



La diagnostica molecolare sindromica e convenzionale

come strumento clinico per la scelta
della terapia antibiotica nelle infezioni
da Gram-negativi MDR

Gian Maria Rossolini - Carlo Tascini - Bruno Viaggi



La diagnostica molecolare sindromica e convenzionale

come strumento clinico per la scelta
della terapia antibiotica nelle infezioni
da Gram-negativi MDR

A cura di

Gian Maria Rossolini

Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica
Università degli Studi di Firenze
SOD Microbiologia e Virologia
Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Firenze

Carlo Tascini

Clinica di Malattie Infettive,
Azienda Sanitaria Universitaria Friuli Centrale, Udine

Bruno Viaggi

Dipartimento di Anestesia
SOD Neuroanestesia e Rianimazione
Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Firenze



Con il contributo non condizionante di Shionogi e bioMérieux

Questa pubblicazione riflette i punti di vista e le esperienze
degli autori e non necessariamente quelle di Shionogi e bioMérieux

Ogni farmaco menzionato deve essere usato in accordo con il
Riassunto delle Caratteristiche del Prodotto fornito dall'Azienda produttrice.

Coordinamento editoriale: Ferdinando Maggio

Progetto grafico: Massimo Di Leo

Tutti i diritti riservati.

© Copyright 2022


www.medimay.it



Indice

<i>Enterobacterales</i>	5
Introduzione	5
Il potenziale patogeno delle <i>Enterobacterales</i>	6
La resistenza agli antibiotici nelle <i>Enterobacterales</i>	8
La diagnostica delle infezioni da <i>Enterobacterales</i>	12
Terapia delle infezioni da <i>Enterobacterales</i>	19
 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	 43
Trasmissione orizzontale di resistenza	54
Ceftolozano/tazobactam (C/T)	55
Ceftazidime/avibactam (CZA/AVI)	59
Cefiderocol (FDC)	60
Imipenem/relebactam (IMI/REL)	62
Aztreonam/avibactam (AZT/AVI)	67
 <i>Acinetobacter spp.</i>	 73
Biofilm	75
Meccanismi di resistenza	77
Terapia	79
 Bibliografia	 90

I prodotti imipenem/relebactam, eravaciclina, plazomicina, aztreonam/avibactam, cefepime/taniborbactam, meropenem/nacubactam, cefepime/enmetozabactam, cefepime/tazobactam, sulbactam/durlobactam, cefepime/zidebactam, temocillina al momento della pubblicazione di questo testo, novembre 2021, non sono disponibili in commercio in Italia.

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 ascessi 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 cefalosporine 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⁾.

AmpC

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 microorganismi, 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**



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>Enterococcus faecium</i> <i>Listeria monocytogenes</i> Staphylococcus - <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Staphylococcus epidermidis</i> - <i>Staphylococcus lugdunensis</i> Streptococcus - <i>Streptococcus agalactiae</i> - <i>Streptococcus pyogenes</i> - <i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex <i>Bacteroides fragilis</i> Enterobacterales - <i>Enterobacter cloacae</i> complex - <i>Escherichia coli</i> - <i>Klebsiella aerogenes</i> - <i>Klebsiella oxytoca</i> - <i>Klebsiella pneumoniae</i> group - <i>Proteus</i> - <i>Salmonella</i> - <i>Serratia marcescens</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
Lieviti	Geni di resistenza agli antibiotici
<i>Candida albicans</i> <i>Candida auris</i> <i>Candida glabrata</i> <i>Candida krusei</i> <i>Candida parapsilosis</i> <i>Candida tropicalis</i> <i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	Carbapenemasi - IMP - KPC Ciprofloxacina - OXA-48 like - NDM - VIM 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
<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex	ESBL - CTX-M
<i>Enterobacter cloacae</i>	
<i>Escherichia coli</i>	Carbapenemasi
<i>Haemophilus influenzae</i>	- KPC
<i>Klebsiella aerogenes</i>	- NDM
<i>Klebsiella oxytoca</i>	- OXA-48 like
<i>Klebsiella pneumonia group</i>	- VIM
<i>Moraxella catarrhalis</i>	- IMP
<i>Proteus spp.</i>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Resistenza alla meticillina
<i>Serratia marcescens</i>	- <i>mecA/mecC</i> e MREJ
<i>Staphylococcus aureus</i>	
<i>Streptococcus agalactiae</i>	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
Batteri atipici (valutazione qualitativa)	Virus
<i>Legionella pneumophila</i>	Virus dell'influenza B
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Adenovirus
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Coronavirus
	Virus parainfluenzale
	Virus respiratorio sinciziale
	Rhinovirus/Enterovirus umano
	Metapneumovirus umano
	Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV)

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 ENTEROBACTERALES

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.

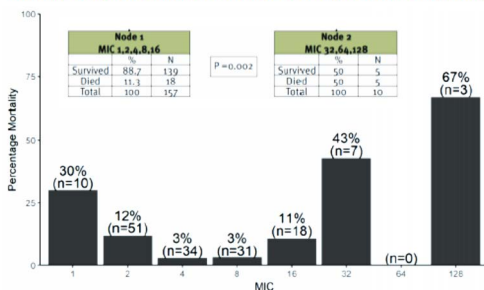
MECCANISMO	CZA	M/V	C/T	I/R	ATM/ AVI	FEP/ TANI	FEP/ ZIDE	MEM/ NACU	FDC
KPC	+	+	-	+	+	+	+	+	+
OXA-48	+	-	-	-	+	+	+	+	+
VIM	-	-	-	-	+	+	+	+	+
IMP	-	-	-	-	+	-	?	+	+
NDM	-	-	-	-	+	+	+	+/-	+

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 broddiluizione, 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	3429	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-produttori (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-produttori

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:** cefepime, **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 carbapene-

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

ESAC

descritti a seguito di esposizione più o meno prolungata a cefepime, 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 meroopenem > 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-

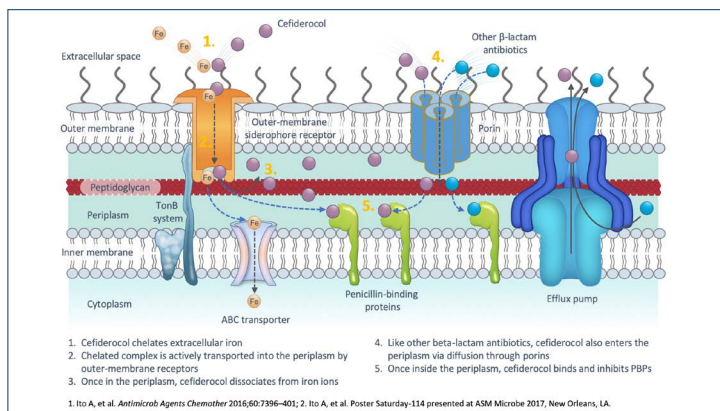


Figura 17. Meccanismo di azione di cefiderocol.

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 ≤ 4 μ g/ml nel 97,7% degli isolati); in dettaglio la distribuzione di sensibilità interessava 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 Giani).

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 in-trapolmonare 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 ($100\% \text{ fT} > \text{MIC}$ per una $\text{MIC} \leq 4 \text{ mg/l}$)⁽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 MIC₅₀ e MIC₉₀ 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 diazabicicliottani 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.

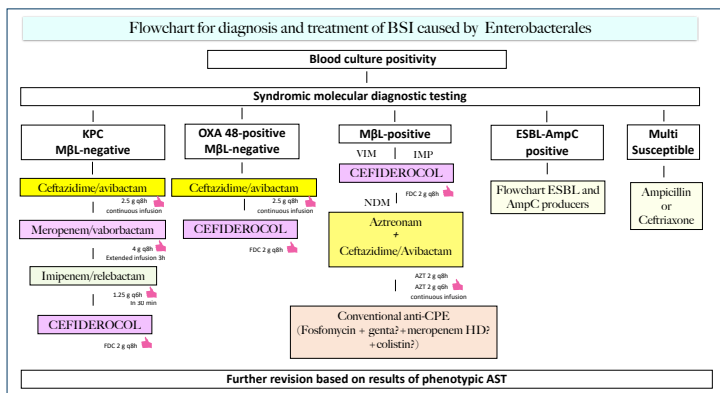


Figura 20. Algoritmo decisionale diagnostico/terapeutico per il trattamento delle infezioni del torrente circolatorio da Enterobacterales KPC, OXA-48 e MβL-produttori.

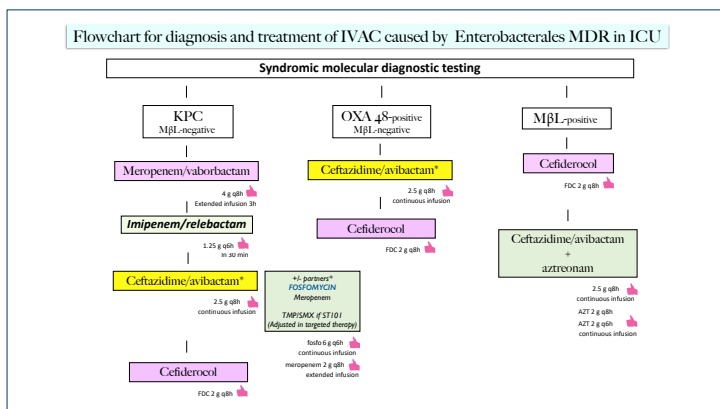


Figura 21. Algoritmo decisionale diagnostico/terapeutico per il trattamento delle polmoniti associate al ventilatore da Enterobacterales KPC, OXA-48 e MβL-produttori.

La diagnostica molecolare sindromica e convenzionale come strumento clinico per la scelta della terapia antibiotica nelle infezioni da Gram-negativi MDR

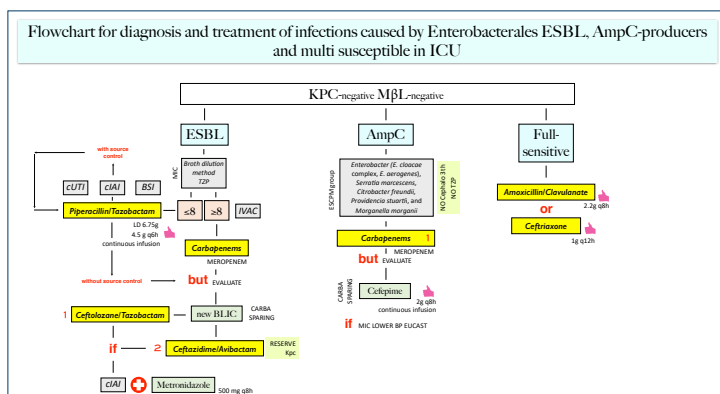


Figura 22. Algoritmo decisionale diagnostico/terapeutico per il trattamento delle infezioni da Enterobacterales ESBL, AmpC-produttrici e multisensibili.

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa è diventato uno dei patogeni più temibili in ambito nosocomiale specialmente per lo sviluppo di resistenza MDR (*multi-drug resistance*) e PDR (*pan-drug resistance*); **tale patogeno causa infezioni in pazienti critici e in pazienti immunodepressi e neutropenici; in questi ultimi, è una delle principali cause di morte in caso di batteriemia.** *Pseudomonas aeruginosa* ha la capacità di acquisire rapidamente e facilmente resistenze ad antibiotici e di diffonderle ulteriormente⁽⁹⁹⁾. Inoltre, esistono dei cloni ipervirulenti che si diffondono e che provocano la maggior parte delle epidemie nosocomiali. I ceppi MDR sono aumentati negli ultimi anni e percentuali del 15-30% degli isolati non sono rare in determinate aree geografiche⁽¹⁰⁰⁾. Secondo EARSNET il 5,5 % di ceppi è resistente a tutti e 5 i farmaci sorvegliati in *Pseudomonas aeruginosa* e che il 13% è resistente ad almeno 3 farmaci⁽¹⁰¹⁾. Nella tabella I sono riportate le percentuali di resistenza di *Pseudomonas aeruginosa* in Italia dal 2015 al 2019. **Il meccanismo di resistenza intrinseco** più importante, in *Pseudomonas*, è dato dai meccanismi di impermeabilizzazione di membrana, *down-regulation* delle porine (principalmente OprD) e *over-expression* delle pompe di efflusso, il tutto potenziato da iperproduzione di AmpC intrinseca⁽¹⁰²⁾. Le aminopenicilline e le cefalosporine (specialmente cefoxitina) sono forti induttori di AmpC e questo può portare alla sovra-espressione di tale enzima (mediante mutazioni dei geni che producono le molecole regolatrici), rendendo ragione della resistenza a molti β -lattamici, esclusi in parte cefepime, ceftolozano/tazobactam ed imi-

Impermeabilizzazione di membrana e iperproduzione di AmpC

SPECIE	ANTIMICROBICO/AGENTE	2015	
		N	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Resistenza PIP/TAZ	1.074	28,7
	Resistenza ceftazidime	1.068	21,7
	Resistenza carbapenemi (IMI/MER)	1.082	22,8
	Resistenza FQ (CPX/LEV)	1.080	24,6
	Resistenza aminoglicosidi	1.050	17,2
	Resistenza combinata ≥ 3 gruppi antimicrobici (tra PIP/TAZ, CZA, carbapenemi, FQ e aminoglicosidi)	1.082	19,8

Tabella I. Percentuali di resistenza di *P. aeruginosa*.

penem. **Il meropenem resiste all'idrolisi da parte di AmpC così come i nuovi BLIC** (ceftazidime/avibactam - CZA, meropenem/vaborbactam - MEM/VAB, imipenem/relebactam - IMI/REL) e **cefiderocol**. Ceftolozano evade l'idrolisi di AmpC in *Pseudomonas aeruginosa*. **Altre β -lattamasi cromosomiche, di rilevanza clinica, sono le OXA-50/Pox B.**

Le pompe di efflusso MexAB/OprM sono causa di resistenze a basso livello per molti β -lattamici compreso il meropenem (unica eccezione è imipenem); i chinoloni, invece, non sono un substrato per queste pompe di efflusso. Solo ceftolozano/tazobactam (C/T), imipenem ed imipenem/relebactam non sono influenzati dal sistema MexAB-OprM, né da iperproduzione di AmpC mutate (AmpCV239A e/o AmpCF147L) in *Pseudomonas aeruginosa* ⁽¹⁰²⁾.

