i> spp.	1		0,00%	0,00%	0,00%	0,00%			100,00%	100,00%	10,71%	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	28	25,00%						100,00%	14,29%			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	255	97,65%	90,19%	89,41%	96,85%	97,25%	82,74%	95,30%	97,65%	91,37%		98,70%
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	5						0,00%				100,00%	
Degenza Ordinaria												
<i>Achromobacter</i> spp.	8		5,56%	0,00%	0,00%	0,00%			87,50%	75,00%	0,00%	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	170	13,53%						98,24%	3,53%			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	563	95,90%	0,36%	0,36%	96,24%	96,24%	34,94%	95,01%	82,00%			89,95%
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	23			21,74%			0,00%					
Terapie Intensive												
<i>Achromobacter</i> spp.	8		0,00%	12,50%	0,00%	0,00%			100,00%	87,50%	0,00%	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	43	9,52%						100,00%	7,14%			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	378	97,34%	82,18%	81,38%	96,01%	98,14%	89,63%	96,54%	77,39%	83,24%		66,67%
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	49			52,08%			0,00%				97,41%	

Figura 46 Confronto delle sensibilità dei Gram-negativi non fermentanti Territorio-Ospedale-Terapia Intensiva, 2023

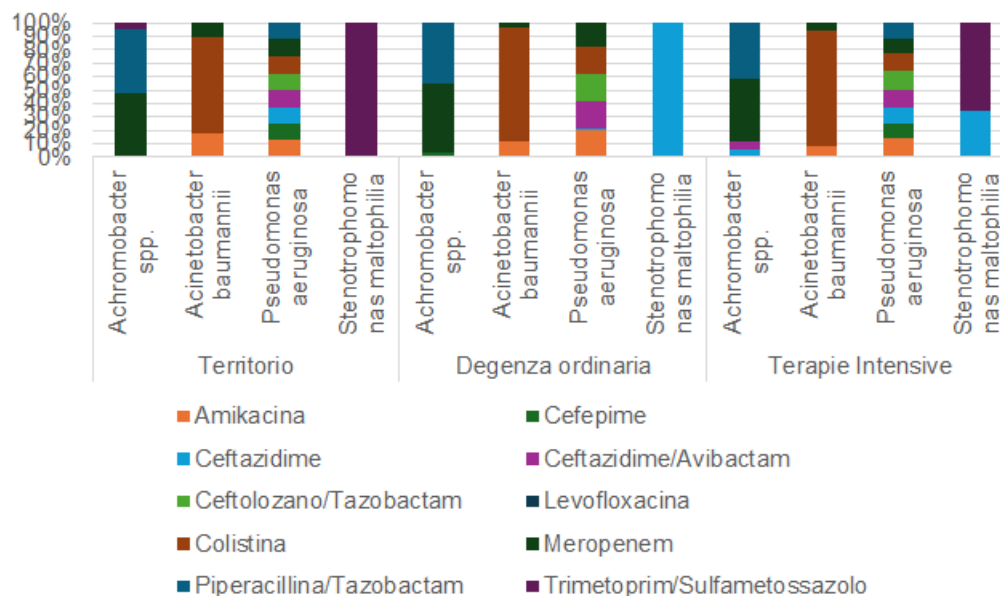


Figura 47 Panoramica delle resistenze ai farmaci nei Gra-negativi non fermentanti, 2023

8 DISCUSSIONE

Le resistenze nei batteri Gram-negativi rappresentano un grave problema sanitario globale, in quanto questi microrganismi possono sviluppare resistenze multiple agli antibiotici, complicando il trattamento delle infezioni. Le infezioni causate da batteri Gram-negativi resistenti sono associate a maggiori tassi di mortalità, degenze ospedaliere prolungate e costi sanitari elevati, rappresentando una sfida significativa per la gestione clinica. Inoltre, la diffusione di questi batteri resistenti può avvenire rapidamente in ambiente ospedaliero, aggravando ulteriormente il problema della resistenza antimicrobica a livello globale.

E. coli rappresenta il patogeno più ampiamente riscontrato sia a livello territoriale sia a livello di degenza ordinaria con un numero complessivo di 4280 isolati nel 2022 (29.50%) e 4349 riscontri nel 2023 (31.38%). Il tasso di resistenza ai fluorochinoloni per *E. coli* nella popolazione generale (32.52%) è risultato sovrapponibile ai dati italiani ottenuti nel rapporto AR-ISS (36) (31.6% nel 2022). *E. coli* ESBL si riscontra in 17.92% dei casi, dati nettamente inferiori rispetto ai dati italiani (24.20% nel 2022). In linea con la media nazionale è risultata essere la resistenza ai carbapenemi, che si attesta <1.00% (36).

