

Enterobacterales

INTRODUZIONE

Il problema **dell'antibiotico resistenza** rappresenta **una minaccia globale di salute pubblica**. In ambito clinico la resistenza interessa la maggior parte dei patogeni batterici Gram-positivi e Gram-negativi, e in alcuni casi sono emersi *pattern* di resistenza sempre più estesi, rendendo i vari quadri sindromici correlati di difficile trattamento.

Antibiotico
resistenza
minaccia globale
di salute pubblica

Tra i Gram-negativi, gli enterobatteri sono i patogeni complessivamente più frequenti sia in ambito ospedaliero che in ambito comunitario, con un impatto importante in termini di mortalità e morbosità nell'ambito delle infezioni da batteri antibiotico-resistenti⁽¹⁾.

Gli enterobatteri sono bacilli Gram-negativi aerobi/anaerobi facoltativi, capaci di fermentare il glucosio e negativi al test dell'ossidasi. Lo sviluppo recente di nuove metodiche di sequenziamento genomico massivo ha portato ad una rivisitazione profonda della tassonomia degli enterobatteri, che sono adesso inclusi in un ordine, *Enterobacterales*⁽²⁾, che comprende sette famiglie (*Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae*, *Pectobacteriaceae*, *Yersiniaceae*, *Hafniaceae*, *Morganellaceae*, *Budviciaceae*). Le specie batteriche di maggior rilevanza clinica sono, tra le *Enterobacteriaceae*, quelle appartenenti ai generi *Escherichia*, *Klebsiella*, *Shigella*, *Citrobacter* ed *Enterobacter*, tra le *Yersiniaceae* quelle appartenenti ai generi *Yersinia* e *Serratia* e, tra le *Morganellaceae*, quelle appartenenti ai generi *Proteus*, *Morganella* e *Providencia*.

IL POTENZIALE PATOGENO DELLE ENTEROBACTERALES

Alcune specie di *Enterobacterales* hanno evoluto meccanismi di patogenicità specifica che le mettono in grado di causare infezioni invasive associate a sindromi cliniche ben definite (ad esempio, *Shigella spp.*, *Salmonella enterica*, *Yersinia spp.*), mentre altre (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter spp.*, *Morganella morganii*) si comportano generalmente come patogeni opportunisti, causando infezioni in vari distretti corporei in presenza di condizioni predisponenti che abbassano le normali difese, che spesso si verificano nei soggetti ospedalizzati o sottoposti a cure mediche di vario tipo. Tra queste specie, è possibile tuttavia riscontrare anche ceppi che hanno acquisito meccanismi di patogenicità peculiari che li rendono capaci di causare infezioni associate a specifici quadri sindromici. Un esempio di questo tipo è rappresentato dai ceppi di *Escherichia coli* capaci di causare diarrea (*E. coli* diarreagenici) con vari meccanismi (produzione di enterotossine, invasione della mucosa, alterazione funzionale e strutturale della mucosa)^(3,4). Un altro esempio di questo tipo è

Klebsiella pneumoniae (hvKp)

rappresentato dai ceppi ipervirulenti di *Klebsiella pneumoniae* (hvKp), inizialmente descritti in certe zone del sud-est asiatico.

Tali ceppi hanno acquisito nel loro patrimonio genetico numerosi determinanti di virulenza (ad esempio, siderofori, certi tipi di polisaccaridi capsulari, nuove vie metaboliche, regolatori dell'espressione genica) che consentono di causare infezioni invasive.

Questi ceppi, quando crescono in coltura, formano tipicamente colonie francamente mucoidi, positive allo **string test** (Figure 1, 2), detto anche fenotipo ipermucoviscoso. La rilevanza clinica dei **ceppi hvKp** è notevole, in quanto **responsabili di infezioni invasive** correlate a gravi quadri settici a partenza generalmente dalle vie biliari, caratterizzati dalla formazione di accessi epatici e frequente metastatizzazione in altre sedi (polmonare, cere-

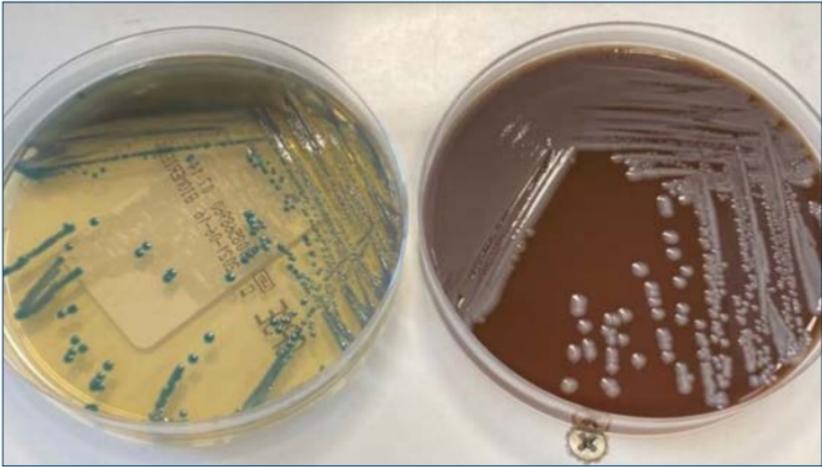


Figura 1. *Klebsiella pneumoniae* su terreno cromogeno (a sx) e su agar cioccolato (a dx) (cortesia dr. Tommaso Gianì). Le colonie di *K. pneumoniae* spesso appaiono mucoidi, per la produzione di capsula polisaccaridica.

brale, oculare) attraverso il torrente ematico. I ceppi *hvKp* appartengono generalmente ad alcune linee clonali (ad esempio, ST23, ST65 e ST86)^(5,6) e spesso non presentano fenotipi di resistenza acquisita. Tuttavia, recentemente è stata segnalata l'emergenza di ceppi *hvKp* con fenotipi di multiresistenza (inclusa la resistenza ai carbapenemi), per la convergenza di determinanti di resistenza^(7,8). Tale fenomeno desta evidentemente notevole preoccupazione per le possibili implicazioni cliniche ed epidemiologiche.



Figura 2. String test (cortesia dr. Fabio Arena).

LA RESISTENZA AGLI ANTIBIOTICI NELLE ENTEROBACTERALES

Le *Enterobacterales* sono caratterizzate da un profilo di resistenze intrinseche agli antibiotici che di base comprende la benzil-penicillina, i glicopeptidi, la daptomicina, l'acido fusidico, i macrolidi, i lincosamidi, le streptogramine, la rifampicina e gli oxazolinidoni⁽⁹⁾. Per alcune di esse la resistenza intrinseca può estendersi anche ad altri β -lattamici, alle tetracicline, alle polimixine, alla fosfomicina e alla nitrofurantoina, in dipendenza di specifici meccanismi di resistenza che sono evoluti come caratteristica di specie. Ad esempio, *Klebsiella pneumoniae* possiede un gene cromosomico che codifica la β -lattamasi ad ampio spettro di tipo SHV ed è per questo motivo intrinsecamente resistente ad ampicillina, amoxicillina, piperacillina e cefa-

AmpC

losporine a spettro ristretto. D'altra parte, le specie produttrici di β -lattamasi cromosomiche inducibili di tipo AmpC (ad esempio, *Enterobacter spp.*, *Citrobacter freundii*) sono intrinsecamente resistenti ad ampicillina, amoxicillina, ampicillina-sulbactam, amoxicillina-clavulanato, cefalosporine a spettro ristretto e cefoxitina, perché tutti questi composti inducono la produzione di enzima e ne vengono degradati, senza possibilità di protezione da parte di sulbactam o clavulanato che non inibiscono efficacemente le β -lattamasi di tipo AmpC⁽⁹⁾.

Inoltre, per tutte le *Enterobacterales* esiste la possibilità di acquisire resistenze nei confronti dei farmaci normalmente attivi a seguito di mutazioni cromosomiche o di acquisizione di nuovi determinanti di resistenza mediante fenomeni di scambio genico orizzontale, che in questo gruppo di batteri sono frequenti e spesso mediati dalla trasmissione di plasmidi. Tra le varie specie patogene di *Enterobacterales*, *Klebsiella pneumoniae* è quella che maggiormente si è distinta per la capacità di acquisire fenotipi di resistenza complessi ed estesi a molti antibiotici, anche se il problema delle resistenze acquisite riguarda in modo importante anche *Escherichia coli*, che è la specie più comunemente isolata in ambito clinico.

Nelle *Enterobacterales*, il **principale meccanismo di resistenza** acquisita agli antibiotici β -lattamici (che restano i farmaci di prima scelta per queste infezioni) è rappresentato dalla **produzione di β -lattamasi**, enzimi capaci di idrolizzare l'anello β -lattamico rendendo la molecola inattiva. Le β -lattamasi sono enzimi evoluti in natura, all'interno di processi di competizione tra microrganismi, come difesa nei confronti dei β -lattamici naturali. L'impiego di questi farmaci in ambito clinico, a partire dalla metà del 1900, ha generato una pressione selettiva che ha favorito il reclutamento di nuove β -lattamasi tra le *Enterobacterales* patogene, mediate spesso da plasmidi trasferibili che ne hanno facilitato la diffusione. Le prime β -lattamasi acquisite hanno iniziato a diffondersi tra le *Enterobacterales* a partire dalla metà degli anni '60 del secolo scorso: si è trattato degli enzimi ad ampio spettro di tipo **TEM-1** e **SHV-1** (quest'ultimo codificato da un gene residente nel cromosoma mobilizzato dal cromosoma di *Klebsiella pneumoniae*), responsabili di resistenza acquisita alle penicilline (ampicillina, ticarcillina, piperacillina) e alle cefalosporine a spettro ristretto (cefalotina, cefazolina) nelle specie naturalmente sensibili a questi farmaci come *E. coli*, *S. enterica* e *P. mirabilis*. Il successivo impiego su larga scala in ambito clinico delle cefalosporine a spettro espanso (ESC) (ad esempio, cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime), resistenti alle β -lattamasi ad ampio spettro di tipo TEM e SHV, ha modificato la pressione selettiva portando a: i) selezione di mutanti puntiformi di questi enzimi, capaci di idrolizzare anche le ESC (ad esempio, **TEM-3**, **TEM-10**, **TEM-24**, **TEM-52**; **SHV-5**, **SHV-12**); ii) reclutamento di nuove β -lattamasi naturalmente attive sulle **ESC** (ad esempio, **CTX-M**, **PER**, **GES**, **VEB**)⁽¹⁰⁻¹³⁾. La diffusione di ceppi di *Enterobacterales* produttori di questi enzimi, denominati complessivamente **β -lattamasi a spettro esteso (ESBL)**, favorita dalla mobilità degli elementi genetici che li codificano, ha assunto in tempi relativamente brevi una dimensione pandemica e trans-settoriale, interessando anche l'ambito veterinario e l'ambiente. La produzione di ESBL si associa tipicamente alla resistenza alle ESC e,

Nelle *Enterobacterales*, il principale meccanismo di resistenza è la produzione di β -lattamasi

in presenza di questo fenotipo, deve essere sospettata come il meccanismo di resistenza più probabile, anche se ve ne possono essere altri. Poiché le ESBL possono presentare preferenze di attività nei confronti delle diverse ESC, è importante saggiare la sensibilità ad almeno due rappresentanti di questa famiglia (tipicamente cefotaxime o ceftriaxone e ceftazidime) per essere sicuri di intercettare con elevata sensibilità i ceppi produttori di ESBL.