Ceftazidime/avibactam, invece, non è resistente all'effetto delle pompe di efflusso, in *Pseudomonas*. Ceftolozano/tazobactam, a tal proposito, esprime un significativo minor tasso di resistenza, rispetto a CZA, verso isolati di *Pseudomonas aeruginosa* con ridotto numero di porine OprD

2016		2017		2018		2019	
N	%	N	%	N	%	N	%
1.146	29,8	1.309	23,2	2.938	23,9	3.768	24,1
1.160	23,0	1.332	20,0	2.974	19,9	3.798	19,1
1.206	23,3	1.433	19,6	3.014	15,8	3.793	13,7
1.166	24,7	1.390	25,1	2.994	22,9	3.874	21,7
1.203	19,1	1.428	18,0	2.983	12,8	3.859	11,4
1.205	19,8	1.434	17,2	3.006	14,9	3.882	13,1

ed incrementata espressione di MexAB (5,1% *versus* 25,6%, $p > 0,025$ e 4,3% *versus* 34,8%, $p > 0,022$, rispettivamente) ⁽¹⁰³⁾. La pompa MexXY è il meccanismo di resistenza intrinseco agli aminoglicosidi ⁽¹⁰⁴⁾. Per mutazioni cromosomiche, *Pseudomonas aeruginosa* è capace di sviluppare anche altre resistenze, praticamente contro tutte le classi di antibiotici anti-*Pseudomonas*. La sovra-produzione di AmpC è il meccanismo più frequente di resistenza in *Pseudomonas aeruginosa*; essa si basa sulla mutazione ed inattivazione del gene *AmpD* e sul gene che inattiva la PBP4. AmpR è il fattore di trascrizione che regola AmpC; la sua mutazione può incrementare ulteriormente la produzione di AmpC. La mutazione R154H di AmpR si associa con il ceppo XDR epidemico ST175 ^(48, 105) (Figura 23). Oltre alla **iperproduzione si ha la mutazione dell'AmpC che può portare alla resistenza sia a ceftolozano/tazobactam, sia a ceftazidime/avibactam**; i mutanti individuati sono centinaia e possono avere interesse clinico se si manifestano in cambiamenti fenotipici facilmente rile-

Iperproduzione di AmpC e resistenza a CZA e C/T

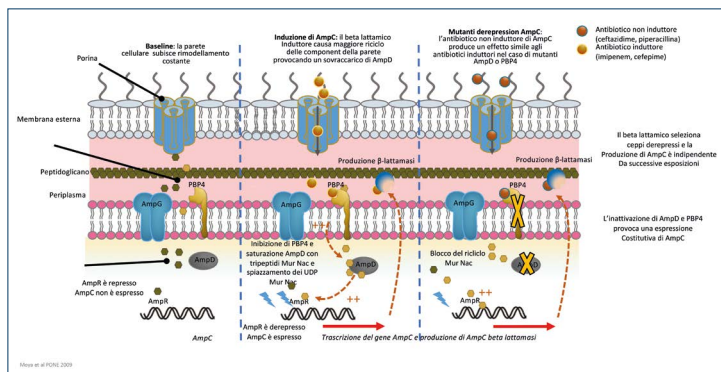


Figura 23. Meccanismo di inibizione e di induzione dell'enzima AmpC⁽¹⁰⁶⁾.

vabili. Pertanto, possiamo cercare di dare alcune indicazioni fenotipiche per cercare di individuare i meccanismi che potrebbero avere una ricaduta clinica, cioè provare ad utilizzare farmaci resistenti all'AmpC o inibitori con attività anti-AmpC. Bisogna ricordare che i *breakpoint* clinici (BC), sia del CLSI sia dell'EUCAST, cambiano nel tempo e che per *Pseudomonas aeruginosa* proprio nell'ultimo anno sono stati modificati i BC di EUCAST, come riportato nella tabella II⁽¹⁰⁷⁾. Proviamo a vedere come potrebbero essere i fenotipi di resistenza di alcuni mutanti di AmpC di *Pseudomonas aeruginosa*. Nella tabella III sono riportate le "*Pseudomonas derived cephalosporinase*" (PDC) cioè le varianti di AmpC mutate con resistenza ai β -lattamici, le mutazioni del gene AmpC, in grassetto le più importanti, e la MIC di piperacillina/tazobactam, ceftazidime, cefepime e ceftolozano/tazobactam e la categoria di sensibilità in base al BC EUCAST; tra parentesi la MIC in presenza di cloxacillina (inibitore fenotipico di AmpC). Se la MIC non si riduce di 3 diluizioni, vuol dire che l'enzima ha perso la capacità di farsi inibire dalla cloxacillina (test fenotipico per AmpC, test genotipici non disponibili in commercio). Queste sono solo alcune delle mutazioni studiate, ma sono esemplificative del concetto che se abbiamo ceppi intermedi a piperacillina/tazobactam e

ANTIBIOTICO	BC SENSIBILITÀ PRECEDENTE (mg/l)	BC RESISTENZA PRECEDENTE (mg/l)	BC SENSIBILITÀ ATTUALE (mg/l)	BC RESISTENZA ATTUALE (mg/l)
Piperacillina/ tazobactam	≤16	>16	≤0,001	>16
Cefepime	≤8	>8	≤0,001	>8
Ceftazidime	≤8	>8	≤0,001	>8
Ceftazidime/ avibactam	≤8	>8	≤8	>8
Ceftolozano/ tazobactam	≤4	>4	≤4	>4
Imipenem	≤4	>4	≤0,001	>4
Imipenem/ relebactam	ND	ND	≤2	>2
Meropenem	≤2	>8	≤2	>2
Meropenem/ vaborbactam	ND	ND	≤8	>8
Aztreonam	≤16	>16	≤0,001	>8
Cefiderocol	ND	ND	≤2	>2

Tabella II. Breakpoint clinici di sensibilità EUCAST per *Pseudomonas aeruginosa*⁽¹⁰⁷⁾.

resistenti a ceftolozano/tazobactam non è un fenotipo impossibile e che in base alle MIC di ceftazidime e cefepime si potrebbero anche avere delle indicazioni sul mutante implicato, sulla capacità di cloxacillina di inibire l'AmpC e volendo provare a studiare l'effetto di altri inibitori delle β -lattamasi e di altri β -lattamici. **Le mutazioni dell'AmpC, in genere, non determinano un aumento delle MIC di cefiderocol.** Accanto alle mutazioni dell'AmpC sono importanti anche le mutazioni della PBP3 che ha un ruolo nella resistenza ai β -lattamici.

PDC	MUTA- ZIONI	PIPERACILLINA/ TAZOBACTAM MIC	CEFTA- ZIDIME MIC	CEFEPIME MIC	CEFTOLOZANO/ TAZOBACTAM MIC
50	T79A, V213A	32(4) R	64(2) R	8(1) I	4(0,5) S
74	T79A, G216R	8(4) I	>64(32) R	8(4) I	8(4) R
78	R100H, G216R	32(16) R	>64(>64) R	16(16) R	16(16) R
86	1GD, T79A, V179L, E221K	16(16) I	>64(>64) R	16(8) R	>64 (64) R
90	1GD, T79A, V179L, DT290- DM292	16(4) I	>64(8) R	>64 (16) R	4(1) S

Tabella III. *Pseudomonas derived cephalosporinase (PDC).*

La mutazione della PBP3 causa resistenza a ceftazidime, cefepime, piperacillina/tazobactam, ceftolozano/tazobactam, ceftazidime/avibactam e meropenem.

*Penicillin Binding
Proteins (PBP)*

Le **Penicillin Binding Proteins (PBP)** sono classificate in base al peso molecolare: alto e basso peso molecolare. Le PBP ad alto peso molecolare sono costituite dal gruppo delle **PBP1a/1b, PBP2, PBP3** e costituiscono le PBP essenziali per il ciclo vitale del batterio, in quanto implicate nelle fasi finali della sintesi del peptidoglicano. L'inattivazione della **PBP1a/1b**, infatti, determina lisi e morte batterica in *E. coli*, la **PBP2** determina la morfologia a bastoncello, mentre l'inattivazione della **PBP3** provoca la filamentazione del batterio. In *Pseudomonas aeruginosa*, le PBP a basso peso molecolare (PBP4, PBP5 e PBP7) sono state studiate per il loro ruolo nel-

la determinazione della resistenza ai β -lattamici. Infatti, isolati clinici con mutazioni della **PBP4 (PA3047)** sono stati correlati ad un'aumentata resistenza ai β -lattamici dovuta all'induzione del gene esprimente AmpC cromosomico, mentre non è ancora noto il ruolo giocato da **PBP5 (PA3999)**. Nella tabella IV sono riportate le concentrazioni I_{50} dei diversi β -lattamici in funzione del loro legame con le diverse PBP in *Pseudomonas aeruginosa*. **L'azione differente delle cefalosporine contro *Pseudomonas aeruginosa* può essere compresa dalla capacità inibente sulle PBP, che è inversamente proporzionale alla concentrazione efficace.** Ne risulta che ceftobiprololo e ceftolozano hanno la maggiore attività contro PBP4, pur non avendo attività contro PBP5/6. Il carbapenemico risulta il più potente β -lattamico in base alla capacità di legame alle PBP, per imipenem compresa PBP4. La **porina OprD** è specifica per i carbapenemici: la sua inattivazione è dovuta o ad una mutazione o ad una inserzione nel gene specifico oppure alla *down-regulation* del gene per mutazioni dell'ORF. Tale inattivazione porta a resistenza sia a meropenem sia ad imipenem. La resistenza all'imipenem è dovuta per il più del 20% dei casi all'inattivazione di tale porina.

Porina OprD

	PBP1A	PBP1B	PBP2	PBP3	PBP4	PBP5/6	MIC μ /ml
Ceftriaxone	0,2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ceftobiprololo	0,1	0,5	3	0,1	0,2	>32	1
Ceftazidime	0,2	5	>32	0,1	2	>32	1
Cefepime	0,1	2	8	0,1	0,3	>32	2
Imipenem	0,5	0,5	0,1	0,1	0,01	2	1
Aztreonam	2	2	16	0,03	16	>16	4
Ceftolozano	0,12	0,89	1,59	0,04	0,21	>2	0,5
Avibactam	>13	>13	1,1	1,8	11	>13	>128

Tabella IV. Concentrazioni I_{50} dei β -lattamici.

Le pompe di efflusso di *Pseudomonas aeruginosa* sono 4 e si possono associare a mutazioni che ne determinano un'iperattivazione.

La **MexAB-OprM** è presente nel 10-30% dei ceppi MDR di *Pseudomonas aeruginosa*; tale pompa di efflusso funziona sui FQ, su tutti i β -lattamici compreso ceftazidime/avibactam, ma non riesce ad utilizzare imipenem come substrato. **MexAB-OprM, associata all'inattivazione della porina OprD, è la causa più frequente di resistenza in meropenem** ⁽¹⁰⁸⁾. La pompa **MexXY** è presente nel 10-30% dei casi e ha come substrato i FQ e cefepime. Altre due pompe di efflusso sono più rare come **MexCD-OprJ** (presente nel 5% dei ceppi), che ha come substrato i FQ e cefepime, e **MexEF-OprN** (presente nel 5% dei ceppi), che invece ha i FQ ed a volte imipenem, specie in caso di inibizione di OprD, come substrato. Bisogna rilevare che questi meccanismi, a differenza delle β -lattamasi o di altri meccanismi (ad esempio, mutazioni della DNA girasi per i fluorochinoloni), raramente si manifestano in aumenti della MIC, ma associati a questi meccanismi contribuiscono a determinare le resistenze.

Inoltre, bisogna considerare che i carbapenemici, anche se associati ad inibitori delle β -lattamasi, potrebbero rimanere dei substrati delle pompe di efflusso ed avere sempre la difficoltà a superare porine mutate come OprD. Infatti, recentemente Gomis-Font *et al.* hanno selezionato *in vitro* la resistenza all'imipenem/relebactam e hanno visto che era dovuta a pompe di efflusso MexAB-OprM, associato ad inibizione della porina OprD ed a mutazioni della PBP1 ⁽¹⁰⁹⁾.

Cefiderocol non risente dell'azione delle pompe di efflusso né delle porine, perché utilizza i canali del trasporto attivo del ferro per entrare nello spazio periplasmatico ⁽¹¹⁰⁾.

Attività delle pompe di efflusso e delle porine su Cefiderocol

La tabella V riporta per i nuovi antibiotici, indicazioni, meccanismo di azione sui determinanti di resistenza, penetrazione su fluido alveolare, sensibilità alle pompe di efflusso ed alle porine, capacità di legare PBP4 ed indurre AmpC, meccanismi di resistenza e cross-resistenza.

Per quanto riportato precedentemente, di fronte ad un ceppo di *Pseudomonas aeruginosa* senza pattern di resistenza rilevati (dato molecolare), ottenuto da positivizzazione di emocoltura o da campione respiratorio diretto profondo, cosa può ipotizzare un clinico (Figura 24)? Sicuramente l'assenza dei più comuni geni codificanti

per carbapenemasi: l'informazione, tuttavia, non consente di predire il profilo di resistenza ai β -lattamici. **Probabile sensibilità a ceftolozano/tazobactam.** Di seguito, sono riportate le varie possibilità fenotipiche riscontrabili: da totale suscettibilità a tutte le molecole anti-*Pseudomonas* utilizzabili, a resistenza piena ai carbapenemi. Si ricorda, a tal proposito, che tale resistenza in *Pseudomonas aeruginosa* è legata principalmente a meccanismi non enzimatici (Figura 25, A-E).

ANTIBIOTICI	CEPPOL	MIC
Amikacina	S	≤ 4
Cefepime	S	2
Ceftazidime	S	2
Ciprofloxacina	S	0,5
Gentamicina	S	0,5
Imipenem	S	≤ 1
Meropenem	S	0,5
Piperacillina/tazobactam	S	8/4
Ceftolozano/tazobactam	S	$\leq 1/4$

Figura 25A.

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

Figura 24. *Pseudomonas aeruginosa*; antibiogramma molecolare.

Figura 25A.

ANTIBIOTICI	CEPPOL	MIC
Amikacina	S	4
Ceftazidime	S	2
Ciprofloxacina	S	0,12
Gentamicina	S	≤ 1
Meropenem	I	4
Piperacillina/tazobactam	S	≤ 4

Figura 25B.

La diagnostica molecolare sindromica e convenzionale come strumento clinico per la scelta della terapia antibiotica nelle infezioni da Gram-negativi MDR

MOLECOLA	INDICZIONE EMA	ATTIVITÀ INIBITORE	PENETRAZIONE ELF	SUSCETTIBILITÀ ALLE POMPE EFFLUSSO	SUSCETTIBILITÀ ALLA MUTAZIONE /DELEZIONE PORINE
C/T	Sindromico (polmonite, cIAI, cUTI e pielonefrite) ¹¹¹	Classe A (spettro ridotto), ESBLs, alcune di Classe C. C protegge T contro <i>Enterobacteriales</i> e anaerobi produttori di ESBL ¹¹²	50% C, 62% T VAP, analogo nei soggetti sani (61%, 63%) ¹¹¹	Non substrato di MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN, MexXY ^{112, 114}	Non un substrato di OprD ¹¹²
IMI/REL	Patogeno-specifica sindromica (polmonite, BSI da polmonite) ¹¹⁸	Alcune di Classe A (incluse ESBLs e KPC), Alcune di classe C (incluse AmpC e PDC) ¹¹⁸	54% REL, 55% IMI (soggetti sani) ¹¹⁹	Resiste a MexAB/OprM, può essere suscettibile a MexXY6, altre Mex in associazione OprD ¹²⁰	Suscettibile a OprD ¹¹⁸
CZA/AVI	Patogeno-specifica sindromica (cIAI, cUTI e pielonefrite, polmonite, batteriemia) ¹²⁴	Classe A, alcune di Classe D, Classe C ¹²⁴ Variabile attività su ESBL ma maggiore di C/T ¹²⁰	52% CZA, 42% AVI (volontari sani) ¹²⁵	Alcune MexAB/OprM (più suscettibile di C/T) ¹²⁰	Alcune porine (determinano bassi livelli R) ¹²⁶
AZT (AVI)	<i>Trials ongoing</i> Per cIAI e trattamento di infezioni gravi da Gram-negativi e MBL-produttori ¹³⁰	AZT: Classe B Classe A , alcune di Classe D, Classe C ¹²⁴ Variabile attività su ESBL ¹²⁰	AZT: 36-80% ELF ¹³¹	Suscettibile a MexAB/OprM ¹³²	Suscettibile a mutazioni OprD ¹³²
FDC	Patogeno-specifica ¹³⁴	Classi A, B, C, D ¹³⁵	24% volontari sani, 34% pazienti VAP ¹³⁶	Nessun impatto significativo ¹³⁷	Non un substrato ¹³⁷

Tabella V. Indicazioni e meccanismo di azione dei nuovi antibiotici.

ATTIVITÀ PBP/ LEGANTE PBP4 E INDUZIONE AMP ^C	SAFETY	MECCANISMI RESISTENZA	CROSS RESISTENZA
Lega fortemente tutte le PBPs rilevanti ¹¹³ PBP4: legame 15X inferiore IMI, 4X maggiore CZA, non importante per induzione Amp ^C ¹¹⁴	–	Classe B e alcune di classe A (<i>K. pneumoniae</i> produttori di KPC, VEB, PER, GES), classe D Mutanti Amp ^C (PDC) (cross-resistenza CZA/AVI) Mutazioni PBP3	Ipermutanti mutS con Amp ^C iperespresso o mutato , aumentata S a IMI e C/T ¹¹⁵ Mutazione Ωloop Amp ^C resistenza a CZA/AVI ma non IMI ¹¹⁶ Cross-resistenza con CZA, FEP e PIP/TAZ e CZA/AVI (meglio solo su alcune GES-5) da resistenti produttori OXA-type, ESBL e PDC ¹¹⁷
Lega DacB (PBP4) induce Amp ^C ¹¹⁸	DDI, convulsioni ¹¹⁸	β-lattamasi di Classe B e D , sovraespressione PDC e mutazioni porine, Alcune GES ¹¹⁸ mutazione PBP target	Amp^C produttori con mutazione Ω loop (CZA/AVI e C/T) ¹¹⁶ , induzione di MeXY. MexD e OprD (cefotaxima) come IMI ¹²¹ , determinanti di R quali OXA-48, GES e permeabilità cellulare ^{122,123}
Lega PBP3 (CZA), PBP2 e PBP3 (AVI) ¹²⁸ Legame AVI con PBP4 induce Amp ^C ¹²⁹	–	Classe B , mutazioni Amp ^C , pompe di efflusso e porine alcune VEB ¹²⁷	Mutazioni in OXA e Amp^C-PDC (resistenza a C/T e CZA/AVI) ¹²⁰ Mutazioni Ω loop (C/T) ¹¹⁶ , Cross-resistenza con CZA, FEP e PIP/TAZ e C/T da resistenti produttori OXA type, ESBL e PDC ¹¹⁷
Lega preferibilmente PBP3 ¹³³	–	Mutanti Amp ^C e pompe efflusso/porine. AVI non apporta maggiore beneficio ¹³²	Sovraespressione pompe di efflusso e ridotta permeabilità (susceptibilità analoga a MER), mutanti Ω loop A e C non inibite da AVI e mutazioni PBP3 ¹³²
Lega preferibilmente PBP3 ¹³⁷ , non induce Amp ^C ¹³⁸	Sbilanciamento mortalità CREDIBLE-CR ¹³⁴	Mutazioni trasportatori ferro ed espressione siderofori ¹³⁷ , mutanti Amp ^C ¹³⁹	

ANTIBIOTICI	CEPPOL	MIC
Amikacina	S	≤4
Ceftazidime	R	16
Ciprofloxacina	R	8
Gentamicina	S	2
Meropenem	S	2
Piperacillina/ tazobactam	R	32/4

Figura 25C.