La frequenza di isolamenti di *K. pneumoniae* ha osservato un netto decremento dal 2022 al 2023 (2376 isolati, 16.38% nel 2022, 453 isolati, 3.27%, nel 2023). *K. pneumoniae* ha mostrato ampia resistenza a β -lattamici (da soli o in combinazioni con inibitori delle β -lattamasi) in particolar modo in ambiente ospedaliero e in terapia intensiva. Per le cefalosporine di terza generazione si sono evidenziati valori di resistenza superiori ai valori nazionali (36). infatti, la resistenza è passata dal 68.4% (2022) al 62.33% rimanendo, tuttavia, considerevolmente superiore al 53.30% riportato del rapporto AR-ISS (36). La resistenza ai carbapenemi si è mostrata più o meno stabile nei due anni di studio passando dal 53.45% del 2022 al 50.32% del 2023. Tuttavia, i dati di resistenza per *K. pneumoniae* rispetto ai valori nazionali risultavano essere molto superiori

(circa 50% vs 24.90%) (36). Tale valore di resistenza è superiore anche ai valori della regione Veneto (circa 50% vs 18.9%) (36). Stessa considerazione potrebbe essere fatta anche per i fluorochinoloni. Infatti, seppur la resistenza ai fluorochinoloni sia diminuita dal 72.6% al 67.8% nei due anni dello studio, rimane ben al di sopra della media nazionale (48.7%) (36). Anche la resistenza agli aminoglicosidi è diminuita dal 9.13% del 2022 al 5.33% del 2023: in questo caso la resistenza è stata considerevolmente inferiore alla media nazionale (31.6%) (36).

Per quanto riguarda *P. aeruginosa*, nel 2023 la resistenza alle cefalosporine di terza generazione è stata pari al 16.19%, leggermente inferiore rispetto al valore medio nazionale indicato nel rapporto AR-ISS (19.00%) (36). I valori di resistenza alle cefalosporine di quarta generazione sono stati particolarmente elevati nell'ultimo anno dello studio: in particolare nei reparti di terapia intensiva (17.82%), mentre nella popolazione generale tale valore diminuisce (9.81%). Per quanto riguarda Piperacillina/Tazobactam i valori della resistenze nelle terapie intensive sono diminuiti dal 28.18% del 2022 al 16.74% del 2023, risultando, quindi, inferiori alla media nazionale solo nell'ultimo anno di studio (24.10%) (36). La resistenza ai carbapenemi riportata nell'ULSS3 Serenissima nell'ultimo anno dello studio (11.32%) è risultata inferiore rispetto alla media nazionale (16.40%) (36). Si evidenziano come abbastanza sovrapponibili le resistenze agli aminoglicosidi: nell'ULSS3 Serenissima pari a 3.27% e a livello nazionale pari a 4.00% (36).

A. baumannii è stato maggiormente isolato nei reparti di degenza ordinaria e terapie intensive in entrambi gli anni dello studio. Ha rappresentato il patogeno con meno opzioni terapeutiche disponibili. Caratterizzato da elevata resistenza agli aminoglicosidi dell'86.47% (2023) in ambiente ospedaliero e 90.48% (2023) nelle terapie intensive. Valori paragonabili ai dati nazionali (36). Riguardo i carbapenemi, *A. baumannii* ha evidenziato una resistenza dell'85.71% in ambito territoriale (2023), valore leggermente minore all'88.50% nazionale (36): tale

valore però aumenta nelle terapie intensive dell'ULSS 3 Serenissima fino al 92.86%.

Ceftolozano/Tazobactam, Ceftazidime/Avibactam e Meropenem/Vaborbactam rappresentano importanti innovazioni nella lotta contro i batteri Gram-negativi multiresistenti. Ceftolozano/Tazobactam è una combinazione di un cefalosporina di nuova generazione con un inibitore delle beta-lattamasi, progettata per essere particolarmente efficace contro le beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL) e le AmpC di *P. aeruginosa* (72).

La sensibilità delle *Enterobacterales* a Ceftolozano/Tazobactam sono risultati in generale superiori all'80% in tutti gli ambienti studiati: si segnala che la principale eccezione è stata riscontrata in *K. pneumoniae* sia nel 2022 che nel 2023 con valori sotto il 35% se si considerano i reparti di degenza ordinaria e terapia intensiva. Da segnalare, inoltre, che la sensibilità della *Klebsiella* spp. è fortemente diminuita tra il 2022 e il 2023 scendendo sotto il 50% in ambiente ospedaliero in terapia intensiva nell'ultimo anno.

Ceftazidime/Avibactam combina una cefalosporina di terza generazione con un potente inibitore delle beta-lattamasi, inclusi i tipi ESBL, AmpC, KPC e OXA-48, mentre Meropenem/Vaborbactam è un carbapenemico, associato ad un nuovo inibitore delle beta-lattamasi (vaborbactam). Rappresenta una valida alternativa per il trattamento delle infezioni causate da batteri appartenenti agli *Enterobacterales* produttori di ESBL, AmpC e KPC.