La terapia delle infezioni causate da ceppi di *Enterobacterales* produttori di ESBL si è inizialmente basata principalmente sui carbapenemi: l'incrementato utilizzo di questi farmaci a seguito della diffusione massiva di ceppi ESBL-produttori ha modificato ulteriormente la pressione selettiva in ambito clinico favorendo l'emergenza di enzimi capaci di degradare anche i carbapenemi, definiti per questo **carbapenemasi**. Per questo motivo, è stata considerata con grande interesse la possibilità di impiegare trattamenti alternativi ai carbapenemici per la terapia delle infezioni causate da ceppi di *Enterobacterales* produttori di ESBL (i cosiddetti regimi **carbapenem-sparing**), tra i quali le combinazioni tra β -lattamici ed inibitori delle β -lattamasi (BLIC) sono quelle più studiate, anche se la loro non-inferiorità rispetto ai carbapenemi resta in parte controversa⁽¹⁴⁾.

Vari tipi di carbapenemasi sono emersi, principalmente in *Klebsiella pneumoniae* ma anche in altri membri delle *Enterobacterales*, tra i quali i più comuni sono le carbapenemasi a serina di tipo **KPC** ed **OXA-48**, e le metallo-carbapenemasi di tipo **NDM**, **VIM** ed **IMP**. Si tratta di enzimi che, oltre a degradare i carbapenemi, sono attivi anche sulla maggioranza degli altri composti β -lattamici e quindi in grado di conferire un fenotipo di resistenza ai β -lattamici molto ampio, che generalmente copre penicilline, cefalosporine e carbapenemi. Inoltre, le carbapenemasi non sono inibite dagli inibitori delle β -lattamasi di derivazione β -lattamica (clavulanato, sulbactam e tazobactam) e solo alcune di esse sono inibite dai nuovi inibitori di natura non β -lattamica. In particolare, gli enzimi di tipo KPC sono inibiti da avibactam, relebactam e vaborbactam, mentre gli enzimi di tipo OXA-48 solo da avi-

bactam e i metallo-enzimi da nessuno di questi nuovi inibitori.

I ceppi di **Enterobacterales produttori di carbapenemasi (CPE)** hanno spesso accumulato meccanismi di resistenza anche ad altri antibiotici non- β -lattamici e presentano per questo motivo fenotipi di resistenza estesa (XDR). Di fatto, solo pochi dei vecchi antibiotici mantengono una certa attività nei confronti dei CPE (polimixine, tigeciclina, fosfomicina, alcuni aminoglicosidi), mentre le nuove combinazioni con inibitori coprono solo le carbapenemasi a serina (ceftazidime/avibactam) o gli enzimi di tipo KPC (imipenem/relebactam e meropenem/vaborbactam). Solo cefiderocol e aztreonam-avibactam (ancora non disponibile come tale, ma vicariato dalla combinazione estemporanea di ceftazidime/avibactam ed aztreonam) riescono a coprire anche i CPE produttori di metallo-enzimi. Peraltro, la resistenza acquisita ai nuovi BLIC (e in particolare a ceftazidime/avibactam, che è quello da più tempo in uso clinico) è stata ripetutamente segnalata ad opera di vari meccanismi (mutanti enzimatici, iperproduzione di enzima, difetti di permeabilità)⁽¹⁵⁻¹⁸⁾, sottolineando come l'uso di questi nuovi antibiotici debba attenersi a rigorosi criteri di **stewardship** antibiotica per preservarne l'efficacia più a lungo possibile. Tra le β -lattamasi acquisite che si possono incontrare nelle *Enterobacterales* circolanti in ambito clinico vi sono anche altri tipi di enzimi, quali le β -lattamasi di tipo AmpC e le β -lattamasi di tipo OXA. Le **β -lattamasi di tipo AmpC**, residenti in alcune specie di *Enterobacterales* (vedi sopra), possono essere anche codificate da plasmidi. La loro acquisizione si associa a fenotipi di resistenza alle ESC simili a quelli causati dalle ESBL ma che, a differenza di questi ultimi, non sono reversibili dagli inibitori convenzionali delle β -lattamasi. La prevalenza di β -lattamasi acquisite di tipo AmpC è complessivamente più rara rispetto alle ESBL. Le **β -lattamasi di tipo OXA** appartengono alla classe molecolare D e sono enzimi a serina con alcune peculiarità nel meccanismo catalitico, che le rende generalmente resistenti o poco sensibili agli inibitori delle β -lattamasi⁽¹⁹⁾. Molte hanno un pro-

β -lattamasi
di tipo AmpC

β -lattamasi
di tipo OXA

filo ristretto alle penicilline e alle cefalosporine a spettro ristretto, e la loro presenza può contribuire ad un fenotipo di resistenza ai vecchi BLIC a base di penicilline. Alcuni di questi enzimi, tuttavia, hanno evoluto la capacità di idrolizzare le ESC (*OXA-ESBL*) o i carbapenemi (*OXA-carbapenemasi*) e possono quindi contribuire alla resistenza nei confronti di questi composti. Le OXA-ESBL sono relativamente rare, mentre tra le OXA-carbapenemasi gli enzimi di tipo OXA-48 si sono diffusi rapidamente in alcune regioni geografiche, dove hanno raggiunto un'elevata prevalenza tra i CPE⁽²⁰⁾.

LA DIAGNOSTICA DELLE INFEZIONI DA ENTEROBACTERALES

La diagnostica delle infezioni da *Enterobacterales* rappresenta un capitolo importante in batteriologia clinica, data la frequenza di questi patogeni batterici come causa di infezioni nosocomiali e comunitarie di varia natura e la possibile diversità dei loro profili di sensibilità agli antibiotici, che non risulta prevedibile semplicemente in base all'identificazione di specie.

È proprio nel caso delle infezioni da *Enterobacterales* che si possono osservare i vantaggi più importanti di un approccio basato sull'impiego delle nuove tecnologie diagnostiche rapide integrate con le tecnologie diagnostiche convenzionali in algoritmi diagnostico-terapeutici, costruiti secondo i moderni principi della **diagnostic stewardship** (intesa come l'impiego del giusto test per il giusto tipo di paziente, capace di fornire il più rapidamente possibile risultati clinici di rilevante impatto). Un simile approccio, infatti, fornisce un contributo sostanziale all'**antimicrobial stewardship** (scelta ottimale della terapia antibiotica, basata sulla corretta interpretazione

Impatto della
terapia empirica
appropriata
iniziale
sull'outcome

del dato microbiologico al giusto dosaggio, ottimizzando al massimo le caratteristiche farmacocinetiche/farmacodinamiche) e permette, allo stesso tempo, di contrastare il problema dell'antibiotico resistenza. La letteratura è univoca nell'affermare che una **terapia empirica iniziale** appropriata **impatta positivamente**



te sull'outcome di pazienti critici affetti da gravi infezioni nosocomiali da Gram-negativi MDR^(21,22). **Arrivare quanto prima alla conferma o meno dell'appropriatezza della terapia empirica è quindi elemento fondamentale.** In questo contesto, le tecnologie diagnostiche rapide in microbiologia (indicate spesso con il termine **fast microbiology**) attualmente rispondono in buona misura a tale necessità. Con l'introduzione delle più moderne tecnologie di diagnostica rapida microbiologica è, infatti, possibile ottenere in tempi molto più rapidi le informazioni relative all'identificazione del patogeno e al suo profilo di sensibilità/resistenza agli antimicrobici. Compito di un clinico attento è quello di indirizzare alla **fast microbiology**, *in primis*, i pazienti che presentano un alto rischio di avere infezioni da patogeni MDR. Solo un'attenta stratificazione del rischio su base multiparametrica può rispondere a tale esigenza clinica, il tutto inserito all'interno di un modello di comunicazione collaborativa tra le figure specialistiche (clinico, microbiologo) coinvolte nel percorso di cura (Figura 3). La maggior parte

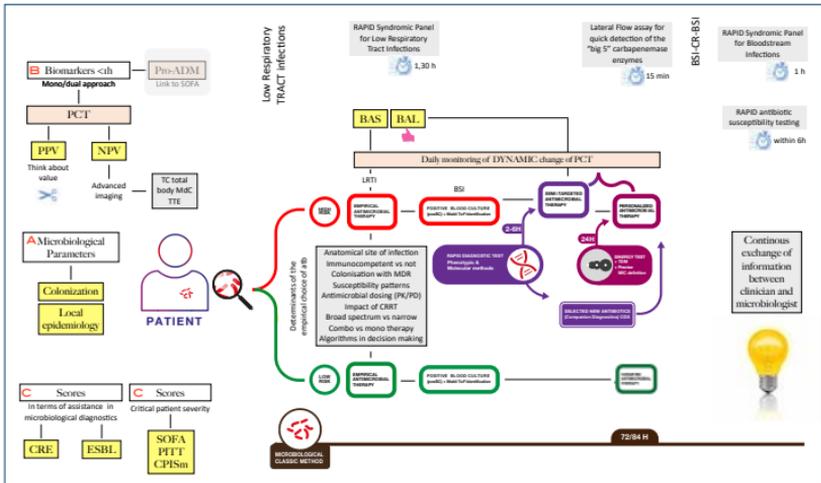


Figura 3. Modello di Bioscore: strumento a supporto del miglior percorso di cura diagnostico-terapeutico del paziente critico affetto da grave infezione da MDR capace di rispondere alla domanda “chi va in diagnostica rapida?”

delle nuove tecnologie diagnostiche rapide in microbiologia clinica si basa sulla ricerca di specifici marcatori molecolari dei principali patogeni batterici responsabili di un certo quadro sindromico e dei rispettivi determinanti di antibiotico resistenza più rilevanti da un punto di vista clinico, mediante sistemi ad elevata automazione che richiedono un impegno ridotto di personale tecnico e restituiscono i risultati in tempi molto brevi. Tipici esempi di questi sistemi, basati su "pannelli sindromici", sono quelli che ricercano i principali patogeni responsabili di batteriemie e fungemie a partire da emocolture positive (Figura 4) e quelli che ricercano i principali patogeni responsabili di polmonite a partire da campioni prelevati dalle basse vie respiratorie (BAL, BAS, escreato) (Figura 5) in tempi di poco più di un'ora.