ANTIBIOTICI	MIC mg/l
Amikacina	<4 S
Aztreonam	16 I
Ciprofloxacina	>16 R
Ceftazidime	>32 R
Colistina	≤1 S
Gentamicina	16 R
Meropenem	>32 R
Ceftolozano/ tazobactam	≤1/4 S
Ceftazidime/ avibactam	≤1/4 S

Figura 25E.

(A-E. Possibili antibiogrammi fenotipici di *Pseudomonas aeruginosa* correlati all'antibiogramma di Figura 24).

ANTIBIOTICI	CEPPOL	MIC
Amikacina	S	4
Ceftazidime	S	2
Ciprofloxacina	R	≥4
Gentamicina	R	≥16
Meropenem	I	4
Piperacillina/ tazobactam	S	≤4

Figura 25D.

TRASMISSIONE ORIZZONTALE DI RESISTENZA

Anche in *Pseudomonas aeruginosa* vi è la possibilità di trasmissione di agenti mobili che portano la resistenza ai β-lattamici comprese ESBL e carbapenemasi, specie metallo-enzimi⁽¹⁴⁰⁾.

La percentuale di isolamento varia dall'1% al 50% e dipende dai contesti regionali e dalle capacità di rilevazione. Le ESBL più frequenti sono quelle della classe PER, VEB e GES e raramente si ritrovano le stesse delle *Enterobacterales* come TEM, SHV e CTX-M.

Tra le carbapenemasi, le più frequenti sono i metallo-enzimi con

VIM ed IMP tra le più rappresentate; le KPC e le GES, sebbene descritte, sono rare ⁽¹⁴¹⁾. Va ricordato che avibactam è un inibitore di tale enzima e pertanto può mostrare attività contro questi ceppi ⁽¹⁴²⁾.

CEFTOLOZANO/TAZOBACTAM (C/T)

Ceftolozano inibisce numerose PBP di *Pseudomonas aeruginosa* ed inoltre resiste alle AmpC, spesso anche mutate, e viene protetto dal tazobactam dalle ESBL, che comunque sono rare in *Pseudomonas*. Non resiste alle carbapenemasi. Negli studi registrativi di ceftolozano/tazobactam (C/T), gli *Pseudomonas aeruginosa* erano una percentuale bassa dei patogeni implicati nelle infezioni; in particolare, nello studio di Solomkin *et al.* sulle cIAI ⁽³⁵⁾, i ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* erano 72/806 e nello studio delle cUTI ⁽³⁶⁾, gli *Pseudomonas* erano 12 su 226 isolati batterici identificati come causa delle infezioni urinarie.

Ceftolozano/tazobactam (C/T) è stato utilizzato contro *Pseudomonas aeruginosa* in alcuni studi retrospettivi; Caston *et al.* hanno trattato 20 infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* MDR con C/T, 12 shock settici, 6 polmoniti, 1 otomastoidite ed 1 CLABSI. Il 75% ha avuto un miglioramento clinico, il 73% eradicazione microbiologica con una mortalità del 25% ⁽¹⁴³⁾. Haidar *et al.* hanno trattato 21 infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* MDR, principalmente polmoniti. Quindici pazienti hanno avuto successo clinico; tra i 6 pazienti falliti, 4 sono deceduti. Venti dei 21 pazienti avevano già ricevuto un farmaco anti-*Pseudomonas* ed il fallimento clinico era correlato ad uno score clinico, come il SAPS II, peggiore ⁽¹⁴⁴⁾.

Munita *et al.* hanno trattato 35 infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* resistenti ai carbapenemici, in prevalenza polmoniti (51%). Il successo clinico si è avuto nel 74% dei casi, con una mortalità intraospedaliera del 23%. Il 91% dei pazienti aveva avuto un trattamento precedente con altri farmaci anti-*Pseudomonas* e tutti e 4 i pazienti con ceppi con MIC > 4 mg/l hanno avuto un fallimento clinico ⁽¹⁴⁵⁾.

Gallagher *et al.* hanno trattato 205 infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* MDR, principalmente polmoniti (59%). Il successo clinico era del 74%, quello microbiologico del 71% e la mortalità a 30 giorni intraospedaliera era del 19%; una somministrazione tempestiva di C/T (entro 4 giorni) era un predittore di successo clinico⁽¹⁴⁶⁾.

Bassetti *et al.* hanno studiato 101 pazienti con infezione da *Pseudomonas aeruginosa* MDR, 32% polmoniti e 21% BSI. Successo clinico si è avuto nell'83% dei casi; predittori di fallimento erano avere uno stato settico ed avere avuto necessità di CVWH. Nel 3% dei casi, si era isolato un ceppo resistente a C/T durante il trattamento⁽¹⁴⁷⁾.

Lo studio prospettico sulle polmoniti nosocomiali da Gram-negativi è stato recentemente pubblicato (Studio ASPECT-NP).

La polmonite nosocomiale si può distinguere in polmonite associata a ventilazione (VAP, *ventilator-associated pneumonia*), polmonite nosocomiale con necessità di ventilazione (vHAP, *ventilated hospital-acquired pneumonia*) e polmonite nosocomiale (HAP, *hospital-acquired pneumonia*).

La VAP è una polmonite che si instaura in pazienti intubati per la ventilazione meccanica e si può distinguere in *early VAP*, che si instaura entro i primi 5 giorni dall'intubazione ed è causata da patogeni molto simili a quelli della polmonite comunitaria, e *late VAP*, che avviene dopo i 5 giorni di intubazione e che è causata da patogeni frequentemente *multi-drug resistant*⁽¹⁴⁸⁻¹⁵⁰⁾.

Dosaggio
polmonare di
ceftolozano/
tazobactam (C/T)

Lo studio ASPECT-NP compara ceftolozano/tazobactam (C/T) doppia dose (**3 g ogni 8 ore, infuso in un'ora**) rispetto a meropenem (MEM) (1 g ogni 8 ore, infuso in un'ora) per le VAP e le HAP ventilate causate da batteri Gram-negativi delle specie sensibili ai farmaci studiati⁽¹⁵¹⁾. La dose di 3 g di C/T è stata scelta perché in studi su volontari sani C/T raggiungeva concentrazioni nel liquido alveolare capaci di stare sopra a 8 mg/l per il 40% del tempo di intervallo delle dosi e per il 50% del tempo di intervallo se si sceglieva la soglia di 4 mg/l⁽¹⁵²⁾. Tali soglie sono superiori al *breakpoint* di C/T per gli enterobatteri ($\leq 4\text{mg/l}$) e per *Pseudo-*

monas aeruginosa (≤ 8 mg/l). Alcune linee guida consigliano di somministrare meropenem in infusione estesa per le polmoniti del paziente ventilato⁽¹⁴⁸⁾, ma lo studio in questione è stato iniziato prima della pubblicazione delle linee guida e nonostante tutto le MIC dei patogeni interessati per meropenem erano basse e, conseguentemente, il *target* farmacologico del meropenem facilmente raggiungibile anche nell'infusione di 1 ora. *Endpoint* primario era la mortalità a 28 giorni, che può variare dal 18 al 27% per le VAP e le vHAP. In genere la mortalità a 28 giorni è l'*endpoint* primario scelto da molti studi nella valutazione della terapia antibiotica nelle infezioni gravi. Alcuni Autori obiettano che a 28 giorni la mortalità è dovuta più alle condizioni del paziente ed alle comorbidità rispetto all'esito delle infezioni. La mortalità a 14 giorni varia dal 6 al 19% nelle VAP e dal 6 al 24% nelle vHAP, con valori spesso inferiori al 10% negli studi registrativi⁽¹⁵³⁾; pertanto la mortalità a 28 giorni è sembrato un parametro adeguato per non arruolare troppi pazienti. *Endpoints* secondari erano: risposta clinica alla visita *test of cure* (TOC), risposta clinica al *follow-up*, risposta clinica in base al patogeno isolato, mortalità a 28 giorni in base al patogeno. Trecentosessantuno pazienti nel braccio C/T e 359 nel braccio MEM hanno ricevuto il farmaco (popolazione in studio). La coorte arruolata era composta principalmente da pazienti gravi, di cui il 42% nel braccio C/T ed il 46% nel braccio MEM erano sottoposti a terapia con amine. La durata media di ventilazione è stata di 5 giorni. La terapia con altri antibiotici anti-Gram-negativi era consentita nelle prime 72 ore dall'inizio della terapia (con aminoglicoside laddove si registravano infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* resistenti ai carbapenemici con frequenza superiore al 15%), dove nella maggior parte dei casi è stata scelta amikacina; il 28% dei pazienti nel braccio C/T e il 31% nel braccio MEM hanno aggiunto un secondo farmaco. I patogeni identificati erano 264 nel braccio C/T e 247 nel braccio MEM (totale: 511).

In totale le *Enterobacterales* erano 380 (74%), mentre i ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* erano 128, rappresentando il 25% del totale rilevato: la

somma di questi costituiva il 99% dei ceppi rilevati. Pertanto, lo studio è sulle polmoniti nosocomiali ventilate da enterobatteri e *Pseudomonas*.

Per quanto concerne *Pseudomonas aeruginosa*, la resistenza a C/T (MIC ≥ 8 mg/l) era del 3% contro il 12% di meropenem. **In Italia la resistenza di ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* a C/T si aggira intorno al 10% ed è dovuta principalmente alla produzione di metallo enzimi** ⁽¹⁵⁴⁾.

I risultati dell'endpoint primario, infatti, hanno mostrato che la mortalità a 28 giorni nel braccio C/T è stata del 24%, rispetto al 25% del braccio MEM, confermando che C/T ha raggiunto la non inferiorità nell'endpoint primario.

Inoltre, **nei pazienti con vHAP** e nei pazienti che hanno fallito una precedente terapia antibiotica per lo stesso episodio di polmonite, **la mortalità**

è stata minore per C/T, con differenza statisticamente significativa rispetto al braccio MEM. Tale differenza è impor-

ta dal punto di vista clinico, sebbene dal punto di vista statistico occorra sottolineare che lo studio non era stato disegnato

per dimostrare la superiorità, pertanto questi dati dovrebbero essere confermati. Seppur preliminari, questi dati sono importanti: infatti, i pazienti con

vHAP sono caratterizzati da una maggiore gravità e presentano

una maggiore mortalità; **C/T in questo contesto ha mostrato di essere non inferiore** (e possibilmente superiore) **al carba-**

penemico. Questi sono pazienti in genere fragili, con molte co-

morbidità, che acquisiscono una polmonite nosocomiale con germi MDR e che una volta intubati sono molto difficili da trattare e sono più gravi rispetto ai pazienti con VAP; infatti, le VAP sono frequenti anche in pazienti più giovani che sono intubati, ad esempio per traumi gravi. La reattività alle infezioni di questi pazienti è maggiore rispetto al paziente dell'esempio precedente e così la capacità di sopravvivere.

La maggiore efficacia di C/T anche nei pazienti già pretrattati è altresì importante; infatti, dal punto di vista pratico, molti clinici, una volta convinti del fallimento di una terapia antibiotica nella polmonite del paziente ventilato,

Ceftolozano/
tazobactam
(C/T) e vHAP

Ceftolozano/
tazobactam
(C/T) in vHAP

sono soliti ricorrere spesso al carbapenemico come *rescue therapy*; **questo studio dimostra che la terapia di salvataggio non è costituita solo da meropenem, bensì anche da C/T.**

L'eradicazione microbiologica con guarigione clinica mostra come le percentuali siano simili tra i due bracci dello studio; per *Pseudomonas aeruginosa* la differenza di eradicazione era a favore di C/T (12% percentuali) quando le differenze di sensibilità *in vitro* erano del 9%. Come si vede dalla tabella VI, vi è discrepanza tra sensibilità degli enterobatteri a C/T (specie per le ESBL) ed efficacia clinica, che è simile ed anche superiore a quella di MEM, che comunque ha solo l'1% di resistenza in questi ceppi.

In conclusione, C/T a doppia dose è una valida alternativa *carbapenem sparing* nelle VAP e nelle forme ancor più gravi delle vHAP causate da *Pseudomonas aeruginosa*.

	% DI RESISTENZA A C/T	ERADICAZIONE MICROBIOLOGICA C/T	% DI RESISTENZA A MEM	ERADICAZIONE MICROBIOLOGICA MEM
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3%	75%	12%	63%

Tabella VI. Valutazione dell'eradicazione microbiologica nell'analisi ITT; percentuali di guarigione.

CEFTAZIDIME/AVIBACTAM (CZA/AVI)

Ceftazidime/avibactam (CZA/AVI) è attivo contro i ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* produttori di AmpC ed ESBL ed inoltre contro i ceppi produttori di carbapenemasi classe A come GES. Gli studi *in vitro* hanno mostrato un'attività dal 66 all'86% contro collezioni di ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* MDR⁽¹²⁰⁾.

Studi *in vitro* di batteriocidia hanno mostrato **un'azione più debole di CZA/AVI nei confronti di *Pseudomonas aeruginosa* rispetto alle *Enterobacterales*.** Gli studi clinici sono scarsi: Carmeli *et al.*, in uno studio ran-

domizzato, hanno incluso 21 pazienti con infezioni UTI e IAI da *P. aeruginosa* ⁽¹⁵⁵⁾. Per le infezioni urinarie vi è stato un *outcome* clinico favorevole nell'86% dei casi ed una eradicazione microbiologica del 79%. Uno studio spagnolo ha osservato 9 pazienti con infezione da ceppi XDR che erano stati trattati con CZA/AVI; la guarigione clinica era del 50% ⁽¹⁵⁶⁾. Molti dei fallimenti si avevano nelle polmoniti (lo stesso fenomeno è stato recentemente osservato anche da Tumbarello *et al.* per gli enterobatteri) ed altri dati clinici sono scarsi. Nello studio che ha valutato CZA/AVI nelle polmoniti nosocomiali, 9 ceppi di *Pseudomonas aeruginosa*, su 355 ceppi identificati nello studio, erano resistenti a CZA/AVI ⁽¹⁵⁷⁾. **Rispetto a C/T, ceftazidime/avibactam possiede una minore efficacia anti-*Pseudomonas*** principalmente dovuta al fatto che evade molto meno l'effetto delle pompe di efflusso. A tal proposito, Wi *et al.* su 42 isolati di *Pseudomonas aeruginosa* resistenti ai carbapenemi, non produttori di carbapenemasi, hanno rilevato una resistenza di C/T significativamente più bassa rispetto a CZA/AVI, mostrando una riduzione di OprD e un incremento di espressione di MexAB (5,1% *versus* 25,6%, $p=0,025$, e 4,3% *versus* 34,8%, $p=0,022$, rispettivamente) del tutto differenti ⁽¹⁰³⁾.