Per i microrganismi analizzati si sono evidenziati tassi di sensibilità elevata (superiore al 95% in tutti gli ambienti e in entrambi gli anni) a Ceftazidime/Avibactam. Tali valori sono stati linea con quanto riportato a livello globale (98.6%) (98) risultando superiori a valori riscontrati in specifiche aree del mondo come, ad esempio, l'America Latina (89.3%) (99). Per Meropenem/Vaborbactam le sensibilità sono rimaste sopra il 65% *E. coli*, *K. pneumoniae* e *Klebsiella* spp. in tutti i contesti presi in analisi, risultando

fortemente inferiori ai valori superiori al 90% descritti a livello globale (100). In linea con questi valori, invece, le sensibilità di *Proteus* spp. e *Morganella morganii* pari al 93%.

Tra i Gram-negativi non fermentanti, per quanto concerne Ceftazidime/Avibactam e Ceftolozano/Tazobactam le sensibilità sono rimaste sopra il 95% sul territorio e a livello di degenza ordinaria. In particolare, per la sensibilità di *P. aeruginosa* a Ceftazolano /Tazobactam tale valore è in linea con le sensibilità riportate negli Stati Uniti (>97%) (101).

Il principale limite di questo studio è l'assenza di dati demografici e clinici della popolazione in esame, che impedisce una completa caratterizzazione del campione. Inoltre, il breve periodo di osservazione limita la possibilità di individuare trend a lungo termine. Un altro limite significativo è la mancanza di dati sui meccanismi genetici di resistenza, che avrebbe potuto fornire informazioni più approfondite sulle dinamiche di resistenza. Le prospettive future includono l'implementazione di questi limiti attraverso la raccolta di dati demografici e clinici, l'estensione del periodo di osservazione e l'inclusione di analisi sui meccanismi genetici di resistenza, per ottenere una comprensione più completa e dettagliata del fenomeno dell'antibiotico-resistenza.

9 CONCLUSIONI

I risultati ottenuti in questo studio rappresentano un valido strumento per monitorare la diffusione dei patogeni maggiormente coinvolti nel fenomeno dell'antibiotico-resistenza, oltre a fornire una chiara panoramica delle possibili evoluzioni delle colonizzazioni batteriche in ambito assistenziale. La frequenza elevata di patogeni MDR negli ospedali rispecchia una realtà ormai diffusissima a livello globale: infatti, l'antibiotico-resistenza è una minaccia che incombe gravemente sui sistemi sanitari di tutto il mondo e potrebbe diventare entro il 2050, secondo stime dell'OMS, la terza causa di mortalità in tutto il mondo prospettando una situazione vicina all'era pre-antibiotica.

In conclusione, questo studio non solo mette in luce la preoccupante diffusione dei patogeni MDR, ma sottolinea anche l'urgente necessità di adottare strategie più efficaci e coordinate per combattere l'antibiotico-resistenza. La sorveglianza continua e la gestione oculata degli antibiotici devono diventare pilastri fondamentali della sanità pubblica per prevenire il deterioramento delle nostre capacità di trattamento e garantire un futuro in cui le infezioni batteriche possano essere gestite in modo efficace e sicuro.

10 BIBLIOGRAFIA

1. Comessatti I. Manuale antibiotici AWaRe Edizione italiana del “The WHO AWaRe Antibiotic Book.”
2. Prestinaci F, Pezzotti P, Pantosti A. Antimicrobial resistance: A global multifaceted phenomenon. Vol. 109, *Pathogens and Global Health*. 2015.
3. Murray CJ, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Robles Aguilar G, Gray A, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*. 2022;399(10325).
4. World Health Organization. Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) Report 2022. World Health Organization. 2022.
5. Akova M. Epidemiology of antimicrobial resistance in bloodstream infections. Vol. 7, *Virulence*. 2016.
6. AIFA: on line il Rapporto nazionale 2021 “L’Uso degli antibiotici in Italia” [Internet]. [cited 2024 May 30]. Available from: <https://www.epicentro.iss.it/farmaci/report-aifa-antibiotici-2021#writers>
7. Fluit AC, van der Bruggen JT, Aarestrup FM, Verhoef J, Jansen WTM. Priorities for antibiotic resistance surveillance in Europe. Vol. 12, *Clinical Microbiology and Infection*. 2006.
8. 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*. 2012;18(3).
9. Miller WR, Arias CA. ESKAPE pathogens: antimicrobial resistance, epidemiology, clinical impact and therapeutics. [cited 2024 Jun 16]; Available from: <https://doi.org/10.1038/s41579-024-01054-w>
10. World Health Organization. WHO Bacterial Priority Pathogens List 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. 2024;1–72.