Esistono anche sistemi di diagnostica molecolare che partono direttamente dal sangue. In questi casi, tuttavia, i tempi di analisi sono più lunghi (4-5 ore), la numerosità dei patogeni e dei determinanti di resistenza ricercati è inferiore e i costi sono maggiori. Come già anticipato, le informazioni che la diagnostica molecolare può fornire sono utili non solo per l'identificazione rapida dei patogeni, ma anche per la rilevazione della presenza di alcuni determinanti di antibiotico resistenza particolarmente rilevanti ai fini dell'**antimicrobial stewardship** (nel caso delle *Enterobacterales*, ad esempio, i determinanti per carbapenemasi e per β -lattamasi a spettro esteso). La presenza/assenza di questi determinanti di resistenza consente di dedurre rapidamente un probabile fenotipo di resistenza/sensibilità ad alcuni antibiotici chiave per la terapia delle infezioni da *Enterobacterales* quali le cefalosporine a spettro espanso, i carbapenemi, le combinazioni con i nuovi inibitori delle β -lattamasi (BLIC) e il cefiderocol. Questo approccio, denominato anche antibiogramma molecolare, deve tuttavia tenere conto che **le informazioni restituite sono diverse da quelle dell'antibiogramma fenotipico convenzionale** (al quale le tecnologie molecolari per il momento non si sostituiscono) **e necessitano di un passaggio interpretativo da parte del clinico.**

Batteri Gram+	Batteri Gram-
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	Enterobacterales
Staphylococcus	- <i>Enterobacter cloacae</i> complex
- <i>Staphylococcus aureus</i>	- <i>Escherichia coli</i>
- <i>Staphylococcus epidermidis</i>	- <i>Klebsiella aerogenes</i>
- <i>Staphylococcus lugdunensis</i>	- <i>Klebsiella oxytoca</i>
Streptococcus	- <i>Klebsiella pneumonia</i> group
- <i>Streptococcus agalactiae</i>	- <i>Proteus</i>
- <i>Streptococcus pyogenes</i>	- <i>Salmonella</i>
- <i>Streptococcus pneumoniae</i>	- <i>Serratia marcescens</i>
	Haemophilus influenzae
	Neisseria meningitidis
	Pseudomonas aeruginosa
	Stenotrophomonas maltophilia
Lieviti	Geni di resistenza agli antibiotici
<i>Candida albicans</i>	Carbapenemasi
<i>Candida auris</i>	- IMP
<i>Candida glabrata</i>	- KPC Ciprofloxacina
<i>Candida krusei</i>	- OXA-48 like
<i>Candida parapsilosis</i>	- NDM
<i>Candida tropicalis</i>	- VIM
<i>Cryptococcus neoformans/</i> <i>gattii</i>	Resistenza alla colistina
	- <i>mcr-1</i>
	ESBL
	- CTX-M
	Resistenza alla meticillina
	- <i>mecA/C</i>
	- <i>mecA/C</i> e <i>MREJ</i> (MRSA)
	Resistenza alla vancomicina
	- <i>vanA/B</i>

Figura 4. BioFire® Blood Culture Identification 2 (BCID2) Panel, 43 target.

Batteri (valutazione semi quantitativa)	Geni di antibiotico resistenza
<p><i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Klebsiella aerogenes</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Klebsiella pneumonia group</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Proteus spp.</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i></p>	<p>ESBL - CTX-M</p> <p>Carbapenemasi - KPC - NDM - OXA-48 like - VIM - IMP</p> <p>Resistenza alla meticillina - <i>mecA/mecC</i> e MREJ</p>
Batteri atipici (valutazione qualitativa)	Virus
<p><i>Legionella pneumophila</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Chlamydia pneumoniae</i></p>	<p>Virus dell'influenza B Adenovirus Coronavirus Virus parainfluenzale Virus respiratorio sinciziale Rhinovirus/Enterovirus umano Metapneumovirus umano Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV)</p>

Figura 5. BioFire® *Pneumonia plus* (PNplus) Panel, 34 target.

Ad esempio, di fronte ad un risultato di un test molecolare da emocoltura positiva che riporta la presenza di *Klebsiella pneumoniae* e di un determinante di resistenza di tipo **CTX-M** e l'assenza dei principali determinanti per carbapenemasi (Figura 6), cosa si può ipotizzare?

- una probabile resistenza a cefalosporine di terza e quarta generazione;
- una probabile sensibilità ai carbapenemi;
- una probabile sensibilità ai BLIC basati sui nuovi inibitori, come ceftazidime/avibactam, meropenem/vaborbactam, imipenem/relebactam;
- una possibile sensibilità a BLIC basati sui vecchi inibitori come piperacillina/tazobactam e ceftolozano/tazobactam (Figura 7).

Antibiotico	MIC mg/l
Amoxicillina/A. Clav.	?
Piperacillina/ Tazobactam	?
Ceftriaxone	R
Ceftazidime	R
Cefepime	R
Imipenem	S
Meropenem	S
CZA/AVI	S
C/T	S
IMI/REL	S
MEM/VAB	S
FDC	S

Figura 7. *Klebsiella pneumoniae* CTX-M; a dx antibiogramma ipotetico sulla base del molecolare, a sx antibiogramma definitivo.

CTX-M	Rilevato
KPC	Non rilevato
VIM	Non rilevato
IMP	Non rilevato
NDM	Non rilevato
OXA-48	Non rilevato

Figura 6. *Klebsiella pneumoniae* CTX-M; antibiogramma molecolare.

Antibiotico	MIC mg/l
Amikacina	≤4 S
Amoxicillina/A. Clav.	32 R
Ceftazidime	>64 R
Cefotaxime	>64 R
Ciprofloxacina	1 R
Colistina	≤ 0,5 S
Ertapenem	≤ 0,5 S
Gentamicina	≤ 1 S
Meropenem	≤ 0,25 S
Piperacillina/ tazobactam	> 128 R
Trimetoprim/ avibactam	> 8/152 R
Ceftazidime/ avibactam	≤1 S
Ceftolozano/ tazobactam	1 S
Cefepime	> 16 R

Vediamo un altro esempio di anti-biogramma molecolare, che riporta la presenza di un determinante per carbapenemasi di tipo KPC in assenza di altri determinanti per carbapenemasi e di determinanti per ESBL di tipo CTX-M (Figura 8).

Di fronte ad un risultato di questo tipo, cosa si può ipotizzare?

ANTIBIOTICO	MIC mg/l
Amoxicillina/A. Clav.	R
Piperacillina/tazobactam	R
Ceftriaxone	R
Ceftazidime	R
Cefepime	R
Ertapenem	R
Imipenem	R
Meropenem	R
Fosfomicina	?
Amikacina	?
Gentamicina	?
Ciprofloxacina	?
Tigeciclina	?
Colistina	?
CZA/AVI	S
MEM/VAB	S
IMI/REL	S
FDC	S

CTX-M	Rilevato
KPC	Rilevato
VIM	Non rilevato
IMP	Non rilevato
NDM	Non rilevato
OXA-48	Non rilevato

Figura 8. *Klebsiella pneumoniae* KPC; anti-biogramma molecolare.

ANTIBIOTICO	MIC mg/l
Amoxicillina/A. Clav.	>64 R
Piperacillina/tazobactam	>128 R
Ceftriaxone	>4 R
Ceftazidime	>128 R
Cefepime	>32 R
Ertapenem	>1 R
Imipenem	>16 R
Meropenem	>64 R
Fosfomicina	>128 R
Amikacina	>16 R
Gentamicina	1 S
Ciprofloxacina	>4 R
Tigeciclina	0,5 S
Colistina	>8 R
CZA/AVI	4 S

Figura 9. *Klebsiella pneumoniae* KPC; a dx anti-biogramma ipotetico sulla base del molecolare, a sx anti-biogramma definitivo che arriverà 48 ore dopo.

- una probabile resistenza a tutti i vecchi β -lattamici, compresi i carbapenemi;
- una probabile sensibilità ai nuovi BLIC come ceftazidime/avibactam, meropenem/vaborbactam, imipenem/relebactam e a cefiderocol;
- nessuna informazione, invece, può essere dedotta riguardo la sensibilità o resistenza di altre molecole (Figura 9).

CTX	Non rilevato
KPC	Non rilevato
VIM	Non rilevato
IMP	Non rilevato
NDM	Rilevato
OXA-48	Non rilevato

Figura 10. *Klebsiella pneumoniae* NDM; antibiogramma molecolare.

Infine, vediamo un ulteriore esempio di antibiogramma molecolare, che riporta la presenza di un determinante di resistenza tipo NDM in una emocoltura positiva per *Klebsiella pneumoniae* (Figura 10).

Di fronte ad un risultato di questo tipo cosa si può ipotizzare?

- una probabile resistenza a tutti i β -lattamici, inclusi i carbapenemi e i nuovi BLIC (CZA, IMI/REL, MEM/VAB);
- una probabile sensibilità ad aztreonam in associazione con avibactam e a cefiderocol (Figura 11).

Di fatto, la ricerca dei vari tipi di determinanti per carbapenemasi mediante metodiche molecolari ha assunto una notevole utilità per orientare rapidamente l'impiego corretto dei nuovi farmaci anti-CPE, dato che il loro spettro differisce in maniera significativa (Figura 12).

TERAPIA DELLE INFEZIONI DA ENTEROBACTEREALES

Diverse metanalisi di numerosi studi retrospettivi hanno preso in considerazione il confronto tra piperacillina/tazobactam e carbapenemico nel trattamento, sia in empirica che in mirata, delle infezioni da *Enterobacterales* produttrici di ESBL, non mostrando in maniera significativa una superiorità del

ANTIBIOTICO	MIC mg/l
Amoxicillina/A. Clav.	R
Piperacillina/tazobactam	R
Ceftriaxone	R
Ceftazidime	R
Cefepime	R
Ertapenem	R
Imipenem	R
Meropenem	R
Fosfomicina	?
Amikacina	?
Gentamicina	?
Ciprofloxacina	?
Tigeciclina	?
Colistina	?
CZA/AVI	R
MEM/VAB	R
IMI/REL	R

ANTIBIOTICO	MIC mg/l
Amoxicillina/A. Clav.	>64 R
Piperacillina/tazobactam	>128 R
Ceftriaxone	>4 R
Ceftazidime	>128 R
Cefepime	>32 R
Ertapenem	>1 R
Imipenem	>16 R
Meropenem	>64 R
Fosfomicina	>128 R
Amikacina	>16 R
Gentamicina	>8 R
Ciprofloxacina	>4 R
Tigeciclina	0,5 S
Colistina	1 S
CZA/AVI	>8 R

Figura 11. *Klebsiella pneumoniae* NDM; a dx antibiogramma ipotetico sulla base del molecolare, a sx antibiogramma definitivo che arriverà 48 ore dopo.