CEFIDEROCOL (FDC)

Cefiderocol è una nuova cefalosporina che utilizza il sideroforo del ferro per superare la membrana esterna dei Gram-negativi e raggiungere lo spazio periplasmico (questa molecola ha attività, pertanto, solo contro i batteri Gram-negativi). Questo meccanismo di trasporto lo rende insensibile ai meccanismi di resistenza basati sui deficit delle porine o sulla sovra-espressione delle pompe di efflusso. Una volta raggiunto lo spazio periplasmico, resiste l'azione idrolizzante delle β -lattamasi comprese le AmpC, le carbapenemasi a serina ed anche le carbapenemasi a metallo ^(138,158,159). **Le AmpC mutate o sovra-esprese non aumentano le MIC del cefiderocol, diversamente da quanto avviene con cefepime** (molecola stabile all'AmpC non mutata) **e con ceftazidime.**

Nello studio registrativo CREDIBLE, uno studio che arruolava pazienti con infezioni da Gram-negativi resistenti ai carbapenemici, confrontando cefiderocol *versus best available therapy* (BAT), sono stati arruolati 12 pazienti con infezione da *Pseudomonas aeruginosa* nel braccio cefiderocol (15% delle infezioni incluse) con 6 polmoniti, 2 BSI e 4 UTI e 10 pazienti nel gruppo BAT (26% delle infezioni incluse) con 5 polmoniti, 3 BSI e 2 UTI. I ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* nel braccio cefiderocol avevano un range di MIC₉₀ di 2 mg/l (range 0-12-4), nel braccio BAT la MIC₉₀ era 2 mg/l (range 0-06-4). La mortalità nei pazienti infetti da *Pseudomonas aeruginosa* era maggiore nel braccio cefiderocol rispetto a BAT, ma il successo clinico era simile nei due bracci. Tale studio aveva uno sbilanciamento di mortalità nel braccio cefiderocol, che però si riequilibrava se venivano tolti i decessi avvenuti precedentemente ai 4 giorni dall'arruolamento e dopo i 28 giorni. In particolare, il successo clinico per patogeno mostrava una superiorità di cefiderocol su BAT nelle infezioni da *Enterobacterales*; invece per le infezioni da Gram-negativi non fermentanti l'efficacia era la stessa, in particolare **il successo clinico globale per *Pseudomonas aeruginosa* era del 58% (7/12) per cefiderocol contro il 50% per BAT (5/10).**

Cefiderocol
in *Pseudomonas
aeruginosa*:
studio CREDIBLE

In particolare, in tre pazienti con infezione da *Pseudomonas aeruginosa*, la MIC iniziale è aumentata di 4 diluizioni durante il trattamento ed è passata da 0,12 mg/l a 2 mg/l e da 0,5 mg/l a 2 mg/l in due infezioni, rispettivamente, a 22 e 16 giorni di trattamento e comunque 2 mg/l è ancora nel range di sensibilità; invece, in un caso la MIC è passata da 0,12 mg/l a 16 solo dopo 3 giorni di trattamento⁽¹⁶⁰⁾.

Portsmouth *et al.* hanno studiato cefiderocol 2 g ogni 8 ore *versus* imipenem 1 g ogni 8 ore nelle infezioni urinarie complicate. Il cefiderocol ha raggiunto la non inferiorità rispetto al comparatore. *Pseudomonas aeruginosa* rappresentava il 7% (18/252) dei patogeni isolati nel braccio del cefiderocol rispetto al 4,2% (57) del braccio imipenem. La sensibilità al cefiderocol dei ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* era MIC₅₀ 0,06 mg/l, MIC₉₀ 0,25 mg/l

(range n0,004-2) senza isolamento di ceppi resistenti, invece la MIC_{90} di questi ceppi ad imipenem era > 8 mg/l dimostrando la presenza di ceppi MDR. Il successo clinico per le infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* era di 10/18 nel braccio cefiderocol rispetto ad 1 successo su 5 infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* nel braccio imipenem⁽¹⁶¹⁾.

Nello studio APEKS-NP, cefiderocol 2 g ogni 8 ore è stato comparato nelle polmoniti nosocomiali da Gram-negativi a meropenem 2 g ogni 8 ore in infusione estesa e ha raggiunto la non inferiorità. *Pseudomonas aeruginosa* rappresentava il secondo patogeno con 24 isolati (17%) nel braccio cefiderocol, rispetto a 24 (16%) isolati nel braccio meropenem. Il successo clinico si è raggiunto nel 67% (16/24) delle polmoniti da *Pseudomonas aeruginosa* nel braccio cefiderocol, rispetto al 71% (17/24) del braccio meropenem, differenza non significativa. L'eradicazione microbiologica si è raggiunta nel 38% (9/24) delle polmoniti da *Pseudomonas aeruginosa*, rispetto al 46% (11/24) del braccio meropenem, quindi di nuovo una differenza non significativa⁽⁸¹⁾.

IMIPENEM/RELEBACTAM (IMI/REL)

La combinazione imipenem/cilastatina e relebactam è stata approvata per il trattamento delle polmoniti nosocomiali (HAP e VAP) e altre infezioni sostenute da patogeni Gram-negativi quali CUTI, cIAI nei pazienti adulti e con limitate opzioni di trattamento⁽¹²³⁾.

Relebactam è un nuovo diazabiccioottano inibitore delle β -lattamasi in grado di proteggere imipenem dall'idrolisi degli enzimi di Classe A (ad esempio, KPC) e C (ad esempio, AmpC) tra cui le cefalosporinasi prodotte da *Pseudomonas aeruginosa* (PDC). Non esercita alcuna attività protettiva nei confronti di β -lattamasi di Classe B (NDM, VIM e IMP) e D (OXA)⁽¹²³⁾. Né imipenem né relebactam sono substrati delle pompe di efflusso prodotte da *Pseudomonas aeruginosa*. La suscettibilità ad imipenem/relebactam è stata studiata dalla raccolta SMART, una serie di studi di sorveglianza condotti in

diversi Paesi del mondo, tra cui USA, Europa e Cina. Nei ceppi di *Pseudomonas aeruginosa*, l'aggiunta di relebactam ripristina l'attività di imipenem/cilastatina. Nello studio SMART del periodo 2015-2017, le MIC₉₀ per *Pseudomonas aeruginosa* per imipenem/relebactam (IMI/REL) mostravano percentuali di suscettibilità comprese tra 90,8-93,9% (MIC=2mg/l) versus 69,0-72,0% di IMI (MIC=32mg/l)⁽¹⁶²⁾, con suscettibilità del 70,3% nei ceppi IMI non suscettibili (MIC>32mg/l). In una raccolta di 1.445 isolati clinici di *Pseudomonas aeruginosa*, IMI/REL ha mostrato MIC_{90/50} = 0.5/1 mg/l, rispettivamente, 4 e 16 volte inferiori rispetto a quelle di IMI, ed una suscettibilità pari all'80,5% nei ceppi non suscettibili ad IMI.

Un totale di 37 isolati su 1.445 mostrava MIC>8 mg/l (**resistenti a IMI/REL**) e tutti erano produttori di carbapenemasi, incluse 26 VIM (3 VIM-1, 11 VIM-2, e 12 VIM-20), 4 IMP (1 IMP-1, 2 IMP-8, e 1 IMP-33), e 7 GES-5. Un paio di ceppi con suscettibilità intermedia esprimevano VIM-2, mentre l'altro mostrava una sovra-espressione di MexXY con sovra-espressione di AmpC (a causa di una mutazione in PBP4), oltre che mutazioni in PBP2 e 3.

IMI/REL conserva anche attività nei confronti di ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* produttori di ESBL (4 PER-1, 2 GES-1, 1 OXA-15) resistenti a C/T e CZA/AVI. Infatti, 39 su 78 (50%) dei ceppi ceftolozano/tazobactam-resistenti e 51 su 84 (60,7%) ceppi ceftazidime-avibactam-resistenti (non produttori di carbapenemasi) restavano suscettibili alla combinazione IMI/REL⁽¹¹⁶⁾.

Mushtaq *et al.* hanno analizzato una raccolta di isolati clinici di *Pseudomonas aeruginosa* produttori di ESBL e carbapenemasi provenienti da ospedali del Regno Unito [ESBL: VEB (*n* = 97), PER (*n* = 9), GES ESBL (*n* = 7, ognuno con GES-1 e GES-7, 3 con GES-9 e 2 con GES-26), SHV (*n* = 2, ognuno con SHV- 5 e SHV-12) e CTX-M-15 (*n* = 1); carbapenemasi: GES-5 (*n* = 37), OXA-48 like (*n* = 4, uno con OXA-181), MβL (*n* = 11, di cui 5 NDM 5 VIM e uno con entrambi) e 2 KPC], con lo scopo di determinare le ipotesi di potenziamento

Resistenza
a IMI/REL
in *Pseudomonas
aeruginosa*

di IMI da parte di REL sovrastando la perdita di OprD, e la resistenza mediata da carbapenemasi di Classe A.

Nei produttori di VEB, si osservava una riduzione delle MIC di 4 o 8 volte (raggiungendo il *breakpoint* EUCAST pari a 8+4 mg/l, corrispondente al *breakpoint* elevato per EUCAST 2014-2018 poi ridefinito 0,001/>4 mg/l nel 2020, sottolineando l'impiego di IMI a dosaggio elevato-1g ogni 6h), sebbene molte delle MIC dei produttori di VEB rimanevano oltre i *breakpoint* EUCAST. Ciò suggerisce che il potenziamento di IMI è dovuto alla contingente inibizione di AmpC e non alla particolare interazione di REL con ESBL.

Tra i produttori di carbapenemasi, gli isolati di GES-5 erano i più prevalenti con MIC per IMI pari a 64–128 mg/l e una riduzione con REL di una sola diluizione, mentre conservava una buona attività sui produttori di KPC.

Resistenza a
IMI/REL in
Pseudomonas
aeruginosa

Tra i comparatori, C/T non era attivo su GES-5 (MIC principalmente tra 8–16 mg/l⁽¹⁶³⁾). **I meccanismi di resistenza a IMI/REL** sono costituiti dalla produzione di β -lattamasi non inibite da REL come M β L e OXA.

Nella raccolta SMART, 14% dei 29 *Pseudomonas aeruginosa* non suscettibili a IMI/REL erano produttori di M β L e uno di GES⁽¹⁶⁴⁾. Altri meccanismi che possono indurre l'insorgenza di resistenza sono permeabilità alterata e sovraespressione di pompe di efflusso.

La farmacocinetica delle due molecole è complementare con C_{max} allo *steady state* per imipenem e relebactam pari a 88,9 μ M e 58,5 μ M, rispettivamente, e le rispettive AUC da zero a 24 h pari a 500 μ M·h e 390,5 μ M·h (con infusioni multiple da 30 min di 500/500 mg imipenem/cilastatina + 250 mg relebactam ogni 6 h in pazienti con infezioni batteriche). Il legame alle proteine plasmatiche è pari a circa 20%, 40% e 22% per imipenem, cilastatina e relebactam, rispettivamente.

La combinazione IMI/REL è escreta principalmente per via renale ($\approx$ 63%, 77% e > 90% della dose somministrata di imipenem, cilastatina e relebactam si riscontra nelle urine in forma intatta); pertanto, in pazienti con in-

sufficienza renale, occorre modificarne il dosaggio in base alla funzionalità. IMI/REL è un substrato dei trasportatori OAT3, OAT4, MATE1 e MATE2K sebbene non abbia impatto sulla co-somministrazione con probenecid, un inibitore delle OAT3. In base alle evidenze in merito alle interazioni di imipenem/cilastatina con acido valproico o sodio valproato o con il ganciclovir, la co-somministrazione con queste molecole non è raccomandata.

L'emivita di relebactam è simile a quella dell'imipenem, supportandone la co-somministrazione. Per quanto concerne il rapporto plasma/ELF, la relativa esposizione di IMI/REL è pari a circa il 50%^(165, 166).

Sono stati condotti 2 studi di fase 2 per determinare l'efficacia e la *safety* della combinazione IMI/REL (**NCT01506271** e **NCT01505634**).

Il primo, NCT01506271, era uno studio multicentrico di non inferiorità, in doppio cieco, randomizzato, condotto su pazienti adulti ospedalizzati che necessitavano di trattamento antibiotico EV per le infezioni cIAI. I pazienti sono stati randomizzati secondo lo schema 1:1:1 ovvero relebactam 250 mg o 125 mg, oppure placebo, in combinazione con imipenem/cilastatina ogni 6 h per 4-14 giorni.

La risposta clinica nella popolazione microbiologicamente valutabile (ME) era simile nei 3 gruppi di trattamento, tra il 95,2% ed il 98,8%; entrambi gli schemi di relebactam con imipenem/cilastatina erano non inferiori a imipenem/cilastatina. Il tasso di eventi avversi era simile in tutti i gruppi di trattamento (10-14%).

Il secondo studio, NCT01505634, multicentrico di non inferiorità, in doppio cieco, randomizzato, è stato condotto su pazienti adulti ospedalizzati che necessitavano di trattamento antibiotico EV per le infezioni cUTI e pielonefrite acuta. Lo schema di randomizzazione era analogo al precedente *trial* di fase 2 (1:1:1, relebactam 250 mg o 125 mg, oppure placebo, in combinazione con imipenem/cilastatina ogni 6 h per 4-14 giorni).

Oltre il 95% dei pazienti della popolazione ME in ogni braccio di trattamento ha mostrato una risposta microbiologica favorevole, con le seguenti percen-

tuali, rispettivamente, per schema di trattamento: 95,5% con imipenem/cilastatina + relebactam 250 mg, 98,6% con imipenem/cilastatina + relebactam 125 mg e 98,7% con imipenem/cilastatina + placebo.

I tassi di eventi avversi segnalati erano simili al precedente studio (9-10%), con 1 evento avverso grave nel braccio relebactam 250 mg + imipenem/cilastatina e placebo + imipenem/cilastatina^(167,168).

RESTORE-IMI 1 è lo studio di fase 3, multicentrico randomizzato, controllato in doppio cieco, per determinare l'efficacia e la *safety* di IMI/REL *versus* la combinazione IMI + colistina (COL) nei pazienti ospedalizzati con infezioni sostenute da patogeni resistenti ad IMI. Le infezioni ammesse erano HAP/VAP, cIAI e cUTI (confermate mediante coltura), con una randomizzazione 2:1 secondo il seguente schema: IMI/REL (200/100-500/200 mg, in base alla funzionalità renale) somministrato per EV 6 h, oppure COL (300 mg dose da carico, seguita da 75-150 mg a seconda della funzionalità renale) EV ogni 12 h + IMI (200-500 mg, in base alla funzionalità renale) EV, ogni 6 h.

L'endpoint primario di efficacia era la risposta al giorno 28 nella popolazione *modified Intention to Treat* (mITT). La risposta veniva determinata centralmente ed era stabilita in base ai seguenti parametri per sindrome: HAP/VAP, mortalità per ogni causa al giorno 28; cIAI, risposta clinica al giorno 28 e *outcome* composito di eradicazione microbiologica e guarigione clinica alla *early follow-up visit* (5-9 giorni dall'inizio della terapia o EFU) nelle infezioni cUTI⁽¹⁶⁹⁾.

In totale, lo studio ha arruolato 31 pazienti nel braccio IMI/REL e 16 nel braccio IMI+COL, con una risposta simile tra i bracci (71% vs 70%, rispettivamente, per IMI/REL e IMI+COL). Gli eventi avversi segnalati erano minori nel braccio IMI/REL rispetto al braccio di controllo (16% vs 31%), inclusi eventi avversi correlati a nefrotossicità (10% vs 56%). **Una risposta favorevole si è osservata nei pazienti con infezioni sostenute da *Pseudomonas aeruginosa*, rispettivamente, in 13/16 pazienti (81%) nel braccio IMI/REL e 5/8 (63%) nel braccio trattato con la combinazione IMI+COL.**

Dei 16 *Pseudomonas aeruginosa* isolati nel gruppo IMI/REL, 7 da infezioni cUTI (produttori di PDC, CTX-M, TEM e SHV), 1 cIAI (produttore di PCD), 8 HAP/VAP (produttori di PDC e TEM). Nel braccio trattato con IMI+COL, 2 isolati da cIAI (produttori di PDC), 3 HAP/VAP (produttori PDC) e 5 cUTI (produttori di CTX-M, TEM, SHV, OXA e/o PDC).

Un secondo studio di fase 3, il **RESTORE-IMI 2** ⁽¹⁷⁰⁾, randomizzato, controllato in doppio cieco, ha valutato l'efficacia di IMI/REL nei pazienti adulti con HAP/VAP.

Lo studio prevedeva una randomizzazione dei pazienti 1:1 allo schema seguente: IMI/REL 500 mg/500 mg/250 mg somministrati per EV o piperacilina/tazobactam (PIP/TAZ) 4 g/500 mg, EV ogni 6 h (in base alla funzionalità renale) per 7-14 giorni. A tutti i pazienti è stato somministrato linezolid in empirica (600 mg ogni 12 h) fino all'esclusione della presenza di MRSA.