11. Darby EM, Trampari E, Siasat P, Solsona Gaya M, Alav I, Webber MA, et al. nature reviews microbiology Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. *Nature Reviews Microbiology* | [Internet]. 2023 [cited 2024 May 31];21:280–95. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00820-y>
12. Bush K, Bradford PA. b-Lactams and b-Lactamase Inhibitors: An Overview. [cited 2024 Jun 15]; Available from: <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/>
13. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology: with STUDENT CONSULT Online Access. Medical Microbiology.* 2013;
14. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. MINIREVIEW A Functional Classification Scheme for-Lactamases and Its Correlation with Molecular Structure. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995;39(6):1211–33.
15. Toussaint KA, Gallagher JC. β -Lactam/ β -Lactamase Inhibitor Combinations. <http://dx.doi.org/10.1177/1060028014556652> [Internet]. 2014 Oct 31 [cited 2024 May 31];49(1):86–98. Available from: https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1060028014556652?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed
16. Chong Y, Shimoda S, Shimono N. Current epidemiology, genetic evolution and clinical impact of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. 2018 [cited 2024 Jun 1]; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.04.005>
17. Lohans CT, Brem J, Schofield CJ. New Delhi Metallo-Lactamase 1 Catalyzes Avibactam and Aztreonam Hydrolysis. 2017 [cited 2024 Jun 1]; Available from: <https://doi.org/10.1128/AAC.01224-17>.
18. Poeylout-Palena AA, Tomatis PE, Karsisiotis AI, Damblon C, Mata EG, Vila AJ. A minimalistic approach to identify substrate binding features in B1 Metallo- β -lactamases. *Bioorg Med Chem Lett.* 2007 Sep 15;17(18):5171–4.
19. Beadle BM, Shoichet BK. NOTES Structural Basis for Imipenem Inhibition of Class C-Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46(12):3978–80.

20. Kim JY, Jung H II, An YJ, Lee JH, Kim SJ, Jeong SH, et al. Structural basis for the extended substrate spectrum of CMY-10, a plasmid-encoded class C β -lactamase. *Mol Microbiol*. 2006 May;60(4):907–16.
21. Phillippon AM, Paul GC, Jacoby GA. Properties of PSE-2 beta-lactamase and genetic basis for its production in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 1983 [cited 2024 Jun 1];24(3):362–9. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aac.24.3.362>
22. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clinical Microbiology and Infection*. 2006 Sep 1;12(9):826–36.
23. Poirel L, Potron AA, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. [cited 2024 Jun 1]; Available from: <https://academic.oup.com/jac/article/67/7/1597/732863>
24. He Y, Lei J, pan X, Huang X, Zhao Y. the hydrolytic water molecule of class A β -lactamase relies on the acyl-enzyme intermediate eS* for proper coordination and catalysis. *Scientific Reports* | . 2020;10:10205.
25. Carcione D, Siracusa C, Sulejmani A, Leoni V, Intra J. Old and new beta-lactamase inhibitors: Molecular structure, mechanism of action and clinical use. Vol. 10, *Antibiotics*. 2021.
26. MacDougall Conan, traduzione di Quintieri Luigi. *Amminoglicosidici*. In: Goodman & Gilman *Le basi farmacologiche della terapia*. Zanichelli; 2019. p. 1101–10.
27. Garneau-Tsodikova S, Labby KJ, Garneau S. Mechanisms of Resistance to Aminoglycoside Antibiotics: Overview and Perspectives.
28. Fyfe C, Grossman TH, Kerstein K, Sutcliffe J. Resistance to Macrolide Antibiotics in Public Health Pathogens. [cited 2024 Jun 1]; Available from: www.perspectivesinmedicine.org
29. Zeng D, Debabov D, Hartsell TL, Cano RJ, Adams S, Schuyler JA, et al. Approved Glycopeptide Antibacterial Drugs: Mechanism of Action and Resistance. [cited 2024 Jun 2]; Available from: www.perspectivesinmedicine.org

30. Murray Patrick R., Rosenthal Ken S., Pfaller Michael A. Farmaci Antibatterici. In: Microbiologia Medica. Eighth. Edra; 2017. p. 172–80.
31. Aldred KJ, Kerns RJ, Osheroff N. Mechanism of quinolone action and resistance. Biochemistry [Internet]. 2014 Mar 18 [cited 2024 Jun 2];53(10):1565–74. Available from: <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>
32. Moubareck CA, Halat DH. antibiotics Insights into Acinetobacter baumannii: A Review of Microbiological, Virulence, and Resistance Traits in a Threatening Nosocomial Pathogen. [cited 2024 Jun 2]; Available from: www.mdpi.com/journal/antibiotics
33. Antimicrobial resistance surveillance in Europe. [cited 2024 Jun 2]; Available from: <https://www.who.int/>
34. Nicolle LE. Uncomplicated Urinary Tract Infection in Adults Including Uncomplicated Pyelonephritis. Urologic Clinics of North America. 2008 Feb 1;35(1):1–12.
35. Jariremombe RC, Jariremombe RC. Mechanisms of Antimicrobial Resistance of *E. coli*. Escherichia coli - Old and New Insights [Internet]. 2022 Aug 17 [cited 2024 Jun 2]; Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/83120>
36. Superiore I, Sanità D, Iacchini S, Boros S, Pezzotti P, Caramia A, et al. AR-ISS: sorveglianza nazionale dell'Antibiotico-Resistenza. Dati 2022. [cited 2024 Jun 2]; Available from: www.iss.it
37. Escherichia coli - Sorveglianza dell'Antibiotico-Resistenza - AR-ISS [Internet]. [cited 2024 Jun 5]. Available from: <https://www.epicentro.iss.it/antibiotico-resistenza/ar-iss-rapporto-escherichia-coli>
38. Podschun R, Ullmann U. Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin Microbiol Rev [Internet]. 1998 [cited 2024 Jun 2];11(4):589–603. Available from: <https://journals.asm.org/journal/cmr>
39. Lee GC, Burgess DS. Treatment of Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase (KPC) infections: a review of published case series and case reports. 2012 [cited 2024 Jun 3]; Available from: <http://www.ann-clinmicrob.com/content/11/1/32>