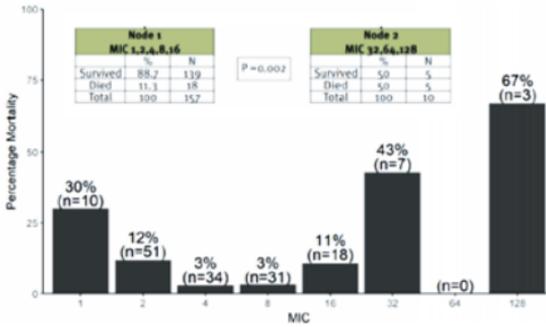
MECCANISMO	CZA	M/V	C/T	I/R	ATM/AVI	FEP/TANI	FEP/ZIDE	MEM/NACU	FDC
KPC	+	+	-	+	+	+	+	+	+
OXA-48	+	-	-	-	+	+	+	+	+
VIM	-	-	-	-	+	+	+	+	+
IMP	-	-	-	-	+	-	?	+	+
NDM	-	-	-	-	+	+	+	+/-	+

Figura 12. Spettro d'azione dei nuovi antibiotici anti-CPE.

carbapenemico sulla penicillina protetta⁽²³⁻²⁷⁾. Lo studio BICAR, addirittura, conferma tale dato anche all'interno di un *setting* clinico particolarmente critico come quello del paziente neutropenico: il trattamento con BLIC non era associato ad *outcome* peggiore rispetto a quello con carbapenemico nell'analisi multivariata o dopo *matching* in *propensity score*⁽²⁸⁾. Grande attenzione è stata posta da alcuni Autori al ruolo che avrebbe il valore puntuale della MIC di piperacillina/tazobactam sull'*outcome* della terapia con lo stesso antibiotico. Secondo Delgado-Valverde, la piperacillina-tazobactam (PTZ) in presenza di MIC reali molto basse, oppure vicino al suo *breakpoint* (16 mg/l) conserva in gran parte la sua efficacia, cosa che, invece, viene praticamente del tutto persa in caso di MIC più elevate⁽²⁹⁾. Da notare che recentemente il BP di EUCAST è stato abbassato a 8 mg/l⁽³⁰⁾. Questo ha portato all'uso di tale penicillina protetta nel trattamento di infezioni da Gram-negativi ESBL-produttori, in presenza di valori di MIC, in broddiluizione (metodica di riferimento secondo EUCAST), ≤ 8 mg/l. Quindi, nel trattare infezioni da ESBL in siti corporei che non presentano particolari problematiche di penetrabilità da parte della maggioranza dei β -lattamici (**cuti: complicated Urinary Tract Infection, cIAI: complicated Intra Abdominal Infection, BSI: Blood Stream Infection**) una MIC di PTZ ≤ 8 mg/l permette di utilizzare tale penicillina protetta con buona probabilità di successo, ovviamente ad alto dosaggio, 4,5 g x 4/die, e in infusione continua, il tutto preceduto da una adeguata *loading dose*. Diverse sono le evidenze a supporto dell'infusione continua di PTZ nel paziente critico⁽³¹⁾. Inoltre, una corretta *loading dose* di antimicrobici idrofili dovrebbe, nel paziente settico (V_d aumentato) essere di almeno 1,5 volte più grande della normale dose somministrata nel paziente stabile⁽³²⁾, quindi nel caso di PTZ 6,75 g di *loading dose* seguita subito dopo da 16 g in infusione continua. Tuttavia, a causa della possibile variabilità di efficacia di PTZ nei confronti di ceppi ESBL-produttori, soprattutto, in siti difficili come il polmone, ancora oggi il carbapenemico è considerato da molti il *gold standard* terapeutico in tale *setting* clinico. Lo studio MERINO⁽³³⁾, unico studio

randomizzato controllato, valutando l'effetto di piperacillina/tazobactam vs meropenem sulla mortalità a 30 giorni di pazienti affetti da BSI (*Blood Stream Infection*) da *E. coli* o *Klebsiella pneumoniae* resistenti al ceftriaxone, conferma la superiorità del carbapenemico (12,3% di mortalità a 30 gg nel gruppo piperacillina/tazobactam vs il solo 3,7% di quelli trattati con meropenem). Diverse comunque sono le criticità riscontrate in tale RCT, tali da rendere opportuna l'esecuzione di studi aggiuntivi (MERINO 2 e MERINO 3, attualmente in corso). Il secondo, RCT pragmatico, è molto interessante e molto probabilmente porrà la parola fine nella diatriba carbapenemico vs BLIC nel trattamento di infezioni da ESBL. Nel MERINO 3, infatti, il comparatore al meropenem non è più un vecchio BLIC, come PTZ, ma ceftolozano/tazobactam, opzione ottimale, proposta da molti, in regime di **carbapenem sparing**⁽³⁴⁾. Interessante notare che nel MERINO, comunque, il BLIC che ne esce sconfitto è PTZ non i nuovi BLIC, ceftolozano/tazobactam (C/T) e ceftazidime/avibactam (CZA). EUCAST, tuttavia, recentemente ha stratificato le MIC, in brodadiluzione, di PTZ di tutti i ceppi di *E.coli* e *Kbs-pn* dello studio MERINO confermando che la mortalità cambiava in maniera statisticamente significativa solo per MIC > 8 mg/l, dato questo che ha posto le basi per la modifica del BP della PTZ stessa e che supporta ulteriormente quanto detto sopra riguardo l'importanza di poter disporre di una MIC puntuale (Figura 13). **Ceftolozano/tazobactam (C/T)** sia per spettro di attività *in vitro*, sia per quanto evidenziato da studi clinici registrativi e non⁽³⁵⁻³⁸⁾, sembra possedere caratteristiche superiori a PTZ come nuovo BLIC da utilizzare, in prima scelta, in **carbapenem sparing** nel trattamento delle infezioni da ESBL-produttori, riservando così **ceftazidime/avibactam (CZA)**, estremamente potente nei confronti di tutti i ceppi ESBL-produttori (100% di sensibilità CZA vs 91,6% di C/T)⁽³⁹⁾, a casi particolari, come le infezioni da *Proteus* produttore di ESBL dove ceftolozano/tazobactam potrebbe perdere parte della sua efficacia, e a tutti i casi di infezione da *Enterobacterales* produttrici di carbapenemasi a serina, dove CZA rappresenta l'unica opzione terapeutica veramente efficace at-

Figure 1: 30-day mortality by reference broth microdilution MIC of isolates of *E. coli* and *K. pneumoniae* from the MERINO trial [Henderson et al., 2019]



MIC distribution and ECOFF

Piperacillin distributions

MIC	0.008	0.016	0.03	0.06	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	ECOFF
<i>E. coli</i>	0	0	0	12	30	67	507	6314	8421	1445	479	924	1454	1225	1250	2185	1593	8
<i>K. pneumoniae</i>	0	0	0	0	0	2	21	199	509	1567	1024	422	226	166	279	435	219	8
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	0	0	9	4	45	340	1095	3479	1446	884	331	237	199	245	192	16

Piperacillin-tazobactam distributions

MIC	0.008	0.016	0.03	0.06	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	ECOFF
<i>E. coli</i>	8	6	9	47	105	221	2978	16376	20910	5495	1905	1233	801	526	752	187	89	8
<i>K. pneumoniae</i>	2	0	3	11	24	46	444	2539	7785	5041	1802	1076	560	397	1280	336	209	8
<i>P. aeruginosa</i>	5	1	0	4	23	37	453	886	3147	10479	5692	3595	1879	1506	3135	863		16

Notes:

Wild types and ECOFFs for piperacillin-tazobactam reflect those of piperacillin alone, which has the greater capacity to detect strains without phenotypically-detectable acquired resistance mechanisms.

Yellow highlighting is used to denote the mode of the wild type

Figure 13. EUCAST Piperacillin-tazobactam Breakpoints for Enterobacterales⁽³⁰⁾.

tualmente in nostro possesso. Uno studio multicentrico retrospettivo italiano (CEFTABUSE II)⁽⁴⁰⁾, di recente pubblicazione, su 153 pazienti con infezione grave da *Enterobacterales* ESBL-produttrici (27,5% in *shock* settico) ha confermato che C/T potrebbe essere una valida opzione terapeutica in tale *setting* clinico non solo in empirica ma anche in mirata; altro messaggio importante che emerge dallo studio CEFTABUSE II è che i clinici dovrebbero essere a conoscenza del rischio maggiore di fallimento terapeutico in caso di prescrizione di dose standard di C/T in corso di CRRT in pazienti settici. Interessante notare che il successo clinico, nello studio CEFTABUSE II, si riscontrava nel 100% dei pazienti trattati in empirica con C/T, nell'83,8% di quelli in terapia mirata e nel 66,7% di quelli che utilizzavano C/T in **rescue therapy**. A supporto di C/T per il trattamento di infezioni gravi da *Enterobacterales* ESBL-produttrici

c'è anche lo studio ASPECT-NP, dove C/T si è rivelato sovrapponibile in termini di efficacia al meropenem nel trattamento di VAP da ceppi di *Klebsiella pneumoniae* ed *Escherichia coli* ESBL-produttori (67% vs 67% nel primo caso e 83% vs 86% nel secondo)⁽⁴¹⁾. Tra i nuovi BLIC di prossimo inserimento nella pratica clinica a potenziale uso in **carbapenem sparing** nel trattare infezioni gravi da *Enterobacterales* ESBL-produttrici, troviamo le associazioni tra nuovi inibitori delle β -lattamasi con cefepime (zidebactam, taniborbactam, enmetazobactam e lo stesso tazobactam)⁽⁴²⁾. Tra questi, **cefepime/enmetazobactam** e **cefepime/tazobactam** appaiono quelli a maggior potenzialità anti-ESBL in regime di **carbapenem sparing** riservando le altre due opzioni, principalmente, alle infezioni da produttori di carbapenemasi, come descriveremo più avanti. Cefepime, non possedendo attività anti-anaerobica, assume un ruolo di assoluto rilievo in regimi di **carbapenem sparing** proteggendo dal **collateral damage**⁽⁴³⁾ molto presente, invece, scegliendo come opzione il carbapenemico⁽⁴²⁾. Enmetazobactam è un nuovo inibitore delle ESBL; è un sulfone dell'acido penicillanico simile al tazobactam, ma potenziato in termini di maggior capacità penetrativa all'interno della cellula batterica e di potenza di azione. Inibisce, al pari del tazobactam, le CTX-M, le TEM, le SHV ed alcune altre β -lattamasi di classe A. Dosaggio proposto del cefepime/enmetazobactam: in corso attualmente *trials* clinici, 2,5 g q8h in infusione estesa di 2h. In un *paper* appena pubblicato, Lasko *et al.*, testando l'efficacia di cefepime/tazobactam ad alto dosaggio (WCK 4282) contro isolati di *Enterobacterales* produttori di β -lattamasi a serina, in un modello murino neutropenico di infezione polmonare, hanno riportato una riduzione di densità cellulare $> 1 \log_{10}$ su tutti i ceppi produttori di ESBL confermando, ulteriormente, il dato su di un potenziale utilizzo di tale nuovo BLIC in questo *setting* clinico⁽⁴⁴⁾. Un'altra interessante opzione in **carbapenem sparing**, nel trattamento di infezioni da patogeni ESBL-produttori è data dalla **temocillina**, derivato 6-alfa metossi della ticarcillina, non disponibile però in tutti i Paesi europei, stabile all'azione idrolizzante di molte β -lattamasi a serina della classe A (ESBL, KPC)