L'endpoint primario stabilito era la mortalità per qualunque causa al giorno 28 nella mITT. Dei 37 pazienti randomizzati, 266 sono stati trattati con IMI/REL, e 269 con PIP/TAZ. IMI/REL ha mostrato non inferiorità rispetto al trattamento con PIP/TAZ rispetto all'endpoint primario stabilito di non inferiorità per mortalità per qualunque causa al giorno 28 (15,9% con IMI/REL e 21,3% con PIP/TAZ).

AZTREONAM/AVIBACTAM (AZT/AVI)

La combinazione *aztreonam/avibactam* (AZT/AVI) consente una azione sui batteri produttori di metallo β -lattamasi, grazie alla resistenza di AZT all'idrolisi da parte degli enzimi di Classe B, con la protezione fornita da AVI laddove vi fosse la produzione di enzimi di Classe A (ESBL) e C (AmpC) o D. Karlowsky *et al.* hanno valutato 11.842 isolati clinici di *Pseudomonas aeruginosa* da raccolte a livello mondiale negli anni 2012-2015. Le MIC₉₀ per AZT/AVI e AZT erano pari a 32 μ g/ml. Su isolati di *Pseudomonas aeruginosa* produttori di M β L le MIC₉₀ di aztreonam/avibactam (32 μ g/ml) erano 1-2 diluizioni inferiori rispetto ad aztreonam (64 μ g/ml), con distribuzioni di MIC

analoghe per aztreonam/avibactam e aztreonam in tutti gli isolati di *Pseudomonas aeruginosa* e produttori di MBL⁽¹³³⁾. **Inoltre, la combinazione AZT+CZA/AVI non ha mostrato sinergia su ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* produttori di IMP⁽¹⁷¹⁾.**

Infatti, sebbene la combinazione AZT/AVI (combinando aztreonam con il BLIC ceftazidime/avibactam) si sia rivelata promettente, soprattutto, nei

AZT/AVI e
Pseudomonas
aeruginosa

confronti delle MBL e β -lattamasi a serina negli *Enterobacterales*, **lo stesso non vale per i ceppi di *Pseudomonas aeruginosa*,**

a causa dei numerosi meccanismi di resistenza di cui è dotato il patogeno (pompe di efflusso, mutazioni delle porine e mutazio-

ni della PBP3), rendendo inefficace l'aggiunta di avibactam. Anche la tipologia di β -lattamasi e la frequenza con cui vengono espresse è differente in *Pseudomonas aeruginosa*, rendendo la colistina una delle ultime risorse nel trattamento di questi patogeni⁽¹⁷²⁾.

Alcuni casi di uso in combinazione con CZA/AVI e AZT sono disponibili dalla letteratura, sebbene con schemi terapeutici sostanzialmente differenti dai trials in corso^(173,174). In entrambi i casi, i ceppi erano produttori di MBL, confermati con i test di microbiologia (*time kill curves* o mediante E-test).

La formulazione AZT/AVI è tutt'ora in sviluppo clinico, con il completamento di due studi (fase 1 e 2a) ed uno studio di fase 3 attualmente in corso (termine di reclutamento previsto per il 2022). Lo studio di fase 1 di cinetica di popolazione ha gettato le basi per il dosaggio del trial di fase 2a (**REJUVENATE**)⁽¹⁷⁵⁾, con lo scopo di selezionare il dosaggio per lo studio di fase 3 attualmente in corso⁽¹⁷⁶⁾.

Quest'ultimo aveva infatti lo scopo di valutare la *safety*, la farmacocinetica (PK) e l'efficacia di AZT/AVI nei pazienti adulti ospedalizzati con infezioni cIAI sostenute da patogeni Gram-negativi.

Lo studio era costituito da 3 coorti di pazienti (per un totale di 40 pazienti arruolati) sottoposti a 3 regimi differenti di AZT/AVI, in base ai diversi schemi di posologia e alla funzionalità renale, come segue (per 5-14 giorni di terapia):

- Coorte 1:** pazienti con *clearance* della creatinina >50: 1 dose da carico AZT/AVI 500/137 mg IV somministrata in 30 min, mantenimento 1.500/410 mg 3 h, q6h (la prima somministrata subito dopo la dose da carico) IV in 30 min, + metronidazolo 500mg 1h IV, q8h;
- Coorte 2 e 3:** pazienti con *clearance* della creatinina >50: 1 dose da carico AZT/AVI 500/167 mg IV somministrata in 30 min, mantenimento 1.500/500 mg 3 h, q6h (la prima somministrata subito dopo la dose da carico) IV in 30 min, + metronidazolo 500mg 1h IV, q8h;
- Coorte 2 e 3:** pazienti con *clearance* della creatinina 31-50: 1 dose da carico AZT/AVI 500/167 mg IV somministrata in 30 min, una seconda dose da carico estesa con AZT/AVI 1500/500 mg 3 h mantenimento 750/250 mg, q6h (la prima somministrata dopo 3 h dalla dose da carico estesa) IV in 30 min, + metronidazolo 500mg 1h IV, q8h.

Le concentrazioni plasmatiche di AZT e AVI erano simili sia prima dell'infusione che a 6 ore, con una C_{max} a fine infusione nella coorte 1 di 62,5mg/l e 11,6 mg/l, e di 55,4mg/l e 12,1 nelle coorti 2 e 3, rispettivamente, di AZT e AVI, ed il raggiungimento dello *steady state* al giorno 4.

I dati di PK erano simili tra i gruppi ad eccezione delle coorti 2 e 3, dove AVI mostrava valori di AUC_{0-6} maggiori (in linea con un aumentato dosaggio).

Dallo studio si è quindi confermato il dosaggio delle coorti 2 e 3, impiegato nello studio registrativo di fase 3 (dose da carico di 500/167 mg somministrati in 30 min e dose di mantenimento pari a 1.500/500 mg somministrata in 3 h, q6h nei pazienti con ClCr >50 ml/min). Il 68,8% e 67,6% dei pazienti nelle coorti 1 e 2+3, rispettivamente, hanno registrato eventi avversi, di cui il più comune secondo la definizione MeDRA (*Medical Dictionary for Regulatory Activities preferred Term*) era l'aumento degli enzimi epatici, in maggioranza asintomatici e reversibile, sebbene vi fosse un aumento dei casi

di diarrea anche rispetto alle segnalazioni nell'RCP (nessuno da *C. difficile*)
Eventi avversi gravi (9 pazienti, 26,5%) sono stati riportati nelle coorti 1 e 2+3, legati a funzionalità epatica (3 pazienti) e renale (1 paziente). Due decessi registrati non sono stati imputati al farmaco.

Il 67,6% e 73,9% dei pazienti hanno riportato guarigione clinica alla fine del trattamento, rispettivamente, nelle MITT (*modified Intention to Treat*-tutti i pazienti arruolati e ai quali è stato somministrato il farmaco) e mMITT (*microbiologically evaluable modified Intention to treat*-popolazione ITT con diagnosi di cIAI e ≥ 1 patogeno intra-addominale isolato al basale), con una guarigione clinica alla *Test of Cure* (TOC, giorno 25) del 60% circa (58,8% nella MITT e 60,9% nella mMITT).

La maggior parte dei patogeni isolati erano *Enterobacterales*, con 1 isolato di *Pseudomonas aeruginosa* (MIC= 0,25 mg/l per AZT/AVI). Ventitre pazienti su 34 (67,6%) della mMITT presentavano infezioni provocate da *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca*. Nessuno dei ceppi era produttore di M β L o ESBL.

Lo studio conclude che il profilo di *safety* di AZT/AVI è in linea con quello di AZT in monoterapia, con un profilo rischio/beneficio favorevole, in attesa della valutazione definitiva di efficacia e *safety* derivante dallo studio di fase 3, in corso.

Lo studio NCT03580044 è uno studio prospettico, randomizzato multicentrico *open label* per la valutazione di efficacia, *safety* e tollerabilità della combinazione AZT/AVI *versus* la *best available therapy* per il trattamento dei pazienti con cIAI, polmonite nosocomiale (PN) incluse HAP, e VAP, cUTI o BSI da patogeni Gram-negativi produttori di M β L.

Lo studio prevede un numero di partecipanti pari a 60, randomizzati 2:1, con un massimo di infezioni cUTI pari a non oltre il 75% dei casi totali.

Il dosaggio di AZT segue lo schema seguente: 1 dose da carico AZT/AVI 500/167 mg IV oppure 675 mg AZT + 225 mg AVI somministrata in 30 min, mantenimento 1.500/500 mg 3 h, q6h (la prima somministrata subito dopo

la dose da carico) IV in 30 min, oppure 675 mg AZT e 225 mg AVI sempre in 3h. Dopo un *gap* di 3 o 5 h, i soggetti riceveranno una dose di mantenimento pari a 1.500 mg di AZT + 500 mg AVI ogni 6h o 750 AZT e 250 AVI ogni 6 h o 650 mg AZT + 225 AVI ogni 8 h. I soggetti con cIAI riceveranno anche metronidazolo 500 mg q8h somministrati via EV in 60 min, + metronidazolo 500mg 1h IV, q8h.

Un ulteriore studio di fase 3 (NCT03329092, REVISIT) prospettico, randomizzato multicentrico *open label* in cieco (*central assessor blinded*, ovvero con un comitato di assegnazione in cieco) è programmato per valutare efficacia, *safety* e tollerabilità di AZT/AVI ± metronidazolo (MTZ-solo per le cIAI) la combinazione di meropenem ± colistina (MER ± COL, a discrezione del clinico in base alla pratica clinica locale) per il trattamento di infezioni gravi sostenute da batteri Gram-negativi MDR produttori di MβL nei pazienti adulti (> 18 anni) con limitate opzioni di trattamento. Lo studio interventistico prevede l'arruolamento di 375 partecipanti in 158 siti, con il completamento a fine 2022. Il dosaggio stabilito di AZT/AVI varia in funzione della funzionalità renale.

I comparatori MER e COL vengono dosati in base alla funzionalità renale oppure in funzione dell'isolato: qualora vi sia un sospetto di resistenza a MER, questo verrà somministrato alla dose di 2g in 180 min q8h, anziché 1 g in 30 min q8.

L'*endpoint* primario è la proporzione dei pazienti con guarigione clinica nelle popolazioni ITT e CE al *Test of Cure* (TOC) ai giorni 28 ± 3 giorni.

A conclusione del capitolo *Pseudomonas aeruginosa*, viene proposto un algoritmo decisionale diagnostico-terapeutico per il trattamento delle infezioni da *Pseudomonas aeruginosa MDR* (Figura 26).

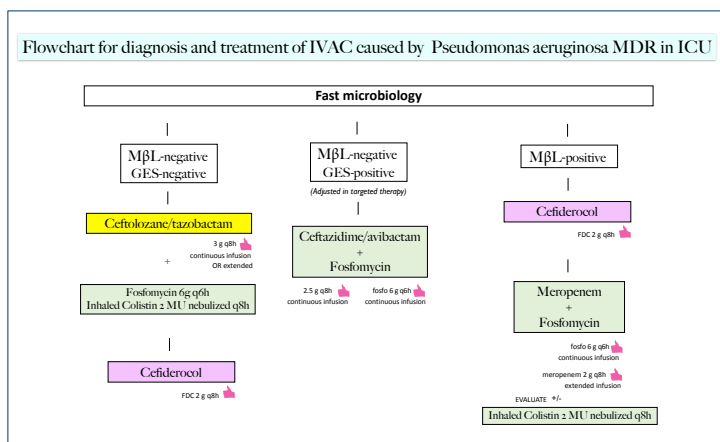


Figura 26. Algoritmo decisionale diagnostico-terapeutico per il trattamento delle polmoniti associate al ventilatore da *Pseudomonas aeruginosa* MDR.

Acinetobacter spp.

Acinetobacter è un coccobacillo Gram-negativo, aerobio, catalasi positivo ed ossidasi negativo.

L'assenza di caratteristiche microbiologiche precise, in *Acinetobacter*, ha fatto sì che, in un recente passato, non sia stato facile procedere ad una classificazione puntuale di specie. Dapprima *Acinetobacter* è stato classificato in: senza pigmento (*achromobacter*), senza movimenti (*acinetobacter*), non fermentante, non capace di ridurre i nitrati (*anitratus*) e, successivamente, in *Moraxella* (ossidasi positiva) ed *Acinetobacter* (ossidasi negativo).

Ad oggi risultano oltre 50 specie di *Acinetobacter*, di cui la maggior parte sono considerate non-patogene. Tra le specie considerate come patogeni opportunisti per l'uomo, i membri più rilevanti sono nel cluster ***Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* (Acb) complex**, che comprende *A. baumannii*, *A. nosocomialis*, *A. pittii*, *A. seifertii* e *A. dijkshoorniae* con il non-patogenico *A. calcoaceticus*. *Acineto-*

Acinetobacter calcoaceticus-baumannii (Acb) complex

bacter baumannii è considerato, dal punto di vista clinico, il più rilevante tra questi. La nuova tassonomia ha, tuttavia, incluso all'interno di una singola specie, più tipi di *Acinetobacter* a differente capacità invasiva e a differente virulenza. Infatti, *Acinetobacter baumannii*, indistinguibile fenotipicamente, è strettamente correlato ad *A. pittii* e *A. nosocomialis*, anche se possiede una differente virulenza. Inoltre, *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* (Acb) complex spesso è confuso con *A. Iwoffii* ed *A. radioresistant*, tipici colonizzanti della cute che possono dare infezione nei pazienti immuno-compromessi. *Acinetobacter* ambientali sono *A. calcoaceticus* e *A. johnsonii*.

► **La capacità di sopravvivere per lunghi periodi in ambienti ostili e la sua resistenza ai disinfettanti, ha consentito lo sviluppo di *Acinetobacter* in ambiente nosocomiale.** Alcuni ceppi di *Acinetobacter*

baumannii sono in grado di sopravvivere, in condizioni di assenza di acqua, fino a oltre cento giorni. Alla base di tale peculiarità troviamo molto probabilmente determinanti multifattoriali non ben note, anche se, però, le caratteristiche dei lipidi di membrana o la capacità di formazione di capsule e/o di biofilm sembrano giocare un ruolo importante.

Protezione
del genoma in
Acinetobacter

Oltre alla capacità di resistere alla perdita di acqua, **il batterio è in grado di proteggere il suo genoma dal danno provocato dalla reidratazione.** Questo grazie al ruolo protettivo delle **proteine RecA**, in grado di riparare il DNA mediante ricombina-

zione. Anche la capacità di acquisire resistenza alla rifampicina, in *Acinetobacter*, è stata correlata a tale fenomeno, il tutto all'interno di un processo combinato di essiccazione-idratazione, portando, così, all'ipotesi "provocatoria" della generazione del fenotipo MDR indotto dalla resistenza all'essiccazione stessa.

La resistenza in ambienti nosocomiali è coadiuvata anche dalla capacità di resistere allo stress ossidativo dei **ROS**, grazie all'espressione delle **catalasi KatG**, che lo rendono in grado di detossificare le componenti reattive dell'ossigeno, mentre l'espressione delle pompe quali **Acel** rendono inefficace l'azione disinfettante della clorexidina. Inoltre, l'uso di alcool è stato associato alla promozione di fattori di virulenza in *Acinetobacter baumannii*. Livelli fisiologici di alcool, infatti, sono in grado di impedire la fagocitosi dei ceppi di *Acinetobacter baumannii*. L'abuso di alcool è considerato un fattore di rischio associato ad infezione comunitaria da *Acinetobacter baumannii*⁽¹⁷⁷⁾.

► **La capacità di resistere all'azione dei ROS è esplicita anche nella sua evasione dell'immunità.** Nel polmone, la prima linea di difesa nei confronti di *Acinetobacter baumannii* è, infatti, rappresentata princi-

palmente dall'azione dei neutrofili, come suggerito da modelli sperimentali animali. *Acinetobacter baumannii* attrae rapidamente i neutrofili, che mediante *burst* ossidativo e produzione dei **NET** (*Neutrophil Extracellular Traps*) mirano all'eradicazione del patogeno. *Acinetobacter baumannii* ha la capacità di inibire la formazione dei **NET** nonostante la presenza di attivatori dei neutrofili (varie citochine e LPS, etc.) utilizzandoli come trasportatori (*in vitro*), mentre la capacità di detossificare le forme reattive H_2O_2 da parte delle **catalasi KatG** e **KatE** attenuano lo stress ossidativo indotto dai neutrofili⁽¹⁷⁸⁾.