40. Moya C, Maicas S. Antimicrobial Resistance in *Klebsiella pneumoniae* Strains: Mechanisms and Outbreaks. *Proceedings 2020*, Vol 66, Page 11 [Internet]. 2020 Dec 23 [cited 2024 Jun 3];66(1):11. Available from: <https://www.mdpi.com/2504-3900/66/1/11/htm>
41. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: Here is the storm! *Trends Mol Med* [Internet]. 2012 May 1 [cited 2024 Jun 3];18(5):263–72. Available from: <http://www.cell.com/article/S1471491412000378/fulltext>
42. Li Y, Kumar S, Zhang L, Wu H, Wu H. Mini-Review Characteristics of antibiotic resistance mechanisms and genes of *Klebsiella pneumoniae*. 2023 [cited 2024 Jun 2]; Available from: <https://doi.org/10.1515/med-2023-0707>
43. *Klebsiella pneumoniae* - Sorveglianza dell'Antibiotico-Resistenza - AR-ISS [Internet]. [cited 2024 Jun 5]. Available from: <https://www.epicentro.iss.it/antibiotico-resistenza/ar-iss-rapporto-klebsiella-pneumoniae>
44. Murphy TF. *Pseudomonas aeruginosa* in adults with chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Opin Pulm Med*. 2009 Mar 1;15(2):138–42.
45. Sugawara E, Nestorovich EM, Bezrukov SM, Nikaido H. *Pseudomonas aeruginosa* Porin OprF Exists in Two Different Conformations. *Journal of Biological Chemistry*. 2006 Jun 16;281(24):16220–9.
46. Dupont P, Hocquet D, Jeannot K, Chavanet P, Plésiat P. Bacteriostatic and bactericidal activities of eight fluoroquinolones against MexAB-OprM-overproducing clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [Internet]. 2005 Apr 1 [cited 2024 Jun 3];55(4):518–22. Available from: <https://dx.doi.org/10.1093/jac/dki030>
47. Okamoto K, Gotoh N, Nishino T. Extrusion of penem antibiotics by multicomponent efflux systems MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexXY-OprM of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002 Jan 1;46(8):2696–9.

48. Llanes C, Köhler T, Patry I, Dehecq B, Van Delden C, Plésiat P. Role of the MexEF-OprN efflux system in low-level resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 Dec 1;55(12):5676–84.
49. Hocquet D, Vogne C, El Garch F, Vejux A, Gotoh N, Lee A, et al. MexXy-OprM efflux pump is necessary for adaptive resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003 Apr 1;47(4):1371–5.
50. Pang Z, Raudonis R, Glick BR, Lin TJ, Cheng Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnol Adv*. 2019 Jan 1;37(1):177–92.
51. Poole K. Aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005 Feb 1;49(2):479–87.
52. Jacoby GA, Blaser MJ, Santanam P, Hachler H, Kayser FH, Hare RS, et al. Appearance of amikacin and tobramycin resistance due to 4'-aminoglycoside nucleotidyltransferase [ANT(4')-II] in gram-negative pathogens. *Antimicrob Agents Chemother*. 1990 Jan 1;34(12):2381–6.
53. Jabeen I, Islam S, Hassan AKMI, Tasnim Z, Shuvo SR. A brief insight into *Citrobacter* species - a growing threat to public health. *Frontiers in Antibiotics*. 2023;2.
54. Osei Sekyere J, Reta MA. Global evolutionary epidemiology and resistome dynamics of *Citrobacter* species, *Enterobacter hormaechei*, *Klebsiella variicola*, and *Proteaeae* clones. *Environ Microbiol* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2024 Jun 5];23(12):7412–31. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1462-2920.15387>
55. Ju X, Wang S, Yang X, Han W, Cai C, Wu Y, et al. Epidemiology and Molecular Characteristics of mcr-9 in *Citrobacter* spp. from Healthy Individuals and Patients in China . *Microbiol Spectr* [Internet]. 2022 Dec 21 [cited 2024 Jun 5];10(6). Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pathogens/isolates/#AMR_genotypes:
56. Gaibani P, Ambretti S, Farruggia P, Bua G, Berlingeri A, Tamburini MV, et al. Outbreak of *Citrobacter freundii* carrying VIM-1 in an Italian Hospital, identified