e della classe C (**AmpC**). La dose raccomandata della temocillina è 2g ogni 8 ore. Tra i non β -lattamici nuove opzioni terapeutiche per trattare infezioni da ESBL sono plazomicina, aminoglicoside semi-sintetico di nuova generazione, ed eravaciclina, fluorociclina sintetica. **Plazomicina** è attiva verso ceppi di *Enterobacterales* MDR (ESBL, AmpC e carbapenemasi produttrici, incluse le M β Ls)⁽⁴⁵⁾. Plazomicina, inoltre, possiede un'ottima penetrazione polmonare; questo aspetto potrebbe, in un prossimo futuro, garantirle il ruolo di *partner* ideale in empirica o in mirata in regimi terapeutici di quadri sindromici gravi come la VAP: di fatto plazomicina potrebbe diventare il *partner* ideale dei nuovi BLIC (C/T, CZA)⁽⁴⁶⁾. Attualmente le indicazioni di plazomicina a 1 mg/kg due volte al giorno sono solo per le CIAI, ma è facile pensare che per le sue proprietà sopra esposte a breve tali indicazioni saranno estese anche alle infezioni delle basse vie aeree⁽⁴⁶⁾. Eravaciclina possiede diversi vantaggi rispetto alla tigeciclina, un'attività *in vitro* più potente sia verso i cocchi Gram-positivi che verso i bacilli Gram-negativi (da 2 a 8 volte maggiore) e una capacità di raggiungere concentrazioni nell'ELF maggiori di 6 volte rispetto a quelle plasmatiche e dentro i macrofagi alveolari addirittura maggiori di 50 volte quelle plasmatiche⁽⁴⁷⁾. La sua attività spazia da MRSA, VRE a *Enterobacterales* (ESBL, KPC e OXA) oltre che ad ***Acinetobacter baumannii*** MDR (vs quest'ultimo quattro volte più potente di tigeciclina). Diverse considerazioni merita l'approccio terapeutico delle infezioni da *Enterobacterales* produttrici di β -lattamasi di tipo AmpC. Si tratta di enzimi codificati da geni cromosomici inducibili residenti in alcune specie di *Enterobacterales* (**ESCPM group**, acronimo di *Enterobacter cloacae complex*, *E. aerogenes*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Providencia stuartii*, e *Morganella morganii*), che sono responsabili di circa il 15-20% della resistenza alle cefalosporine di terza generazione⁽⁴⁸⁾. Le AmpC sono resistenti a tutti gli inibitori delle β -lattamasi di vecchia generazione e alle cefamicine; pertanto, **i ceppi produttori sono resistenti alla cefoxitina e non presentano sinergia con acido clavulanico a differenza di quelli produttori di ESBL.**

Distinguere un ceppo produttore di AmpC da uno produttore di ESBL è molto importante clinicamente perché l'approccio terapeutico potrebbe essere radicalmente diverso. La biologia molecolare, in questo caso, ci aiuta poco in quanto i test dedicati sono solo utilizzati essenzialmente per ricerca, mentre il risultato dell'antibiogramma può permettere di discernere tra AmpC e ESBL (Figura 14). Le cefalosporine di terza generazione sono substrati di AmpC ma non sono induttori e generalmente mantengono un'attività *in vitro* nei confronti dei ceppi che producono AmpC in modo inducibile. Tuttavia, in corso di terapia con questi farmaci, possono essere selezionati facilmente mutanti resistenti che producono l'enzima in modo costitutivo, e per questo motivo **l'uso delle cefalosporine di terza generazione nei confronti delle specie produttrici di AmpC inducibile è sconsigliato, anche se il ceppo *in vitro* appare sensibile, e anche PTZ appare una opzione debole in questo setting** (Figura 15 - antibiogramma AmpC).

Enterobacter cloacae complex, all'interno dell'**ESCPM group**, è il gruppo in cui più facilmente si selezionano mutanti depressi. Pertanto, le cefalosporine di terza generazione andrebbero sempre evitate nel trattare infezioni ad esso correlate e sarebbe buona pratica, da parte del laboratorio di microbiologia, oscurare tali molecole nei test di suscettibilità, ad eccezione delle infezioni urinarie non complicate⁽⁴⁹⁾. Le altre specie appartenenti all'**ESCPM group** possiedono

ENZIMA	CZA	CTX	CRO	CPD	FOX	FEP	TZP	IMI MEM	CLA/ CZA*
ESBL	V	V	V	R	S	V	V	S	+
AmpC**	R	R	R	R	R	S	R	S	-
CTX-M	V	R	R	R	S	V	V	S	+/-

CZA: ceftazidime, **CTX:** cefotaxime, **CRO:** ceftriaxone, **CPD:** cefpodoxime, **FOX:** cefoxitina, **FEP:** ceftepime, **ATM:** aztreonam, **TZP:** piperacillina/tazobactam, **IMI:** imipenem, **MEM:** meropenem, **CLA/ CZA:** sinergismo clavulanato/ceftazidime, **V:** variabile S/R.

*sinergia, non necessariamente sensibilità, **profilo di ceppo depresso non wild-type.

Figura 14. Fenotipi di resistenza di ESBL, AmpC e CTX-M in Enterobacterales.

no una minore capacità di selezionare mutanti depressi. In questi casi, secondo alcuni Autori, ci si potrebbe affidare, meglio però in infezioni non gravi, alle MIC riportate nei test di suscettibilità per ogni singola molecola, a patto che si utilizzi un dosaggio elevato in infusione continua e che si ottenga una buona *source control*, il tutto ovviamente sempre sotto stretto monitoraggio⁽⁴⁹⁾. Il cefepime, cefalosporina di quarta generazione, a differenza delle altre cefalosporine risente molto meno dell'azione idrolizzante dell'AmpC, rappresentando quindi un'ottima alternativa nel trattamento di queste infezioni.

Più recentemente, enzimi di tipo AmpC codificati da plasmidi trasferibili sono emersi anche in *Proteus mirabilis*, *E. coli*, *K. pneumoniae* e *Salmonella*⁽⁵⁰⁾. La resistenza di tipo AmpC mediata da plasmidi è in genere espressa in forma costitutiva e l'interpretazione del *pattern* di sensibilità è spesso facile. Infatti, in questi casi la MIC del cefepime resta più bassa e spesso nel *range* di sensibilità (≤ 1 mg/l) rispetto alle altre cefalosporine. Nei confronti di infezioni da patogeni AmpC-produttori, i BLIC basati sui nuovi inibitori delle β -lattamasi (avibactam e vaborbactam) hanno attività, rappresentando quindi una valida alternativa ai carbapenemi e ai casi dove anche il cefepime fallisce. Lee *et al.*, a tal proposito, analizzando in modo retrospettivo oltre 300 casi di BSI da *Enterobacter cloacae* hanno trovato che **il cefepime nei ceppi sensibili ad esso è del tutto sovrapponibile in termini di efficacia al carbapenemico** ma non quando la sensibilità diventa dose-dipendente (SDD): mortalità a 30 gg 26,4% del gruppo cefepime vs 22,2% del gruppo carbape-

ANTIBIOTICO	MIC mg/l
Amikacina	S \leq 2
Piperacillina/tazobactam	S \leq 4
Cefepime	S \leq 1
Cefotaxime	S \leq 1
Ceftriaxone	S \leq 1
Ceftazidime	S \leq 1
Ciprofloxacina	S \leq 0,25
Imipenem	S \leq 0,25
Meropenem	S \leq 0,25

Figura 15. BAL: *Enterobacter cloacae* complex > 100 mila UFC/ml.

Cefepime nei ceppi sensibili è sovrapponibile al carbapenemico per efficacia

nemico ($p=0,7$)⁽⁵¹⁾. Harris *et al.*, in una metanalisi su sette studi osservazionali pubblicati, non hanno rilevato differenze statisticamente significative in termini di mortalità tra i BLIC, essenzialmente piperacillina/tazobactam, e il cefepime verso il carbapenemico sia in empirica che in mirata (OR 0,87; IC 95%: 0,32-2,36 e OR 0,48; IC 95%: 0,14-

1,60, rispettivamente)⁽⁵²⁾. I dati, comunque, a supporto dell'uso di cefepime rispetto a piperacillina/tazobactam, anche se derivanti solo da studi osservazionali, sono attualmente superiori⁽⁴⁹⁾. Tan *et al.*, in un recentissimo studio retrospettivo di coorte condotto su 241 pazienti affetti da batteriemia da **ESCPM group**, confermando ulteriormente il dato sopra riportato, non hanno rilevato differenze statisticamente significative in termini di mortalità a 30 giorni nel gruppo trattato in empirica con PTZ (aOR 0,29; IC 95%: 0,07-1,27) e in definitiva con cefepime (aOR 0,65; IC 95%: 0,12-3,55) rispetto al gruppo trattato con meropenem⁽⁵³⁾.

Attenzione, comunque, ad utilizzare cefepime su ceppi a ridotta sensibilità; in questo caso il carbapenemico è indubbiamente da preferire al primo. Tra i nuovi BLIC, CZA possiede una più ampia efficacia

Carbapenemico migliore di cefepime su ceppi a ridotta sensibilità

nei confronti di *Enterobacterales* produttrici di AmpC rispetto a C/T. Isler *et al.*, in una recente metanalisi, condotta sui cinque *trials* randomizzati e controllati pubblicati in letteratura che hanno confrontato ceftazidime/avibactam vs carbapenemico nel trattamento di infezioni da *Enterobacterales* ESBL e AmpC-produttrici, hanno riportato, nel

braccio CZA (246 pazienti), in ESBL una risposta clinica al TOC (*test of cure*) pari al 91% vs l'89% di quella riscontrata nel braccio carbapenemico (271 pazienti) – *risk ratio* 1,02; IC 95%: 0,97-1,08; $p=0,45$; $I^2=0\%$. In AmpC, invece, la risposta clinica registrata al TOC nel braccio CZA era dell'80% (32/40) vs l'88% di quella del braccio carbapenemico (37/42) – *risk ratio* 0,91; IC 95%: 0,76-1,10; $p=0,35$; $I^2=0\%$. Nessun dato disponibile sulla risposta microbiologica e sulla mortalità riferito al braccio CZA vs carbapenemico. Gli Autori concludono che CZA può rappresentare una valida opzione nel trattare infezioni da *Enterobacterales* ESBL-produttrici, ma nessuna raccomandazione definitiva può essere attribuita riguardo

il ruolo di CZA in AmpC, essendo i dati in nostro possesso, almeno al momento, troppo limitati⁽⁵⁴⁾.