BIOFILM

Come molti organismi produttori di biofilm, le specie di *Acinetobacter baumannii* sono in grado di produrre biofilm robusti su qualsiasi tipo di superficie clinicamente rilevante, quali superfici di ferite ma anche materiali abiotici o *devices*, tubi endotracheali, policarbonati e acciaio inossidabile, contribuendo notevolmente alle infezioni correlate a *devices* e assistenza.

La capacità di formare biofilm è data dal sistema di regolazione a due componenti denominato **BfmRS**⁽¹⁷⁹⁾, che a sua volta regola l'espressione del **sistema di tipo I *chaperone-usher pilus***, denominato ***pili Csu***⁽¹⁸⁰⁾. Il sistema ***pili Csu***, codificato da un operone a sei segmenti, *csuA/BABCDE*, insieme alle proteine biofilm-associate (*Bap*) gioca un ruolo cruciale per la formazione e il mantenimento del biofilm su superfici abiotiche. Un secondo sistema a due componenti, il **GacSA**, sembrerebbe controllare, a sua volta, l'espressione del sistema ***pili Csu*** contribuendo così, indirettamente, alla formazione del biofilm stesso⁽¹⁸¹⁾.

L'osservazione che livelli sub-inibitori di TMP/SMX reprimono completamente l'espressione del sistema ***pili Csu*** indica come l'uso inappropriato di antibiotici possa alterare la popolazione ed i comportamenti dei ceppi batterici, promuovendo lo stile di vita planctonico⁽¹⁷⁸⁾. Altri meccanismi coinvolti nella formazione di biofilm includono proteine di membrana come **OmpA**, a sua

volta coinvolta nella resistenza agli antibiotici e al siero⁽¹⁷⁸⁾.

Sebbene stiano emergendo caratteristiche comuni, non è stato caratterizza-

Strategia
"resist and persist"
in *Acinetobacter*
baumannii"

to alcun determinante genetico o alcuna particolare tossina comune tale da poter prevedere la virulenza del ceppo di *Acinetobacter baumannii*, ragion per cui si ritiene che la strategia adottata dal patogeno sia più del tipo **"resist and persist"**⁽¹⁷⁷⁾.

Acinetobacter baumannii può causare infezioni gravi in soldati con ferite di guerra, tanto che negli anni '90 è stato ribattezzato anche **Iraqibacter**⁽¹⁸²⁾ e spesso è causa di infezioni nei traumi da disastri naturali. Tali patologie, sebbene possano avere un'origine nosocomiale, spesso sono vere e proprie patologie comunitarie, tanto che si pensa a ceppi con fattori di virulenza o a specie con virulenze differenti all'interno dello stesso genere. Infatti, non sono rare le polmoniti comunitarie in pazienti che lavorano in fonderia o meningiti comunitarie. Ma nel nostro Paese, invece, *Acinetobacter* è tipicamente un patogeno nosocomiale che causa, nei pazienti critici, infezioni correlate all'assistenza⁽¹⁸³⁾. A livello globale, il 2% delle infezioni relative all'ambito assistenziale sono attribuibili ad *Acinetobacter baumannii*, ma nella maggior parte dei casi i ceppi presentano percentuali di resistenza ben più elevati rispetto agli altri patogeni Gram-negativi, raggiungendo quote di resistenza ai carbapenemi oltre il 75%, come in Italia, e tassi di multiresistenza pari al 70%, come in America Latina⁽¹⁷⁷⁾. Frequentemente è diagnosticato nelle polmoniti associate al ventilatore, ma può causare anche batteriemie, infezioni urinarie o, più raramente, addominali e della ferita chirurgica. La patologia più frequentemente associata ad *Acinetobacter baumannii* è la polmonite nosocomiale, con aumento della durata dell'ospedalizzazione e della mortalità⁽¹⁸⁴⁾. **Comunque, l'isolamento di *Acinetobacter baumannii* da materiale polmonare non è sufficiente per stabilire che sia il patogeno responsabile dell'infezione; infatti, è molto difficile distinguere la vera infezione dalla contaminazione.** La dimostrazione di coccobacilli Gram-negativi e cellule infiammatorie all'esame microscopico

potrebbe essere di aiuto per il clinico. La mortalità della polmonite aumenta in caso di batteriemia concomitante⁽¹⁸³⁾. A ulteriore dimostrazione che non tutte le specie di *Acinetobacter* sono uguali, la mortalità delle batteriemie causate da *Acinetobacter baumannii* (37%) è maggiore rispetto a quella causata da altre specie: *A. nosocomialis* (16%), *A. pittii* (14%)⁽¹⁸⁵⁾, per arrivare a quella da *A. junii* che è ancora più bassa.

MECCANISMI DI RESISTENZA

Acinetobacter spp. contengono cefalosporinasi cromosomiche di classe C di Ambler, denominate **Acinetobacter-derived cephalosporinases (ADC)**⁽¹⁸⁶⁾, capaci di idrolizzare le penicilline e le cefalosporine dalla prima alla terza generazione, inclusi ceftriaxone,

Acinetobacter-derived cephalosporinases (ADC)

ceftazidime e cefotaxime. L'attività del cefepime e dei carbapenemi nei confronti di questi ceppi è conservata, sebbene analogamente alle AmpC la loro espressione sia inducibile dall'esposizione alle molecole β -lattamiche⁽¹⁸⁷⁾.

La presenza di geni plasmidici di ESBL ha conferito la resistenza anche a cefepime. **Inoltre, in seguito *Acinetobacter* ha anche acquisito le**

oxacillinasi, che hanno determinato la resistenza anche ai carbapenemici: il gene **blaOXA-51** è cromosomico intrinseco, mentre altre oxacillinasi sono plasmidiche acquisite come quelle del gruppo 23, 24 (simili anche alle 33 e 40), 58, 143 e 235^(188,189). **Acinetobacter più raramente alberga metallo-enzimi, specie in isolati dall'Estremo Oriente, più frequenti VIM ed IMP e più raramente NDM-1 e 2.**

A fianco delle β -lattamasi sono molto importanti le mutazioni delle porine e delle pompe di efflusso. **Le pompe di efflusso possono essere la causa dell'etero-resistenza ai carbapenemi.** Gli enzimi alchilanti e metilanti sono quelli che conferiscono resistenza agli aminoglicosidi e le mutazioni della DNA girasi ai chinoloni. Tra i meccanismi di resistenza dovuti alla permeabilità di membrana, vi sono anche proteine di membrana come le **CarO**, indotte dalla presenza dei carbapenemi (come imipenem). Queste protei-

ne interagiscono direttamente con **OXA-23**, sicché al momento dell'ingresso di imipenem nel periplasma, la molecola viene immediatamente e rapidamente idrolizzata dalla β -lattamasi. Tra le proteine di membrana, inoltre, **OprD** e suoi ortologi sono coinvolti non solo nel trasporto del ferro ma anche di molecole antibiotiche come fosfomicina e meropenem, e mutazioni di tale proteina sono note per conferire resistenza ai carbapenemi stessi⁽¹⁷⁸⁾. La resistenza alle polimixine, in *Acinetobacter spp.*, è molto rara e dipende da mutazioni del lipo-polisaccaride che determinano cambio di carica elettrica della parete ma portano ad una ridotta *fitness* del batterio, che può spiegare come mai si è così poco diffusa. L'etero-resistenza alla colistina è motivo di preoccupazione per insorgenza di resistenza; mediando dalla etero-resistenza di *Serratia spp.* (presente in tutte le specie di *Serratia*) che si vince con la combinazione di colistina con altre molecole, l'etero-resistenza alla colistina, in *Acinetobacter*, se diagnosticata deve essere trattata come per *Serratia*. Infatti, la combinazione sinergica colistina e rifampicina è stata utilizzata, *in primis*, per *Serratia* e poi traslata in *Acinetobacter*⁽¹⁹⁰⁾.

Sono stati segnalati nel corso degli anni diversi *outbreaks* di *Acinetobacter baumannii* multi-drug resistant (MDR), tutti derivanti da pochi cloni raggruppati secondo 3 *Sequence Types* denominati **Cloni Internazionali tipo I, II e III (CC1, CC2, CC3)**⁽¹⁹¹⁾.

Tutti sono caratterizzati dalla presenza di diversi determinanti di resistenza e da una rapida espansione clonale a livello internazionale. Di fronte ad un ceppo di *Acinetobacter baumannii* (dato molecolare), senza alcun *pattern* di resistenza, ottenuto da positivizzazione di emocoltura o da campione respiratorio diretto profondo, cosa può ipotizzare un clinico (Figura 27)?

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

Figura 27. *Acinetobacter baumannii* MDR; antibiogramma molecolare.

Sicuramente solo una probabile sensibilità alla colistina. Infatti, per l'epidemiologia attualmente presente in alcuni Paesi, come l'Italia, è molto facile per un clinico attento ipotizzare l'antibiogramma fenotipico (Figura 28).

TERAPIA

La terapia delle infezioni gravi da *Acinetobacter baumannii* si è basata sull'uso dei β -lattamici per la loro capacità battericida, ma l'acquisizione di resistenza al cefepime ed ai carbapenemi ha comportato

per un lungo periodo l'utilizzo di molecole con meno capacità battericida, maggiore tossicità e caratteristiche farmacocinetiche peggiori. Tra i carbapenemi, non tutte le molecole hanno la stessa attività contro *Acinetobacter* e meropenem è considerato il migliore. **La nuova cefalosporina cefiderocol ha attività contro *Acinetobacter* e risulta al momento l'unico β -lattamico con attività contro questo microorganismo.** Gli studi registrativi hanno permesso di dimostrare attività anche nelle infezioni gravi da *Acinetobacter baumannii*, anche se nel corso della terapia sono stati registrati episodi di aumento della MIC, specie in monoterapia^(160,192).

Proprio a causa della sua innata resistenza e grazie alla sua persistenza, *Acinetobacter baumannii* è in grado di provocare *outbreaks* e resistere a gran parte degli agenti antimicrobici grazie alla sua notevole capacità di acquisire fattori di resistenza.

Poche opzioni terapeutiche hanno mantenuto capacità di restare attive

ANTIBIOTICI	MIC mg/l
Imipenem	>8 R
Meropenem	>8 R
Amikacina	>16 R
Gentamicina	>4 R
Trimetoprim/sulfam	>4 R
Levofloxacin	>2 R
Colistina	1 S

Figura 28. Antibiogramma fenotipico classico di *Acinetobacter baumannii* Carba R XDR/COS (Colistin Only Susceptible) - OXA-23.

Cefiderocol e
Acinetobacter
baumannii

in vitro. Tra le nuove molecole, nessuno dei nuovi BLIC è attivo nei confronti dei ceppi di *Acinetobacter baumannii*. Eravaciclina ha dimostrato possedere attività *in vitro* contro *A. baumannii*⁽¹⁹³⁾, ma la molecola nei trials non ha raggiunto la non inferiorità predefinita.

► **Tra le opzioni commercialmente disponibili, solo colistina e recentemente cefiderocol hanno mostrato attività significative nei confronti di questo patogeno.** Dati *in vitro* da studi di sorveglianza su oltre 20.000 isolati dal 2014-2018 hanno riportato *range* di suscettibilità per cefiderocol pari a 94,9% e 90,7% su ceppi di *Acinetobacter baumannii* da diversi siti di infezione, rispettivamente, suscettibili e resistenti ai carbapenemi, e pari a 97,6% e 84,1% per la colistina sempre su ceppi di *Acinetobacter baumannii*, rispettivamente, suscettibili e resistenti ai carbapenemi⁽¹⁹⁴⁾.

Nel corso degli anni 2014-2016, i valori di MIC₉₀ per cefiderocol hanno subito pochissima variabilità, passando da 1 mg/l a 4 mg/l sempre su ceppi di *Acinetobacter baumannii*⁽¹⁹⁵⁾.

Analizzando i dati degli studi di sorveglianza **SIDERO**⁽⁷⁵⁾, 236 ceppi non suscettibili ai carbapenemi (MIC>8 mg/l) mostravano *range* di MIC tra 0,015 e >64 per cefiderocol e ≤0,25 e >8 per colistina⁽¹⁹⁶⁾, con percentuali di suscettibilità pari al **94,9%** per cefiderocol e al **93,6%** per colistina.

Percentuali di suscettibilità oltre il 90% sono riportate per produttori di OXA-23 e OXA-24 *like*. **I ceppi con MIC >16mg/l nei confronti di cefiderocol erano tutti produttori di PER.**

Efficacia clinica di cefiderocol: CREDIBLE-CR e APEKS-NP

Nei **trials clinici**^(81,160), cefiderocol ha raggiunto la non inferiorità predefinita, pur osservando, però, nello studio **CREDIBLE-CR**⁽¹⁶⁰⁾ uno squilibrio in termini di mortalità in infezioni da *Acinetobacter baumannii* delle basse vie aeree. Gli studi registrativi per cefiderocol hanno arruolato pazienti con infezioni sostenute da *Acinetobacter baumannii*. Nello studio **APEKS-NP**⁽⁸¹⁾ (cefiderocol 2g TID *versus* meropenem alto dosaggio-HD 2g TID per il trattamento delle polmoniti nosocomiali), il 16% dei pazienti in entrambi i bracci presentava un'infezione

(HAP/VAP o HCAP) sostenuta da *Acinetobacter baumannii*. Nel braccio trattato con cefiderocol, il 70% (16/23) dei ceppi era produttore di carbapenemasi, mentre la distribuzione per sindrome era la seguente: HAP-14% (8/59), VAP-20% (12/59) e HCAP-11% (3/27). Nel braccio trattato con colistina, il 63% (15/24) era produttore di carbapenemasi, con la seguente distribuzione: HAP-18% (11/60), VAP-16% (10/64) e HCAP 13% (3/23). Il 52% (12/23) dei pazienti nel braccio cefiderocol con infezione da *Acinetobacter baumannii* nella popolazione *modified Intention to Treat* (mITT) ha ottenuto guarigione clinica al *Test of Cure* (7 giorni $\pm$ 2 giorni dalla fine del trattamento) *versus* il 58% (14/24) dei pazienti trattati con meropenem, con il 39% (9/23) e il 33% (8/24) di eradicazione microbiologica, rispettivamente, per cefiderocol e meropenem alto dosaggio. La mortalità (*endpoint* primario di efficacia) era del 32% (7/22) e del 25% (6/24) per la sottopopolazione con infezione da *Acinetobacter baumannii*, rispettivamente, per il braccio trattato con cefiderocol e meropenem HD. Lo studio **CREDIBLE-CR** per la valutazione dell'efficacia di cefiderocol *versus* la *Best Available Therapy* (BAT; fino a 3 antibiotici attivi sui Gram-negativi somministrati per via endovenosa) è stato disegnato per arruolare pazienti con infezioni sostenute da patogeni Gram-negativi resistenti ai carbapenemi. Nello studio sono stati inclusi pazienti con infezioni sostenute da *Acinetobacter baumannii CR*, rispettivamente, nei bracci cefiderocol e BAT, secondo le percentuali seguenti: 46% (37/87) e 45% (17/40), di cui nel gruppo con polmonite nosocomiale 65% (26/40) e 53% (10/19), nel gruppo infezioni del torrente ematico e sepsi 44% (10/23) e 50% (7/14) e nel gruppo infezioni complicate del tratto urinario 6% (1/17) nessun paziente nel gruppo BAT. L'*outcome* per l'*endpoint* primario era la guarigione clinica al *Test of Cure* (7 giorni $\pm$ 2 giorni dalla fine del trattamento). Nella popolazione di pazienti con infezioni da *Acinetobacter spp.*, il 41% (16/39) ed il 53% (9/17) dei pazienti, rispettivamente, nei bracci cefiderocol e BAT hanno registrato una guarigione clinica al TOC, con il 26% (10/39) ed il 29% (5/17) di eradicazione microbiologica. La mortalità al

giorno 28 era del 38% (16/42) nel braccio trattato con cefiderocol e del 18% (3/17) nel braccio BAT. **La mortalità nel gruppo trattato con cefiderocol non è stata attribuita a fattori specifici se non ad una sproporzione di pazienti con shock (26% nel gruppo cefiderocol versus 6% nel gruppo BAT) e maggiore numero di pazienti ricoverati in rianimazione (81% gruppo cefiderocol versus 47% gruppo BAT).** Solo 2 pazienti con infezione da *Acinetobacter spp.* aveva MIC >2mg/l. Di questi, uno con MIC 4mg/l (produttore di OXA-23 e NDM) ha ottenuto guarigione clinica con *outcome* favorevole e sopravvivenza al giorno 28, mentre il secondo con MIC ≥16mg/l produttore di OXA-23 *like* ha registrato fallimento clinico ed è deceduto. L'espressione di fattori molteplici di resistenza del genere *Acinetobacter baumannii* tra cui β-lattamasi di tipo **PER e NDM determinano un aumento delle MIC in vitro**. In vivo, un aumento delle MIC è verosimilmente determinato dall'espressione di ADC. In ogni caso, un'azione sinergica è osservabile in associazione con altre molecole, tra cui sulbactam e avibactam⁽¹⁹⁷⁾. Seppur limitati, esistono diversi casi di uso **real-life di cefiderocol** nel trattamento di queste infezioni grazie al programma di uso compassionevole (Tabella VII).