- during the carbapenemases screening actions, June 2012. 2013 [cited 2024 Jun 5]; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2013.02.007>
57. Shaw KJ, Rather PN, Hare RS, Miller GH. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoelycoside-modifying enzymes. *Microbiol Rev* [Internet]. 1993 [cited 2024 Jun 5];57(1):138–63. Available from: <https://journals.asm.org/journal/mr>
 58. Davin-Regli A, Lavigne JP, Pagès JM. *Enterobacter* spp.: update on taxonomy, clinical aspects, and emerging antimicrobial resistance. Vol. 32, *Clinical Microbiology Reviews*. American Society for Microbiology; 2019.
 59. Tebano G, Geneve C, Tanaka S, Grall N, Atchade E, Augustin P, et al. Epidemiology and risk factors of multidrug-resistant bacteria in respiratory samples after lung transplantation. *Transplant Infectious Disease* [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2024 Jun 5];18(1):22–30. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/tid.12471>
 60. Carbonne A, Arnaud I, Maugat S, Marty N, Dumartin C, Bertrand X, et al. National multidrug-resistant bacteria (MDRB) surveillance in France through the RAISIN network: a 9 year experience on behalf of the MDRB Surveillance National Steering Group (BMR-Raisin) †. [cited 2024 Jun 7]; Available from: <https://academic.oup.com/jac/article/68/4/954/701912>
 61. Huang S, Dai W, Sun S, Zhang X, Zhang L. Prevalence of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance and Aminoglycoside Resistance Determinants among Carbapeneme Non-Susceptible *Enterobacter cloacae*. [cited 2024 Jun 7]; Available from: <http://www.nsf.gov.cn/Portal0/>
 62. Ray C, Shenoy AT, Orihuela CJ, González-Juarbe N. Killing of *Serratia marcescens* biofilms with chloramphenicol. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2017;16:19.
 63. Kurmasheva N, Vorobiev V, Sharipova M, Efremova T, Mardanova A. The Potential Virulence Factors of *Providencia stuartii*: Motility, Adherence, and Invasion. 2018 [cited 2024 Jun 18]; Available from: <https://doi.org/10.1155/2018/3589135>

64. Dwivedi N, Rai S, Sharma PK, Rai R. Hits and misses in treatment of ESCPM gram negative infections. *Indian J Med Microbiol.* 2022 Jan 1;40(1):147–9.
65. Papagiannitsis CC, Hrabak J, Maria D'andrea M, Reslan L, Naas T, Girlich D, et al. Genetics of Acquired Antibiotic Resistance Genes in *Proteus* spp. 2020 [cited 2024 Jun 18]; Available from: www.frontiersin.org
66. Ibn Saied W, Merceron S, Schwebel C, Le Monnier A, Oziel J, Garrouste-Orgeas M, et al. Ventilator-associated pneumonia due to *Stenotrophomonas maltophilia*: Risk factors and outcome. *Journal of Infection.* 2020 Mar 1;80(3):279–85.
67. MacDougall C. Penicilline, cefalosporine e altri antibiotici β -lattamici. In: Goodman & Gilman Le basi farmacologiche della terapia. Tredicesima Edizione. Zanichelli; 2019. p. 1085–100.
68. Gazzetta Ufficiale [Internet]. [cited 2024 Jun 10]. Available from: https://www.gazzettaufficiale.it/atto/serie_generale/caricaDettaglioAtto/originario?atto.dataPubblicazioneGazzetta=2022-04-20&atto.codiceRedazionale=22A02397&elenco30giorni=false
69. Chastain DB, White BP, Cretella DA, Bland CM. Is It Time to Rethink the Notion of Carbapenem-Sparing Therapy Against Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae Bloodstream Infections? A Critical Review. <https://doi.org/10.1177/1060028017748943> [Internet]. 2017 Dec 14 [cited 2024 Jun 10];52(5):484–92. Available from: https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1060028017748943?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed
70. Moschopoulos D, Monchi M, Zha L, Li X, Ren Z, Zhang D, et al. Pragmatic Comparison of Piperacillin/Tazobactam versus Carbapenems in Treating Patients with Nosocomial Pneumonia Caused by Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae*. 2022 [cited 2024 Jun 10]; Available from: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101384>
71. European Medicines Agency. Zerbaxa (ceftolozane / tazobactam). [cited 2024 Jun 9]; Available from: www.ema.europa.eu/contact