Avibactam inibisce attivamente le β -lattamasi di classe C grazie all'interazione diretta del residuo aminoacidico Asn³⁴⁶ della cefalosporinasi AmpC con il sulfonato di avibactam stesso. La sostituzione aminoacidica, in *Citrobacter freundii*, di Asn³⁴⁶ con N³⁴⁶Y è stata correlata all'acquisizione di resistenza di AmpC nei confronti di CZA; successivamente tale meccanismo di resistenza, dato dall'introduzione di N³⁴⁶Y al posto di Asn³⁴⁶, via plasmidica, è stato evidenziato anche in ceppi di *Enterobacter cloacae* AmpC e di *Pseudomonas*, riducendo tantissimo la capacità inibitoria verso tali ceppi da parte di CZA. Compain *et al.*, pertanto, suggeriscono che la perdita di interazione con l'idrogeno tra Asn³⁴⁶ e avibactam potrebbe spiegare il meccanismo di resistenza al CZA in ceppi batterici produttori di AmpC⁽⁵⁵⁾. Questi particolari mutanti, indicati anche con il termine **extended-spectrum AmpCs (ESAC)** sono stati descritti a seguito di esposizione più o meno prolungata a cefepime,

ESAC

verso il quale, inoltre, incrementerebbero la loro attività idrolitica, diventando pertanto resistenti anche alle cefalosporine di quarta generazione. È interessante notare che tali varianti acquisiscono anche, come sopra riportato, resistenza ad avibactam e ridotta suscettibilità anche a cefiderocol, di prossima introduzione nella pratica clinica^(56,57). L'approccio terapeutico delle infezioni da *Enterobacterales* resistenti ai carbapenemi (CRE) ha subito un'importante evoluzione negli ultimi anni, a seguito dell'introduzione nella pratica clinica di nuovi antibiotici con elevata efficacia nei confronti di questi patogeni. Come già descritto in precedenza, nelle *Enterobacterales* (in rapida diffusione nell'ultima decade, specie in *Klebsiella pneumoniae*) può essere mediata da diversi meccanismi: fenomeni di riduzione della permeabilità di membrana esterna (per alterazione dei canali porinici e/o *over-expression* di pompe di efflusso) in associazione o meno alla iperproduzione di ESBL o β -lattamasi di tipo AmpC, oppure produzione di carbapenemasi, enzimi capaci di idrolizzare i carbapenemi in modo alquanto efficace. Diverse sono le carbapenemasi che circolano in ambito clinico

nelle *Enterobacterales*: carbapenemasi a serina di classe A (ad esempio, KPC con tutte le sue varianti e le meno comuni IMI, SME, FRI e GES), carbapenemasi sempre a serina di classe D (OXA-48 *like*) e le metallo- β -lattamasi (M β L) VIM, NDM e le meno comuni IMP, GIM e KHM. **La produzione di carbapenemasi è di gran lunga il meccanismo di resistenza più frequente e rilevante dal punto di vista clinico ed epidemiologico.** La produzione di una carbapenemasi deve essere sospettata tutte le volte che troviamo una MIC per il meropenem > 0,125 mg/l (pur essendo il *breakpoint* clinico di EUCAST più elevato) e confermata mediante l'impiego di test fenotipici o genotipici. In passato, l'identificazione del tipo di carbapenemasi aveva, soprattutto, un interesse epidemiologico. Attualmente, invece, ha acquisito una notevole importanza anche dal punto di vista clinico, data la disponibilità dei nuovi farmaci anti-CPE, che presentano, però, attività differenziata nei confronti dei ceppi produttori di vari tipi di CPE. La superiorità di ceftazidime/avibactam (CZA) rispetto a qualunque altro dei vecchi regimi terapeutici nel trattare infezioni da KPC-kp è stata dimostrata in diversi studi a tal punto che, attualmente, tale nuovo BLIC rappresenta il **backbone terapeutico** di tali infezioni soppiantando del tutto i precedenti regimi a base di colistina⁽⁵⁸⁾. Shields *et al.*, in uno studio prospettico condotto su pazienti con BSI da KPC-kp hanno dimostrato che CZA era superiore in termini di efficacia, mortalità e cura clinica a 30 gg, rispetto a qualunque altro regime associativo utilizzato⁽⁵⁹⁾. Anche i dati italiani sull'utilizzo di CZA in terapia compassionevole vs la **best available therapy** disponibile hanno confermato che la mortalità a 30 gg dei 104 pazienti affetti da BSI da KPC-kp era significativamente più bassa all'interno del gruppo CZA rispetto al comparatore (36,5% vs 55,7%; p=0,005). In tale casistica, il CZA nel 78% dei casi veniva utilizzato in regimi di **combo therapy** (20% dei casi con carbapenemico)⁽⁶⁰⁾. Da una metanalisi emerge il dato che CZA in monoterapia, in infezioni da CRE, presenta un'efficacia simile rispetto a quando viene utilizzato in regimi di **combo therapy**: nessuna differenza statisticamente significativa in termini di mortalità, né di eradicazione microbiologica⁽⁶¹⁾.

Karaiskos *et al.*, in uno studio multicentrico prospettico osservazionale di recente pubblicazione, condotto su 140 KPC e 7 OXA-48 trattati, in **targeted therapy**, nel 46,3% dei casi con CZA in monoterapia e nel 53,7% dei casi in **combo therapy** con almeno un'altra molecola attiva, hanno rilevato una mortalità a 28 giorni, nel gruppo CZA in monoterapia, del 18,3% vs il 40,8% di quella in **combo therapy** con altri agenti ($p=0,005$)⁽⁶²⁾. Tuttavia, diverse sono le segnalazioni riportate in letteratura circa la potenziale pericolosità di utilizzare CZA in monoterapia. La monoterapia con CZA, infatti, è stata correlata a selezione di diversi ceppi resistenti, alcuni con deficit di porine (mutazioni in OmpK36) o **over-expression** di pompe di efflusso, altri con mutazioni a carico dell'enzima KPC, che spesso si associano ad un'alterazione delle caratteristiche funzionali dell'enzima (ad esempio, D179Y e 165EL166: perdita di attività su carbapenemi, piperacillina/tazobactam e aztreonam; T243M: perdita di attività su carbapenemi e piperacillina/tazobactam; V240G: ridotta attività su meropenem)^(16-18,63).

Bianco *et al.*, in un *paper* di recente pubblicazione, hanno addirittura osservato la selezione *in vivo* di due sottopopolazioni di **Klebsiella pneumoniae** con variante KPC-2 conferente MIC notevolmente incrementate a CZA dopo somministrazione prolungata dello stesso: KPC-14, variante di bla_{KPC-2} ospita una delezione in posizione **D242-GT-243** (bla_{KPC-14}) e KPC-33, variante di bla_{KPC-2} ospita la mutazione **D179Y** (bla_{KPC-33}) che esibisce perdita di attività carbapenemasi, come riportato sopra, e incrementata affinità al ceftazidime, che impediscono ad avibactam di legarsi e inibire l'enzima⁽⁶⁴⁾. Tutto questo fa sì che, attualmente, nella pratica clinica, al fine di salvaguardarne la sua efficacia, CZA venga spesso inserito in regimi di **combo therapy**, soprattutto in infezioni a cinetica meno permissiva come quelle delle basse vie aeree. Tra i *partner* più utilizzati in associazione a CZA troviamo il meropenem, che spesso riacquista attività nei confronti dei mutanti KPC associati a resistenza a CZA (ad esempio, D179Y)⁽¹⁷⁾, e la fosfomicina (oltre il 60% dei ceppi di KPC-kp in Italia sono sensibili alla fosfomicina), farmaco concentrazione-di-

pendente con tempo-dipendenza, proprietà questa di PK/PD che giustifica, per un suo uso ottimale, un elevato dosaggio a intervalli molto ravvicinati oppure ancor meglio in infusione continua o prolungata (dosaggio consigliato nel paziente critico 24 g/die suddivisi in 6g ogni 6 ore) (Figura 16).

È proprio il *driver* PK legato alla tempo-dipendenza che riduce il rischio di indurre rapidamente resistenza alla fosfomicina stessa⁽⁶⁵⁾.

Altra opzione, meno utilizzata, in **combo therapy** è l'associazione di CZA ad un aminoglicoside come la gentamicina. Shields *et al.* hanno osservato, *in vitro*, un effetto antagonista tra colistina e CZA nel 46% dei ceppi di KPC-

kp testati, il che controindicherebbe quindi tale associazione⁽⁶⁶⁾.

Nel prossimo futuro, con l'arrivo dei **nuovi BLIC** (meropenem/vaborbactam ed imipenem/relebactam), avremo la possibilità di **ampliare** notevolmente il nostro **armamentario terapeutico** vs le infezioni da KPC-kp. **Meropenem/vaborbactam**, a causa del recupero di attività del meropenem da parte del vaborbactam, nuovo inibitore delle β-lattamasi non β-lattamico derivato dall'acido boronico, attualmente è risultata essere l'associazione più potente in termini di attività verso ceppi KPC-kp tra tutte quelle testate⁽⁶⁷⁾. Inoltre, sembra possedere una minore propensione ad indurre resistenza in corso di terapia rispetto a ceftazidime/avibactam, soprattutto in isolati sensibili con MIC ≤ 4/8 mg/l⁽⁶⁸⁾.

ANTIBIOTICO	MIC mg/l
Amoxicillina/A. Clav.	>64 R
Piperacillina/tazobactam	>256 R
Ceftazidime	>64 R
Ertapenem	>2 R
Imipenem	0,5 S
Meropenem	2 S
CZA/AVI	>16 R
Amikacina	32 R
Gentamicina	1 S
Tigeciclina	0,5 S
Colistina	0,5 S
Ciprofloxacina	>2 R

Figura 16. Antibiogramma di *Klebsiella pneumoniae* D179Y (bla_{KPC-33}).

Nuovi BLIC migliorano armamentario terapeutico

Tuttavia, sono già state descritte mutazioni a carico di due principali porine di membrana, **OmpK35** e **OmpK36**, capaci di indurre resistenza anche a meropenem/vaborbactam (MEM/VAB)⁽⁶⁹⁾. Più in dettaglio, Dulyayangkul *et al.* riportano che alla base di tutto c'è una mutazione a carico di *kvrA*, gene repressore trascrizionale, che determina una *down-regulation* dei canali porinici **OmpK35** e **OmpK36** e una ridotta suscettibilità al meropenem/vaborbactam in ceppi di *Klebsiella pneumoniae* KPC-produttori⁽⁷⁰⁾. Tra le due porine sembra che un ruolo principale nel passaggio di meropenem/vaborbactam attraverso la parete sia a carico di **OmpK36**. Di recente acquisizione è anche il dato che l'utilizzo sequenziale o combinato di CZA e MEM/VAB potrebbe indurre, attraverso quattro *step*, mutazione a carico di **OmpK36**, mutazione *ramR*, acquisizione di plasmide OXA-232 e di KPC-3-D179Y, una resistenza ad entrambi questi nuovi BLIC; da ciò appare evidente che tale opzione terapeutica combinata o sequenziale sia, attualmente, da non perseguire. Il plasmide (pOXA-232) codifica per una carbapenemasi OXA-232 che a sua volta induce una mutazione *ramR* causando così una *over production* di AcrAB-TolC (importante pompa di efflusso di membrana) e una riduzione della porina **OmpK35**⁽⁷¹⁾.

Imipenem/relebactam (IMI/REL), altro carbapenemico protetto, potente inibitore delle KPC-2-kp⁽⁷²⁾, presenta aspetti peculiari come maggior stabilità di legame con l'enzima *target* rispetto al CZA e, soprattutto, come del resto anche meropenem/vaborbactam, una significativa maggior penetrabilità nell'ELF (**epithelial lining fluid**) sempre rispetto al CZA: CZA 20/25% - meropenem/vaborbactam 65/79% - imipenem/relebactam 55% circa⁽⁷³⁾. Anche per IMI/REL il tallone di Achille, in termini di acquisizione di resistenza, è rappresentato da alterazioni di permeabilità della membrana batterica per mutazioni, principalmente, di **OmpK36**.

Dosaggio MEM/VAB 2g q8h in extended-infusion (3h), IMI/REL 1,25g q6h in 30min. Attualmente disponiamo anche di un'altra valida alternativa terapeutica nel trattare infezioni complesse da CPE.