Ruolo delle β-lattamasi PER e NDM in *Acinetobacter baumannii*

Cefiderocol in real-life

Tra gli inibitori delle β-lattamasi, nessuna delle nuove molecole (avibactam, vaborbactam e relebactam) ha attività contro le oxacillinasi di *Acinetobacter* (avibactam è in grado di bloccare solo OXA-48 delle *Enterobacterales*), né contro i metallo-enzimi; pertanto, le nuove combinazioni non sono attive contro *Acinetobacter*. Il vecchio inibitore suicida β-lattamico delle β-lattamasi, **sulbactam**, ha attività contro *Acinetobacter*. In un primo periodo si è pensato per una sua attività contro le oxacillinasi, in seguito si è pensato ad un meccanismo diverso e cioè che sulbactam abbia affinità e riesca ad acilare le PBP di *Acinetobacter* e così riesca ad esercitare un'attività antibatterica. In effetti l'attività antibatterica di sulbactam contro *Acinetobacter* è mediata dall'inibizione delle PBP1a e delle PBP3, ma non del-

AUTORE	DETERMINANTE DI RESISTENZA	DIAGNOSI	COMBINAZIONE	OUTCOME
Trecarichi <i>et al.</i> ⁽¹⁹⁸⁾	-	VAP/BSI	-	Successo
Zingg <i>et al.</i> ⁽¹⁹⁹⁾	OXA-23 + OXA-58 OXA-23 OXA-40+NDM	Osteomielite	FDC+COL+ DAPTO+FLUCO FDC+COL+CZA/AVI FDC+COL	Successo
Dagher <i>et al.</i> ⁽²⁰⁰⁾	-	Osteomielite	FDC+DAPTO+VANCO	Successo
Falcone <i>et al.</i> ⁽²⁰¹⁾	-	5X BSI 2X VAP	- 1X FDC+FOS	Successo 4% Successo 1/2
Bavaro <i>et al.</i> ⁽²⁰²⁾	-	5X BSI e shock 2X BSI 2 VAP (+BSI) 1 ascesso epatico	FDC+FOS/COL/ MEM/TGC FDC+ COL/FOS FDC+ TGC+COL/FOS FDC+ COL/FOS + DAPTO	Successi (decessi per altre cause)
Oliva <i>et al.</i> ⁽²⁰³⁾	XDR PDR XDR	VAP BSI Spondilodiscite	-	Successo

Tabella VII. *Uso compassionevole di cefiderocol in vivo.*

la PBP2, e la resistenza al sulbactam è rara ⁽²⁰⁴⁾. I pochi ceppi resistenti hanno mutazioni della PBP3 che, comunque, è gravata da una perdita di *fitness* del batterio. **Grande attrattiva terapeutica è data attualmente dall'associazione sulbactam più fosfomicina (FOS/SUL) pur essendo *Acinetobacter* geneticamente resistente alla fosfomicina per effetto delle sue pompe di efflusso.** Lim *et al.* testando, mediante metodo *checkerboard*, il sinergismo di FOS/SUL su 50 isolati di *Acinetobacter*

baumannii resistenti ai carbapenemi (CR-AB), hanno evidenziato un effetto sinergico nel 74% dei casi; in nessun caso si registrava antagonismo. Le MIC₅₀ e le MIC₉₀ di FOS/SUL venivano ridotte da 4 a 8 volte, comparate alla monoterapia. La riduzione dei valori di MIC, associata a una PTA (*Probability Target Attainment*) di abbattimento della carica batterica di 2-log₁₀, pone potenzialmente tale terapia tra le più efficaci a nostra disposizione nel trattare infezioni gravi da CR-AB⁽²⁰⁵⁾.

**Effetto delle
OXA sul
sulbactam**

Le **OXA sono inibite parzialmente dal sulbactam**; infatti, risulta sensibile all'idrolisi da parte di alcune di queste, tra cui principalmente OXA-23 che notoriamente non è inibita dal sulbactam. Non resiste all'idrolisi da parte di altre ESBL quali TEM, ma anche delle β -lattamasi di classe C come ADC⁽²⁰⁶⁾. L'aggiunta di avibactam al sulbactam (in minore misura relebactam) riesce a ripristinare l'efficacia del sulbactam riducendo di più di 2 diluizioni le sue MIC nell'89% dei casi su 187 isolati di *Acinetobacter* MDR testati, come evidenziato da Pasteran *et al.*⁽²⁰⁷⁾. Avibactam potrebbe interferire o by-passare la normale protezione da tossicità indotta dai β -lattamici mediata dal sistema regolatorio **BfmRS** oppure potrebbe fungere da ipotetico mediatore per una ipersensibilità al sulbactam grazie all'interazione con **advA**⁽²⁰⁸⁾, importante proteina di divisione cellulare in *Acinetobacter*. Analogamente, l'aggiunta di inibitori delle β -lattamasi a serina quali avibactam era in grado di ripristinare e potenziare l'attività di cefiderocol nei ceppi produttori di PER e con MIC >8 mg/l⁽²⁰⁹⁾. Curiosamente, alcune OXA di *Acinetobacter* sono suscettibili a elevate concentrazioni di sodio (>50 a 75 mM, OXA 25 e OXA 26). Non è chiaro ma potrebbe essere dovuto ad una variazione aminoacidica da *Tyr* a *Phe*⁽²¹⁰⁾.

Anche l'associazione **sulbactam/meropenem**, in linea teorica, rappresenta un'ulteriore opzione terapeutica: la PBP2 di *Acinetobacter* è inibita fortemente dal meropenem mentre sulbactam, come evidenziato sopra, inibisce principalmente la PBP1a e -3 facendo sì che tale associazione sia potenzialmente in grado di inibire tutte e tre le PBP di *Acinetobacter*⁽²¹¹⁾. D'altro can-

to, **cefiderocol** inibisce principalmente la PBP3 di *Acinetobacter*⁽¹³⁸⁾ e la sua associazione con sulbactam potrebbe, quindi, potenziare la sua difesa nei confronti di resistenza indotta. Dati *in vitro* mostrano, infatti, un'azione sinergica nei confronti di ceppi con MIC elevate⁽²¹²⁾. Usando metodi bayesiani per valutare l'efficacia di numerosi schemi terapeutici per la polmonite da *Acinetobacter baumannii* MDR, sulbactam è risultato quello più efficace sulla mortalità⁽²¹³⁾. Infatti, nella metanalisi di Jung *et al.* sulbactam (SUL) ad alte dosi (9 g/die o dosi ancora maggiori) insieme a colistina endovenosa associata a colistina per via inalatoria (IV COL + IH COL) sono apparsi superiori ai regimi colistinici in monoterapia, in termini di sopravvivenza e di cura clinica (SUL p=98,1%, IV COL+IH COL p=99,9%)⁽²¹³⁾. Anche Liu *et al.*, recentemente, tramite una NMA (*Network Meta-Analysis*) includente sia evidenze dirette che indirette, hanno ulteriormente supportato l'utilizzo di **sulbactam ad alte dosi (> 6 g/die) in combo therapy con altre molecole come la colistina e/o la tigeciclina** nel trattare con efficacia infezioni gravi da *Acinetobacter baumannii* MDR e XDR⁽²¹⁴⁾. Diverse sono le evidenze che supportano l'infusione continua di sulbactam per aumentarne l'efficacia e per potenziarne la sua eventuale associazione con le polimixine^(190,215). Quest'ultime per decenni hanno rappresentato il *backbone* terapeutico per il trattamento delle infezioni gravi da *Acinetobacter*. Nelle meningiti e ventricoliti da *Acinetobacter baumannii*, la via preferenziale di somministrazione della **colistina** appare quella **intratecale** ad una dose media di 125.000 UI (10 mg) una volta al giorno. Da una *review* della letteratura, Karaiskos *et al.* riportano un tasso di successo terapeutico dell'89%, rendendo tale via di somministrazione sicura ed efficace⁽²¹⁶⁾. Chusri *et al.*, rinforzando tale dato, riportano una significativa riduzione del tasso di mortalità, in pazienti affetti da meningo-ventricolite post-chirurgica da *Acinetobacter baumannii*, se trattati con colistina intratecale o intraventricolare (ITH/IVT) rispetto alla sola colistina endovenosa (mortalità a 14 gg 24% vs 38%, a 30 gg

Ruolo del
sulbactam ad alte
dosi in
combo therapy

Dosaggio
colistina
intratecale

29% vs 56%, ospedaliera 29% vs 56%) ⁽²¹⁷⁾.

Indubbiamente, per la pessima cinetica e penetrabilità polmonare, la via elettiva di somministrazione di colistina per infezioni delle basse vie aeree (VAP) da *Acinetobacter baumannii* è quella inalatoria, a patto però di utilizzare *devices* efficaci (*vibrating mesh nebulizers*). Zheng *et al.*, addirittura, analizzando in multivariata 183 pazienti con polmonite da *Acinetobacter baumannii* trattati con colistina per almeno 7 giorni, hanno evidenziato il dato che la colistina inalatoria (IH) era il solo predittore indipendente di mortalità a 30 giorni, di risposta clinica e di eradicazione microbiologica a differenza della colistina endovenosa che appariva, invece, predittore indipendente di fallimento clinico. La nefrotossicità, inoltre, era del tutto diversa tra le due modalità di somministrazione (37,5% vs 6,1%, $p=0,001$ della inalatoria) ⁽²¹⁸⁾. Dosaggio validato, nel paziente critico, di colistina per via endovenosa: 9 MU di *loading dose* in tre ore seguiti da 4,5 MU sempre in 3 ore ogni 12 ore ⁽²¹⁹⁾. La **colistina** è stata associata in regimi di **combo therapy** con rifampicina, sulbactam e/o tetraciline. **Tuttavia, da un'analisi della letteratura, si evince che nessuna delle combo therapy a base colistinica utilizzate ha raggiunto risultati conclusivi in termini di efficacia.** Durante-Mangoni *et al.*, randomizzando (1:1) 210 pazienti, ricoverati in terapia intensiva, con gravi infezioni da *Acinetobacter baumannii* XDR, hanno evidenziato che l'aggiunta della rifampicina alla colistina non riduceva il tasso di mortalità a 30 giorni né la durata dell'ospedalizzazione; tuttavia, si assisteva, nel gruppo colistina/rifampicina, ad un significativo incremento dell'eradicazione microbiologica ($p=.034$) ⁽²²⁰⁾. Questo studio, comunque, usava la colistina ancora a 2 MU ogni 8 ore senza dose di carico. Uno studio prospettico colistina *versus* colistina più meropenem in gravi infezioni nosocomiali (BSI, VAP, HAP, cUTI) da patogeni Gram-negativi resistenti ai carbapenemi (*Acinetobacter baumannii* 77%) non ha mostrato superiorità della combinazione rispetto alla monoterapia ⁽²²¹⁾. Nessuna differenza, infatti, si registrava, in termini di fallimento terapeutico a 14 giorni dalla randomizza-

zione, tra il braccio colistina in monoterapia e il braccio colistina + meropenem [79% vs 73% - *risk difference*-5.7%, IC 95%: -13.9 -2.4; *risk ratio* (RR) 0.93, IC 95%: 0.83-1.03].

Questi studi fanno sorgere il dubbio sulla popolazione in studio: siamo certi che le polmoniti nosocomiali arruolate siano tali o se invece *Acinetobacter baumannii* sia solo un contaminante? Infatti, quando si studiano le batteriemie da *Acinetobacter baumannii*, anche se retrospettivamente, si trova un'assoluta superiorità della combinazione rispetto alla monoterapia⁽²²²⁾.

Tigeciclina mantiene attività *in vitro* contro *Acinetobacter baumannii*.

La maggioranza degli studi clinici, pubblicati in letteratura, sono però, retrospettivi e quasi tutti sempre in regimi di **combo therapy** con altre molecole. Tuttavia, l'attività clinica del farmaco è confermata quasi sempre, ma a causa del suo ampio volume di distribuzione, della bassa concentrazione ematica e del fatto che negli studi registrativi ha fallito nella terapia della polmonite, attualmente il suo utilizzo, soprattutto in monoterapia, è messo sempre più in forte discussione. Principale determinante negativo, quando si usa tigeciclina (TGC) in infezioni da *Acinetobacter baumannii* è, come riportato da Shao Hua *et al.*, l'incremento delle MIC in corso di terapia e le basse concentrazioni del farmaco che vengono raggiunte a dosaggi convenzionali⁽²²³⁾. Yang *et al.*, recentemente, analizzando con metodo HPLC-MS/MS 186 campioni di plasma provenienti da 67 pazienti con gravi infezioni da *Acinetobacter baumannii* MDR, hanno evidenziato che solo utilizzando alte dosi di TGC (100 mg di mantenimento ogni 12 ore preceduti da *loading dose* di 200 mg) è possibile raggiungere una buona risposta clinica in termini di efficacia⁽²²⁴⁾. L'efficacia clinica di TGC, antibiotico tempo-dipendente con un lungo effetto post-antibiotico (PAE), si raggiunge solo quando il rapporto $AUC_{0-24}/(fAUC_{0-24})/MIC$ è superiore a 0,9. Ai dosaggi standard, soprattutto, in distretti come il torrente ematico, tale rapporto non viene mai raggiunto. Per la determinazione della MIC, inoltre, mandatorio è ricorrere alla broddiluizione onde evitare errori grossolani di tasso di suscettibilità.

A tal proposito, sempre Yang *et al.* riportano un tasso di suscettibilità alla TGC degli isolati di *Acinetobacter baumannii* (AB), inseriti nello studio, del 65,67% con MIC determinate in broddiluizione, del 5,97% in Agar diluizione e dello 0,75% in disco diffusione. La **minociclina**, disponibile nella formulazione endovena in alcuni Paesi, potrebbe essere una altra valida alternativa.

Beganovic *et al.* simulando *in vitro*, con un modello farmacodinamico, l'impatto di minociclina sia a dose standard (200 mg di *loading dose* + 100 mg q12h), sia a dosi maggiorate (700 mg di *loading dose* + 350 mg q12h), di colistina (2,5 mg/kg q12h), di sulbactam (9g/24h) e di meropenem (6 g/24h in infusione estesa) su isolati di CRAB (*Carbapenem-Resistance Acinetobacter baumannii*), hanno evidenziato che solo la terapia tripla con alte dosi di minociclina, infusione continua di sulbactam e di polimixina, produceva l'effetto *killing* più significativo⁽²²⁵⁾. Tuttavia, l'utilizzo delle tetracicline, anche in **combo therapy**, nel trattare infezioni gravi da *Acinetobacter baumannii* deve essere considerato sempre con grande cautela. Infatti, la pompa di efflusso TetA(G) di *Acinetobacter baumannii* AYE conferisce resistenza ad una grande varietà di tetracicline, tra cui doxiciclina e minociclina stessa; unica esclusa rimane la tigeciclina. L'espressione del gene TetA(G) è regolata dal repressore TetR (AbTetR); tigeciclina si lega a tale repressore ma non viene trasportata dalla pompa di efflusso TetA(G)⁽²²⁶⁾.

Da ultimo di grande interesse, tra le opzioni future, troviamo il sulbactam/durlobactam (SUL/DUR). Quest'ultimo è un nuovo inibitore a serina delle β -lattamasi, capace di ripristinare l'attività di sulbactam in ceppi di *Acinetobacter baumannii* resistenti. Seifert *et al.*, valutando la sensibilità di 246 ceppi di AB-CR a diversi antimicrobici tra cui sulbactam/durlobactam, hanno evidenziato un'eccellente attività di quest'ultimo del tutto comparabile a quella di colistina ma ben superiore a quella di amikacina, minociclina e sulbactam (MIC_{50/90} di sulbactam/durlobactam 1/4 e 2/4 mg/l vs 0,5 e 1 mg/l di colistina, 256/<512 di amikacina, 2/16 di minociclina e 16/64 di sulbactam)⁽²²⁷⁾.