72. Scott LJ. Ceftolozane/Tazobactam: A Review in Complicated Intra-Abdominal and Urinary Tract Infections. 2016;
73. Solomkin J, Hershberger E, Miller B, Popejoy M, Friedland I, Steenbergen J, et al. Ceftolozane/Tazobactam Plus Metronidazole for Complicated Intra-abdominal Infections in an Era of Multidrug Resistance: Results From a Randomized, Double-Blind, Phase 3 Trial (ASPECT-clAI). 2015 [cited 2024 Jun 10]; Available from: <https://academic.oup.com/cid/article/60/10/1462/338307>
74. Wagenlehner FM, Umeh O, Steenbergen J, Yuan G, Darouiche RO. Ceftolozane-tazobactam compared with levofloxacin in the treatment of complicated urinary-tract infections, including pyelonephritis: A randomised, double-blind, phase 3 trial (ASPECT-cUTI). *The Lancet*. 2015 May 16;385(9981):1949–56.
75. Ehmann DE, Jahić H, Ross PL, Gu RF, Hu J, Kern G, et al. Avibactam is a covalent, reversible, non- β -lactam β -lactamase inhibitor. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2012 Jul 17 [cited 2024 Jun 8];109(29):11663–8. Available from: www.pnas.org/lookup/suppl/doi:10.1073/pnas.1205073109/-/DCSupplemental. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1205073109
76. Shirley M. Ceftazidime-Avibactam: A Review in the Treatment of Serious Gram-Negative Bacterial Infections. *Drugs* [Internet]. 2018 [cited 2024 Jun 8];78. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40265-018-0902-x>
77. Zavicefta | European Medicines Agency [Internet]. [cited 2024 Jun 8]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/zavicefta>
78. Wagenlehner FM, Sobel JD, Newell P, Armstrong J, Huang X, Stone GG, et al. Clinical Infectious Diseases Ceftazidime-avibactam Versus Doripenem for the Treatment of Complicated Urinary Tract Infections, Including Acute Pyelonephritis: RECAPTURE, a Phase 3 Randomized Trial Program. 2016 [cited 2024 Jun 8]; Available from: www.astrazenecaclinicaltrials.
79. Mazuski JE, Gasink LB, Armstrong J, Broadhurst H, Stone GG, Rank D, et al. Clinical Infectious Diseases Efficacy and Safety of Ceftazidime-Avibactam Plus Metronidazole Versus Meropenem in the Treatment of Complicated Intra-

- abdominal Infection: Results From a Randomized, Controlled, Double-Blind, Phase 3 Program. 2016;
80. Torres A, Zhong N, Pacht J, Timsit JF, Kollef M, Chen Z, et al. Ceftazidime-avibactam versus meropenem in nosocomial pneumonia, including ventilator-associated pneumonia (REPROVE): a randomised, double-blind, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet Infect Dis*. 2018 Mar 1;18(3):285–95.
 81. Kaye KS, Bhowmick T, Metallidis S, Bleasdale SC, Sagan OS, Stus V, et al. Effect of Meropenem-Vaborbactam vs Piperacillin-Tazobactam on Clinical Cure or Improvement and Microbial Eradication in Complicated Urinary Tract Infection The TANGO I Randomized Clinical Trial Supplemental content CME Quiz at jamanetwork.com/learning and CME Questions page 824. *JAMA*. 2018;319(8):788–99.
 82. Duda-Madej A, Viscardi S, Topola E. Meropenem/Vaborbactam: β -Lactam/ β -Lactamase Inhibitor Combination, the Future in Eradicating Multidrug Resistance. Vol. 12, Antibiotics. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023.
 83. EMA raccomanda un nuovo medicinale per una serie di infezioni [Internet]. [cited 2024 Jun 11]. Available from: <https://www.aifa.gov.it/-/ema-raccomanda-un-nuovo-medicinale-per-una-serie-di-infezioni>
 84. Kaye KS, Bhowmick T, Metallidis S, Bleasdale SC, Sagan OS, Stus V, et al. Effect of meropenem-vaborbactam vs piperacillin-Tazobactam on clinical cure or improvement and microbial eradication in complicated urinary tract infection the TANGO I randomized clinical trial. *JAMA - Journal of the American Medical Association*. 2018 Feb 27;319(8):788–99.
 85. Richard G. Wunderink, Evangelos J. Giamarellos-Bourboulis, Galia Rahav, Amy J. Mathers, Matteo Bassetti, Jose Vazquez, et al. Effect and Safety of Meropenem–Vaborbactam versus Best-Available Therapy in Patients with Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Infections: The TANGO II Randomized Clinical Trial. 2018 Oct 1;
 86. Heo YA. Imipenem/Cilastatin/Relebactam: A Review in Gram-Negative Bacterial Infections. *Drugs*. 2021;81:377–88.