Cefiderocol è il primo antibiotico sideroforo della sua classe che, sfruttando una **strategia tipo Trojan horse**, penetra dentro la cellula batterica attra-

**Cefiderocol:
valida alternativa
terapeutica
con strategia
Trojan horse**

verso i trasportatori del ferro: il batterio avido di ferro, di fatto, viene ingannato dal ferro complessato al gruppo catecolico di cefiderocol permettendone il suo ingresso (Figura 17). Il trasporto dei siderofori- Fe^{3+} (ad esempio, cefiderocol- Fe^{3+}) attraverso la membrana esterna richiede energia e tale energia deriva dal complesso proteico *TonB*, *ExbB* e *ExbD*, vero e proprio trasduttore di energia inserito nella membrana interna della cellula batterica.

TonB interagisce con il trasportatore di membrana esterna (**TBDT=TonB-dependent transporters**) portando il cefiderocol complessato al ferro dentro lo spazio periplasmatico sito tra la membrana esterna e la membrana interna. Successivamente, tramite un trasportatore di membrana denominato ABC, il sideroforo- Fe^{3+} entra nel citoplasma; una volta giunto nel citoplasma, lo ione ferrico si stacca da cefiderocol e viene rapidamente ridotto a ione ferroso (Fe^{2+}). Solo il ferro Fe^{2+} viene immagazzinato e/o incorporato dentro gli enzimi necessari per il metabolismo cellulare⁽⁷⁴⁾. Cefiderocol, a sua volta, si lega rapidamente e preferenzialmente alla PBP3 nei Gram-negativi (GN), eludendo in pratica quasi tutti i meccanismi di resistenza descritti so-

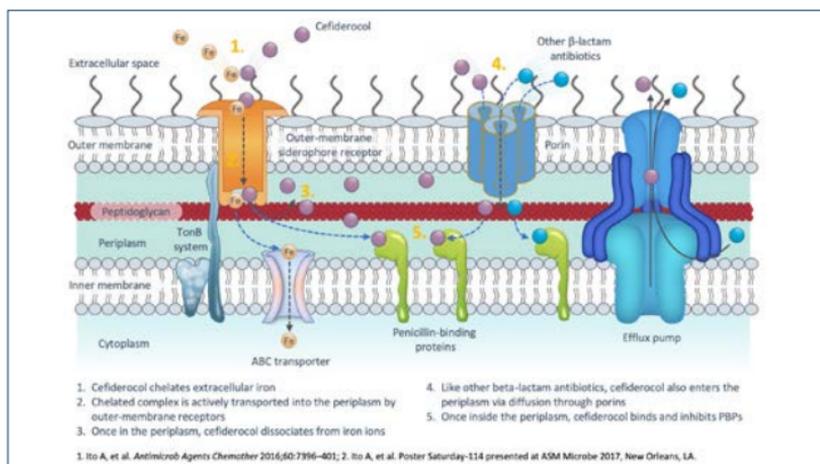


Figura 17. Meccanismo di azione di cefiderocol.

pra; è, infatti, molto attivo contro la maggior parte degli isolati di GN (*Enterobacterales* e non fermentanti) produttori di β -lattamasi di classe A, B, C e D. L'attività di cefiderocol, testata su 1.272 ceppi di *Enterobacterales*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* Carba-R dello studio SIDERO-WT-2014, ha evidenziato un'ottima performance del farmaco verso ceppi produttori di M β LS (MIC \leq 4 μ g/ml nel 97,7% degli isolati); in dettaglio la distribuzione di sensibilità interessa il 100% dei ceppi IMP-produttori (range MIC 1-2 μ g/ml), OXA-58-produttori (MIC₉₀ 1 μ g/ml), KPC-produttori (MIC₉₀ 1 μ g/ml), KPC-produttori (MIC₉₀ 2 μ g/ml), VIM-produttori (MIC₉₀ 2 μ g/ml), OXA-48-like-produttori (MIC₉₀ 1 μ g/ml), il 97,2% di quelli OXA-23-produttori (MIC₉₀ 1 μ g/ml), il 95,2% di quelli OXA-24-produttori (MIC₉₀ 1 μ g/ml), il 91,7% (MIC₉₀ 1 μ g/ml) di quelli GES-produttori (MIC₉₀ 4 μ g/ml) e **solo il 64,3%** in quelli NDM-produttori (MIC₉₀ 8 μ g/ml)⁽⁷⁵⁾. Cefiderocol, in KPC, mantiene la sua efficacia anche vs i ceppi resistenti a ceftazidime/avibactam⁽⁷⁶⁾ (Figura 18). Mushtaq *et al.*, valutando le MIC di cefiderocol, su terreno di coltura depleto di ferro, su 305 isolati di *Enterobacterales*, hanno trovato che a valori MIC di 2 e di 4 mg/l cefiderocol inibiva, rispettivamente, il 78,7 e il 92,1% dei ceppi in esame; la per-

ANTIBIOTICO	MIC mg/l
Amoxicillina/A. Clav.	>64 R
Piperacillina/tazobactam	>128 R
Cefotaxime	>64 R
Ceftazidime	>64 R
Cefepime	>64 R
Ertapenem	>32 R
Imipenem	>16 R
Meropenem	>32 R
Amikacina	>64 R
CZA/AVI	>8 R
MEM/VAB	>16 R
Gentamicina	>16 R
Levofloxacina	>8 R
Tigeciclina	0,5 S
Colistina	>16 R
Cefiderocol	0,5 S

Figura 18. BSI da *Klebsiella pneumoniae* KPC-iperespressa resistenza a CZA, MEM/VAB e sensibile solo a cefiderocol (cortesia dr. Tommaso Gianì).

centuale, fra i ceppi resistenti ai carbapenemi, dove cefiderocol si dimostrava efficace oscillava tra l'80 e il 100% con unica eccezione, ancora una volta confermata, per i ceppi produttori di NDM (41% di inibizione a 2 mg/l di MIC e 71% a 4 mg/l) e per quelli che esprimevano, in contemporanea, produzione di ESBL e perdita di porine (61,5% a 2 mg/l e 88,5% a 4 mg/l)⁽⁷⁷⁾. **Tra gli aspetti peculiari che caratterizzano la molecola troviamo la sua grande capacità inibitoria nei confronti di ceppi di Gram-negativi produttori di biofilm**, dato questo dimostrato principalmente in *Pseu-*



Cefiderocol:
capacità inibitoria
verso ceppi
Gram-negativi
MDR

domonas aeruginosa. Diverse, comunque, sono le evidenze in letteratura attestanti che il ferro è essenziale per la formazione di biofilm maturo anche in *Enterobacterales* appartenenti al genere *Serratia*, *Escherichia* e *Klebsiella*^(78,79). A tal proposito Pybus *et al.*, analizzando, *in vitro*, l'efficacia di cefiderocol vs i suoi princi-

pali *competitor* nell'inibire la formazione di biofilm in ceppi di Gram-negativi MDR molto ben caratterizzati, hanno trovato che le MIC₉₀ di cefiderocol erano consistentemente più basse se comparate a quelle degli altri antibiotici testati (ceftolozano/tazobactam, ceftazidime/avibactam, piperacillina/tazobactam, ceftazidime, tobramicina, imipenem, claritromicina). In *Pseudomonas*, cefiderocol esprimeva una netta superiorità nel ridurre la formazione di biofilm rispetto ai *comparator* (93%, $p < 0,0001$ vs 49-82%, dove 82% era per ceftolozano/tazobactam); interessante notare anche il dato su *Klebsiella pneumoniae*, *Stenotrophomonas maltophilia* e *Burkholderia cepacia* dove l'inibizione di cefiderocol sulla formazione di biofilm si attestava su valori oscillanti dall'83 al 91%. È proprio l'utilizzo da parte di cefiderocol dei sistemi **TonB-dependent** la chiave di volta per entrare dentro la cellula eludendo, come detto sopra, tutti i meccanismi di difesa del patogeno. Il **ruolo**

Cefiderocol:
potente azione
anti-biofilm

potente **di cefiderocol anti-biofilm** potrebbe essere spiegato dal fatto che la produzione di biofilm promuove essa stessa la sintesi di trasportatori di ferro; in pratica assistiamo ad una *up-regulation* del sistema dei trasportatori di ferro; in tale contesto, quindi,

per il suo peculiare meccanismo di azione, cefiderocol avrebbe la possibilità di esprimere al massimo tutte le sue potenzialità di *killing*⁽⁸⁰⁾. Cefiderocol è la prima molecola che in scheda tecnica riporta un dosaggio ottimizzato, in termini di PK/PD, includente sia la modalità in infusione estesa (**2g q8h in 3h di infusione**), a garanzia di un minor rischio di induzione di resistenza (sottoesposizione nell'intervallo tra le dosi), sia il dosaggio incrementato in presenza di **Augmented Renal Clearance** (ClCr \geq 120 ml/min) (**2g q6h in 3h di infusione**), fenomeno estremamente frequente nel paziente settico critico, sia il mantenimento dello stesso intervallo tra le dosi nel paziente nefropatico tranne le forme più gravi di compromissione renale (ClCr $<$ 15 ml/min) o pazienti in emodialisi intermittente (0,75g q12h)⁽⁸¹⁻⁸³⁾.

Kawaguchi *et al.*, in un modello di cinetica di popolazione, appena pubblicato, costruito su 3.427 concentrazioni plasmatiche di cefiderocol ottenuto da 91 soggetti privi di infezione e da 425 pazienti con polmonite, BSI/sepsi e cUTI, hanno dimostrato che la probabilità di raggiungere il *target* terapeutico (PTA) -100% del tempo sopra la MIC (fT $>$ MIC), ai dosaggi indicati, era $>90\%$ per MIC \leq 4 mg/l per tutti i siti di infezione coinvolti e per tutti i gruppi di compromissione della funzione renale, eccetto per BSI/sepsi con funzione renale normale (85%). Interessante, inoltre, appare il dato che sia la concentrazione plasmatica massima di cefiderocol (C_{max}) che l'AUC giornaliera allo *steady state*, in studi di fase 3, era del tutto simile nel gruppo albumina $<2,8$ o $\geq 2,8$ g/dl⁽⁸⁴⁾. **L'effetto dell'albumina, quindi, non è rilevante per l'esposizione di cefiderocol**, aspetto questo significativo e peculiare. Altro dato che emerge nello studio di Kawaguchi *et al.* è il **non rilevante effetto del sito di infezione sulla esposizione di cefiderocol né della ventilazione meccanica**, a differenza per esempio di ceftazidime dove è stato riscontrato, in pazienti ventilati in ICU, un volume di distribuzione ridotto circa del 50% rispetto ai non ventilati⁽⁸⁵⁾. **Cefiderocol**, al pari dei carbapenemi-protetti, **possiede una buona penetrazione nell'ELF (Epithelial lining fluid)**.

Cefiderocol:
buona
penetrazione
nell'ELF

Diverse sono le evidenze a tale supporto. Utilizzando una modellistica PK intrapolmonare su soggetti sani, Katsube *et al.*, recentemente, hanno dimostrato che l'esposizione raggiunta nell'ELF, utilizzando i dosaggi indicati in scheda tecnica, è del tutto adeguata anche in tutte le classi di compromissione renale considerate (100% $fT_{>MIC}$ per una $MIC \leq 4$ mg/l) ⁽⁸⁶⁾.

A differenza dei ceppi produttori di carbapenemasi a serina, quelli produttori di M β Ls non sono sensibili ai nuovi BLIC, perchè le M β Ls non sono inibite da avibactam, relebactam e vaborbactam. Per questi ceppi ⁽⁸⁷⁾, accanto a regimi terapeutici colistino-dipendenti (unica opzione possibile almeno fino a poco tempo fa), attualmente si è imposta l'associazione aztreonam + CZA.

 **Aztreonam** non è idrolizzato dalle M β Ls prodotte dai Gram-negativi, ma è rapidamente idrolizzato dalla maggior parte delle β -lattamasi di classe A e C che frequentemente albergano in tali ceppi: avibactam (somministrato come CZA) inibisce le ESBL e AmpC proteggendo aztreonam ⁽⁸⁸⁾. Tutto questo in attesa di **aztreonam/avibactam** in fase avanzata di studio. Ottimizzando al massimo il PK/PD sia di CZA sia di aztreonam (AZT), attualmente la miglior modalità di somministrazione si pensa che sia CZA 2,5g x 3 /die in infusione continua + AZT 8 g/die sempre in infusione continua ⁽⁸⁹⁾. Anche l'associazione MEM/VAB-aztreonam ha mostrato simile attività rispetto a CZA-aztreonam nei confronti di ceppi di M β Ls-CRE non OXA-produttori ⁽⁹⁰⁾. Niu *et al.*, analizzando 68 ceppi di *Kbs-pn* produttrice di M β L, hanno evidenziato, comparando aztreonam da solo ad aztreonam più 4 mg/l di avibactam, una riduzione di MIC su tutti gli isolati maggiore di 128 volte con MIC_{50} e MIC_{90} di 0,25 e 1 mg/l, rispettivamente. In tale studio, tuttavia, emergeva l'allarme di sviluppo di resistenza anche nei confronti di questo nuovo BLIC ancora prima della sua introduzione nella pratica clinica: un ceppo di *Kbs-pn* ST 101 NDM-1, OXA-48, CTX-M-15 e soprattutto CMY-16 presentava resistenza ad aztreonam/avibactam con MIC incrementate di 16 volte. Sequenziando il genoma, gli Autori si sono accorti che è proprio l'acquisizione di una sostituzione aminoacidica in CMY-16 (Tyr150Ser e Asn346His)

la responsabile di tale resistenza. L'armamentario terapeutico nei confronti delle infezioni da MβLs si sta ampliando notevolmente con l'introduzione di nuove molecole, prima tra tutte **cefiderocol (100% di copertura vs IMP/VIM produttori, 64% vs NDM)**. Cefepime e meropenem sono stati associati a nacubactam e zidebactam, nuovi diazabicloottani che oltre ad inibire le β-lattamasi a serina posseggono anche un'attività antibatterica intrinseca, inibendo la PBP2. In associazione con β-lattamici che riconoscono come *target* specifico la PBP3, ne potenziano il loro effetto agendo sinergicamente anche su PBP2. **Cefepime/zidebactam** e **cefepime** o **meropenem/nacubactam** coprono più del 75% dei ceppi MβLs-CRE⁽⁹¹⁾. Indubbiamente, però, il BLIC anti-MβLs più interessante, tra quelli in sviluppo, è **cefepime/taniborbactam (VNRX-5133)**. Taniborbactam, nuovo boronato biciclico, possiede un'attività inibitoria contro β-lattamasi di classe A, B, C e D di Ambler; a tale riguardo sfrutta il mimetismo del substrato, mentre con un distinto meccanismo inibisce, rispettivamente, le SβLs (β-lattamasi a serina) e le MβLs. Taniborbactam nei confronti delle SβLs è un inibitore covalente reversibile attraverso una lenta dissociazione e un prolungato tempo di contatto sul sito attivo, a differenza delle MβLs dove si comporta da inibitore competitivo⁽⁹²⁾. Taniborbactam inibisce la maggior parte delle MβLs B1 (VIM e NDM); debole, invece, è la sua azione nei confronti di ceppi IMP-produttori che comunque, ad oggi, rimangono ancora poco diffusi (in *Enterobacterales* - CRE - 0,4% vs 3,4% di tutti i ceppi MβLs-produttori)⁽⁹³⁾. Con i ceppi produttori di carbapenemasi OXA-48, **CZA in monoterapia**, invece, **rappresenta il gold standard terapeutico**. Infatti, in questo specifico *setting* clinico, non è ancora stata evidenziata emergenza di resistenza in corso di trattamento con solo CZA⁽⁹⁴⁾. Le β-lattamasi OXA-48 conferiscono alta resistenza alle penicilline e ai carbapenemi, anche se, però, vs questi ultimi l'effetto idrolizzante dell'enzima avviene più lentamente⁽⁹⁵⁾. I ceppi produttori di OXA-48, tuttavia, sempre più spesso esprimono anche altre β-lattamasi (MβLs e ESBLs)⁽⁹⁶⁾ (Figura 19).

Attualmente esistono diverse varianti fenotipiche correlate all'enzima OXA-48⁽²⁰⁾; alcune posseggono una maggiore spiccata attività carbapenemasi (OXA-162 e OXA-181), altre invece prediligono, principalmente, come substrato le oximino-cefalosporine, ceftazidime *in primis* (OXA- ESBL-like, come le OXA-163 e OXA-405).

L'attività carbapenemasi di OXA-48 è prevalentemente imipenemasi e vs ertapenem; infatti, quasi sempre, l'effetto su meropenem è più debole. Hrabak *et al.* attribuiscono proprio a questa debole attività idrolitica nei confronti dei carbapenemi una delle principali cause di non facile *detection* di tale meccanismo di resistenza⁽⁹⁷⁾. Le β -lattamasi OXA-48 non sono suscettibili ai vecchi inibitori delle β -lattamasi (clavulanato, sulbactam, tazobactam), con la sola eccezione dell'OXA-163. Avibactam, nuovo inibitore delle β -lattamasi a serina, appartenente alla famiglia dei diazabiccloottani (DBO), mantiene, invece, una spiccata attività vs OXA-48⁽⁹⁸⁾.

A conclusione del capitolo *Enterobacterales*, viene di seguito proposta una serie di algoritmi decisionali a guida microbiologica per il trattamento delle infezioni gravi del paziente critico da ESBL, KPC, M β L in linea con quanto trattato sopra (Figure 20-22).

ANTIBIOTICO	MIC mg/l
Amoxicillina/A. Clav.	>128 R
Piperacillina/tazobactam	>128 R
Cefotaxime	32 R
Ceftazidime	32 R
Cefepime	64 R
ESBL	+
Imipenem	2 S
Meropenem	1 S
Ertapenem	>32 R
Ciprofloxacina	>32 R
Amikacina	2 S
Gentamicina	1 S

Figura 19. *Klebsiella pneumoniae* da BAS OXA-48 e ESBL-produttrice.

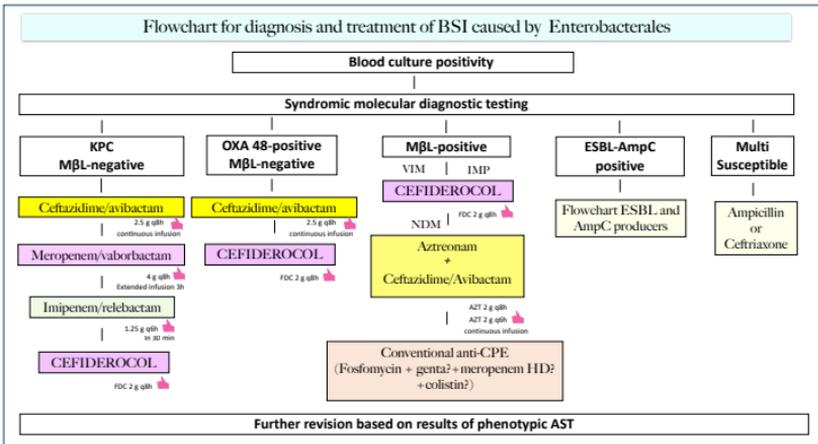


Figura 20. Algoritmo decisionale diagnostico/terapeutico per il trattamento delle infezioni del torrente circolatorio da Enterobacterales KPC, OXA-48 e MβL-produttrici.

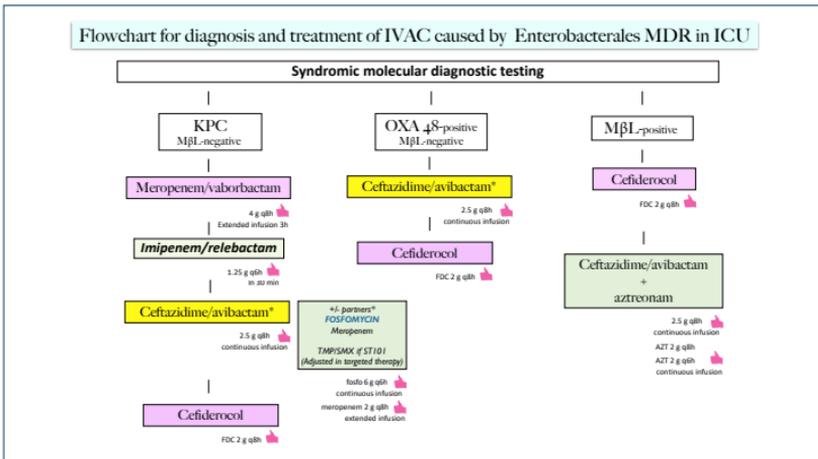


Figura 21. Algoritmo decisionale diagnostico/terapeutico per il trattamento delle polmoniti associate al ventilatore da Enterobacterales KPC, OXA-48 e MβL-produttrici.

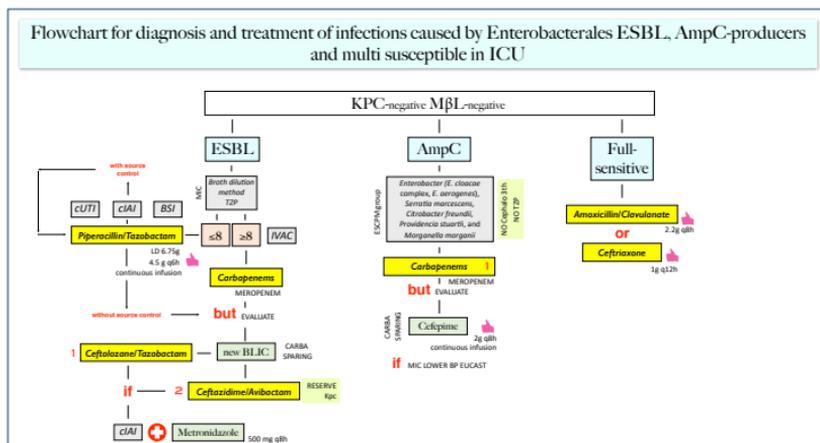


Figura 22. Algoritmo decisionale diagnostico/terapeutico per il trattamento delle infezioni da Enterobacterales ESBL, AmpC-produttrici e multisensibili.