87. Titov I, Wunderink RG, Roquilly A, Rodríguez Gonzalez D, David-Wang A, Boucher HW, et al. A Randomized, Double-blind, Multicenter Trial Comparing Efficacy and Safety of Imipenem/Cilastatin/ Relebactam Versus Piperacillin/Tazobactam in Adults With Hospital-acquired or Ventilator-associated Bacterial Pneumonia (RESTORE-IMI 2 Study). [cited 2024 Jun 18]; Available from: <https://academic.oup.com/cid/advance-article/doi/10.1093/cid/ciaa803/5891450>
88. Motsch J, De Oliveira CM, Stus V, Köksal I, Lyulko O, Boucher HW, et al. Clinical Infectious Diseases RESTORE-IMI 1: A Multicenter, Randomized, Double-blind Trial Comparing Efficacy and Safety of Imipenem/ Relebactam vs Colistin Plus Imipenem in Patients With Imipenem-nonsusceptible Bacterial Infections. 2019 [cited 2024 Jun 18]; Available from: <https://academic.oup.com/cid/article/70/9/1799/5546004>
89. Bassetti M, Echols R, Matsunaga Y, Ariyasu M, Doi Y, Ferrer R, et al. Efficacy and safety of cefiderocol or best available therapy for the treatment of serious infections caused by carbapenem-resistant Gram-negative bacteria (CREDIBLE-CR): a randomised, open-label, multicentre, pathogen-focused, descriptive, phase 3 trial. *Lancet Infect Dis*. 2021 Feb 1;21(2):226–40.
90. Moynié L, Luscher A, Rolo D, Pletzer D, Tortajada A, Weingart H, et al. Structure and function of the PiuA and PirA siderophore-drug receptors from *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2017 Apr 1 [cited 2024 Jun 18];61(4). Available from: <https://journals.asm.org/journal/aac>
91. Yao J, Wang J, Chen M, Cai Y. Cefiderocol: An Overview of Its in-vitro and in-vivo Activity and Underlying Resistant Mechanisms. Vol. 8, *Frontiers in Medicine*. Frontiers Media S.A.; 2021.
92. Masters PA, O'bryan TA, Zurlo J, Miller DQ, Joshi N. Trimethoprim-Sulfamethoxazole Revisited.
93. Passerini M, Nayfeh T, Yetmar ZA, Coussement J, Goodlet KJ, Lebeaux D, et al. Systematic review Trimethoprim-sulfamethoxazole significantly reduces the risk of nocardiosis in solid organ transplant recipients: systematic review and

- individual patient data meta-analysis. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2024 [cited 2024 Jun 10];30:170. Available from:
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>
94. MacDougall Conan. Inibitori della sintesi delle proteine e altri agenti antibatterici. In: Goodman & Gilman Le basi farmacologiche della terapia. Tredicesima Edizione. Zanichelli; 2019. p. 1111–30.
95. Freeman J, Vernon J, Pilling S, Morris K, Nicolson S, Shearman S, et al. Five-year Pan-European, longitudinal surveillance of *Clostridium difficile* ribotype prevalence and antimicrobial resistance: the extended ClosER study. [cited 2024 Jun 12]; Available from: <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03708-7>
96. Yaghoubi S, Zekiy AO, Krutova M, Gholami M, Kouhsari E, Sholeh M, et al. Tigecycline antibacterial activity, clinical effectiveness, and mechanisms and epidemiology of resistance: narrative review. 2021 [cited 2024 Jun 11]; Available from: <https://doi.org/10.1007/s10096-020-04121-1>
97. Corinne Dijkmans A, Veneranda Ortiz Zacarías N, Burggraaf J, Willem Mouton J, Bert Wilms E, van Nieuwkoop C, et al. antibiotics Fosfomycin: Pharmacological, Clinical and Future Perspectives; Available from:
www.mdpi.com/journal/antibiotics
98. Maraki S, Viktoria ·, Mavromanolaki E, Magkafouraki · Eleni, Moraitis P, Dimitra Stafylaki ·, et al. Epidemiology and in vitro activity of ceftazidime-avibactam, meropenem-vaborbactam, imipenem-relebactam, eravacycline, plazomicin, and comparators against Greek carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates. 2021 50:467–74. Available from: <https://doi.org/10.1007/s15010-021-01735-1>
99. Wise MG, Karlowsky JA, Lemos-Luengas E V, Valdez RR, Sahm. Epidemiology and in vitro activity of ceftazidime-avibactam and comparator agents against multidrug-resistant isolates of Enterobacterales and *Pseudomonas aeruginosa* collected in Latin America as part of the ATLAS surveillance program in 2015–2020. *Brazilian Journal of Infectious Diseases* [Internet]. 2023;27:102759. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2023.102759>

100. Castanheira M, Huband MD, Mendes RE, Flamm RK. Meropenem-Vaborbactam Tested against Contemporary Gram-Negative Isolates Collected Worldwide during 2014, Including Carbapenem-Resistant, KPC-Producing, Multidrug-Resistant, and Extensively Drug-Resistant Enterobacteriaceae. 2017; Available from: <https://journals.asm.org/journal/aac>
101. Sader HS, Huband MD, Castanheira M, Flamm RK. *Pseudomonas aeruginosa* Antimicrobial Susceptibility Results from Four Years (2012 to 2015) of the International Network for Optimal Resistance Monitoring Program in the United States Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2017;