Rara appare la resistenza a SUL/DUR e quando presente sembra mediata da metallo- β -lattamasi (come NDM-1) o da mutazioni della PBP3, *target* principale di sulbactam⁽²²⁸⁾.

A conclusione del capitolo, viene proposto un algoritmo decisionale a guida microbiologica per il trattamento delle infezioni gravi del paziente critico da *Acinetobacter baumannii* MDR/XDR (Figura 29).

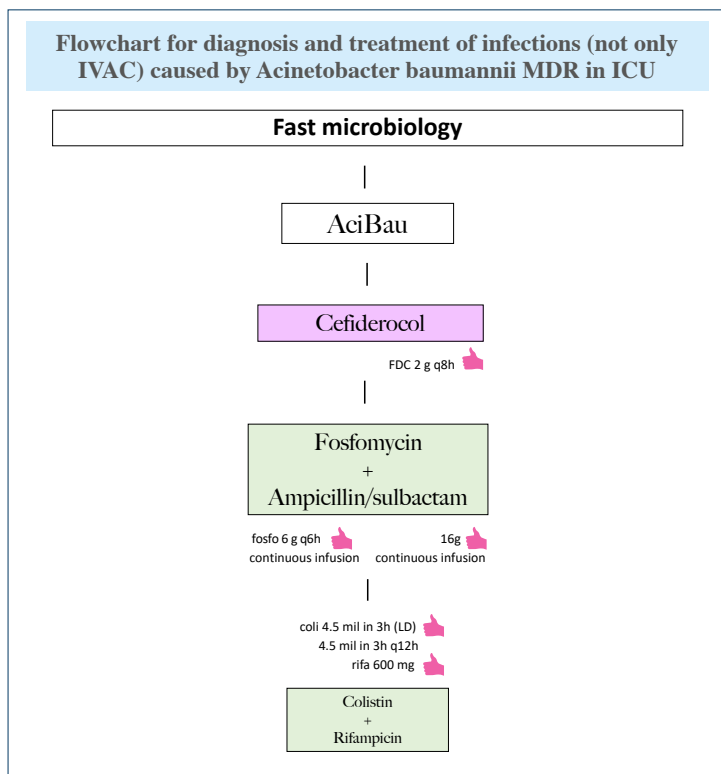


Figura 29. Algoritmo decisionale diagnostico/terapeutico per il trattamento delle infezioni da *Acinetobacter baumannii* MDR/XDR.

Bibliografia

1. Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, et al; Burden of AMR Collaborative Group. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *Lancet Infect Dis*. 2019;19(1): 56-66.
2. Janda JM, Abbott SL. The changing face of the family Enterobacteriaceae (Order: "Enterobacterales"): new members, taxonomic issues, geographic expansion, and new diseases and disease syndromes. *Clin Microbiol Rev*. 2021; 34(2):e00174-20.
3. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*. 2004;2(2):123-40.
4. Hu J, Torres AG. Enteropathogenic *Escherichia coli*: foe or innocent bystander? *Clin Microbiol Infect*. 2015;21(8): 729-34.
5. Russo TA, Marr CM. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Microbiol Rev*. 2019;32(3):e00001-19.
6. Catalán-Nájera JC, Garza-Ramos U, Barrios-Camacho H. Hypervirulence and hypermucoviscosity: Two different but complementary *Klebsiella* spp. phenotypes? *Virulence*. 2017;8(7):1111-23.
7. Xie M, Dong N, Chen K, et al. A hybrid plasmid formed by recombination of a virulence plasmid and a resistance plasmid in *Klebsiella pneumoniae*. *J Glob Antimicrob Resist*. 2020;23: 466-70.
8. Lam MMC, Wyres KL, Wick RR, et al. Convergence of virulence and MDR in a single plasmid vector in MDR *Klebsiella pneumoniae* ST15. *J Antimicrob Chemother*. 2019;74(5):1218-22.
9. EUCAST Intrinsic Resistance & Unusual Phenotypes v 3.2. Available at: http://www.eucast.org/expert_rules_and_intrinsic_resistance/.
10. Shaikh S, Fatima J, Shakil S et al. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: types, epidemiology and treatment. *Saudi J Biol Sci*. 2015;22(1):90-101.
11. Soughakoff W, Goussard S, Courvalin P. TEM-3 β -lactamases which hydrolyzes broad-spectrum cephalosporins is derived from TEM-2 penicillinases by two amino acid substitutions. *FEMS Microbiol Lett*. 1988;56(3):343-8.
12. Naas T, Oueslati S, Bonnin RA, et al. Beta-lactamase database (BLDB) - structure and function. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2017;32(1):917-9.
13. Tooke CL, Hinchliffe P, Bragginton EC, et al. β -lactamases and β -lactamase inhibitors in the 21st Century. *J Mol Biol*. 2019;431(18):3472-500.
14. Bush K. Game changers: new β -lactamase inhibitor combinations targeting antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *ACS Infect Dis*. 2018;4(2):84-7.
15. 1Haider G, Clancy CJ, Chen L, et al. Identifying spectra of activity and therapeutic niches for ceftazidime-avibactam and imipenem-relebactam against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(9):e00642-17.
16. Compain F, Arthur M. Impaired inhibition by avibactam and resistance to the ceftazidime-avibactam combination due to the D179Y substitution in the KPC-2 β -lactamase. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(7):e00451-17.
17. Shields RK, Chen L, Cheng S, et al. Emergence of ceftazidime-avibactam resistance due to plasmid-borne blaKPC-3 mutations during treatment of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(3):e02097-16.
18. Humphries RM, Hemarajata P. Resistance to ceftazidime-avibactam in *Klebsiella pneumoniae* due to porin mutations and the increased expression of KPC-3. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(6):e00537-17.
19. Evans BA, Amyes SG. OXA β -lactamases. *Clin Microbiol Res*. 2014;27(2): 241-63.
20. Yoon EJ, Jeong SH. Class D β -lactamases. *J Antimicrob Chemother*. 2021;76(4):836-64.
21. Ryan K, Karve S, Peeters P, et al. The impact of initial antibiotic treatment failure: real-world insights in healthcare-asso-

- ciated or nosocomial pneumonia. *J Infect*. 2018;77(1):9–17.
22. Peeters P, Ryan K, Karve S, et al. The impact of initial antibiotic treatment failure: real-world insights in patients with complicated, health care-associated intra-abdominal infection. *Infect Drug Resist*. 2019;12:329–43.
 23. Shiber S, Yahav D, Avni I, et al. β -Lactam/ β -lactamase inhibitors versus carbapenems for the treatment of sepsis: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Antimicrob Chemother*. 2015;70(1):41–7.
 24. Vardakas KZ, Tansarli GS, Rafailidis PI, Falagas ME. Carbapenems versus alternative antibiotics for the treatment of bacteraemia due to Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β -lactamases: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67(12):2793–803.
 25. Harris PN, Yin M, Jureen R, et al. Comparable outcomes for β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations and carbapenems in definitive treatment of bloodstream infections caused by cefotaxime-resistant *Escherichia coli* or *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2015;4:14.
 26. Gutiérrez-Gutiérrez B, Pérez-Galera S, Salamanca E, et al. A multinational, preregistered cohort study of β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations for treatment of bloodstream infections due to extended-spectrum- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(7):4159–69.
 27. Ng TM, Khong WX, Harris PN et al. Empiric piperacillin-tazobactam versus carbapenems in the treatment of bacteraemia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. *PLoS One*. 2016;11(4):e0153696.
 28. Gudiol C, Royo-Cebrecos C, Abdala E et al. Efficacy of β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations for the treatment of bloodstream infection due to extended-spectrum- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in hematological patients with neutropenia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(8):e00164–17.
 29. Delgado-Valverde M, Torres E, Valiente-Mendez A, et al; REIPI/GEIH-SEIMC BACTERAEEMIA-MIC Group. Impact of the MIC of piperacillin/tazobactam on the outcome for patients with bacteraemia due to Enterobacteriaceae: the Bacteraemia-MIC project. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71(2):521–30.
 30. EUCAST Piperacillin-tazobactam Breakpoints for Enterobacterales. General Consultation 10 July–18 September 2020. Available at: https://www.eucast.org/publications_and_documents/consultations/.
 31. Kalaria SN, Gopalakrishnan M, Heil EL. A population pharmacokinetics and pharmacodynamic approach to optimize tazobactam activity in critically ill patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020;64(3):e02093–19.
 32. Pea F. Intracellular pharmacokinetics of antibacterials and their clinical implications. *Clin Pharmacokinet*. 2018;57(2):177–89.
 33. Harris PNA, Tambyah PA, Lye DC, et al; MERINO Trial Investigators and the Australasian Society for Infectious Disease Clinical Research Network (ASID-CRN). Effect of piperacillin-tazobactam vs meropenem on 30-day mortality for patients with *E coli* or *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection and ceftriaxone resistance: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2018;320(10):984–94.
 34. Paterson DL, Henderson A, Harris PNA. Current evidence for therapy of ceftriaxone-resistant Gram-negative bacteremia. *Curr Opin Infect Dis*. 2020;33(1):78–85.
 35. Solomkin J, Hershberger E, Miller B, 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-cAI). *Clin Infect Dis*. 2015;60(10):1462–71.
 36. Wagenlehner FM, Umeh O, Steenberg J, et al. Ceftolozane-tazobactam compared with levofloxacin in the treatment of complicated urinary-tract infections, including pyelonephritis: a randomised, double-blind, phase 3 trial (ASPECT-cUTI). *Lancet*. 2015;385(9981):1949–56.
 37. Huntington JA, Sakoulas G, Umeh O, et al. Efficacy of ceftolozane/tazobactam versus levofloxacin in the treatment of complicated urinary tract infections (cUTIs) caused by levofloxacin-resistant pathogens: results from the ASPECT-cUTI

- trial. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(7):2014-21.
38. Popejoy MW, Paterson DL, Cloutier D, et al. Efficacy of ceftolozane/tazobactam against urinary tract and intra-abdominal infections caused by ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: a pooled analysis of phase 3 clinical trials. *J Antimicrob Chemother.* 2017;72(1):268-72.
39. Hirsch EB, Brigman HV, Zucchi PC, et al; CEFTABUSE Study Group. Ceftolozane-tazobactam and ceftazidime-avibactam activity against β -lactam-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriales* clinical isolates from U.S. medical centres. *J Glob Antimicrob Resist.* 2020;22:689-94.
40. Bassetti M, Vena A, Giacobbe DR et al. Ceftolozane/tazobactam for treatment of severe ESBL-producing *Enterobacteriales* infections: a multicenter nationwide clinical experience (CEFTABUSE II Study). *Open Forum Infect Dis.* 2020;7(5):ofaa139.
41. Kollef MH, Nováček M, Kivistik Ü, et al. Ceftolozane-tazobactam versus meropenem for treatment of nosocomial pneumonia (ASPECT-NP): a randomised, controlled, double-blind, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet Infect Dis.* 2019;19(12):1299-311.
42. Isler B, Harris P, Stewart AG, Paterson DL. An update on cefepime and its future role in combination with novel β -lactamase inhibitors for MDR *Enterobacteriales* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother.* 2021;76(3):550-60.
43. Paterson DL. "Collateral damage" from cephalosporin or quinolone antibiotic therapy. *Clin Infect Dis.* 2004;38 Suppl 4:S341-5.
44. Lasko MJ, Abdelraouf K, Nicolau DP. In Vivo activity of WCK 4282 (high-dose cefepime/tazobactam) against serine- β -lactamase-producing *Enterobacteriales* and *Pseudomonas aeruginosa* in the neutropenic murine lung infection model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2021;65(4):e02193-20.
45. Rodríguez-Baño J, Gutiérrez-Gutiérrez B, Machuca I, Pascual A. Treatment of infections caused by extended-spectrum-Beta-lactamase-, AmpC-, and carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Clin Microbiol Rev.* 2018;31(2):e00079-17.
46. Bassetti M, Russo A, Carnelutti A, Wilcox M. Emerging drugs for treating methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Expert Opin Emerg Drugs.* 2019;24(3):191-204.
47. Connors KP, Housman ST, Pope JS, et al. Phase I, open-label, safety and pharmacokinetic study to assess bronchopulmonary disposition of intravenous eravacycline in healthy men and women. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(4):2113-8.
48. Meini S, Tascini C, Cei M, et al. AmpC β -lactamase-producing *Enterobacteriales*: what a clinician should know. *Infection.* 2019;47(3):363-75.
49. Tamma PD, Doi Y, Bonomo RA, et al; Antibacterial Resistance Leadership Group. A primer on AmpC β -Lactamases: necessary knowledge for an increasingly multidrug-resistant world. *Clin Infect Dis.* 2019;69(8):1446-55.
50. Jacoby GA. AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2009;22(1):161-82, Table of Contents.
51. Lee NY, Lee CC, Li CW, et al. Cefepime therapy for monomicrobial *Enterobacter cloacae* bacteremia: unfavorable outcomes in patients infected by cefepime-susceptible dose-dependent isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(12):7558-63.
52. Harris PNA, Wei JY, Shen AW et al. Carbapenems versus alternative antibiotics for the treatment of bloodstream infections caused by *Enterobacter*, *Citrobacter* or *Serratia* spp: a systematic review with meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(2):296-306.
53. Tan SH, Ng TM, Chew KL, et al. Outcomes of treating AmpC-producing *Enterobacteriales* bacteraemia with carbapenems vs. non-carbapenems. *Int J Antimicrob Agents.* 2020;55(2):105860.
54. Isler B, Ezure Y, Romero JLG, et al. Is ceftazidime/avibactam an option for serious infections due to extended-spectrum-

- β -lactamase- and AmpC-producing Enterobacterales? A systematic review and meta-analysis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;65(1):e01052-20.
55. Compain F, Debray A, Adjadj P, et al. Ceftazidime-avibactam resistance mediated by the N346Y substitution in various AmpC β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(6):e02311-19.
 56. Lahiri SD, Giacobbe RA, Johnstone MR, Alm RA. Activity of avibactam against *Enterobacter cloacae* producing an extended-spectrum class C β -lactamase enzyme. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69(11):2942-6.
 57. Shields RK, Iovleva A, Kline EG, et al. Clinical evolution of AmpC-mediated ceftazidime-avibactam and cefiderocol resistance in *Enterobacter cloacae* complex following exposure to cefepime. *Clin Infect Dis.* 2020;71(10):2713-6.
 58. Soman R, Bakthavatchalam YD, Nadarajan A, et al. Is it time to move away from polymyxins? Evidence and alternatives. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2021;40(3):461-75.
 59. Shields RK, Nguyen MH, Chen L, et al. Ceftazidime-avibactam is superior to other treatment regimens against carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(8):e00883-17.
 60. Tumbarello M, Trecarichi EM, Corona A, et al. Efficacy of ceftazidime-avibactam salvage therapy in patients with infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*. *Clin Infect Dis.* 2019;68(3):355-64.
 61. Onorato L, Di Caprio G, Signoriello S, Coppola N. Efficacy of ceftazidime/avibactam in monotherapy or combination therapy against carbapenem-resistant Gram-negative bacteria: a meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents.* 2019;54(6):735-40.
 62. Karaikos I, Daikos GL, Gkoufa A, et al; Hellenic Ceftazidime/Avibactam Registry Study Group. Ceftazidime/avibactam in the era of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: experience from a national registry study. *J Antimicrob Chemother.* 2021;76(3):775-783.
 63. Haidar G, Clancy CJ, Chen L, et al. Identifying spectra of activity and therapeutic niches for ceftazidime-avibactam and imipenem-relebactam against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(9):e00642-17.
 64. Bianco G, Boattini M, Iannaccone M, et al. Bloodstream infection by two subpopulations of *Klebsiella pneumoniae* ST1685 carrying KPC-33 or KPC-14 following ceftazidime/avibactam treatment: considerations regarding acquired heteroresistance and choice of carbapenemase detection assay. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(10):3075-6.
 65. Louise A, Maynard M, Duncanson B, et al. Determination of the dynamically linked indices of fosfomycin for *Pseudomonas aeruginosa* in the hollow fiber infection model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018;62(6):e02627-17.
 66. Shields RK, Nguyen MH, Hao B, et al. Colistin does not potentiate ceftazidime-avibactam killing of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in vitro or suppress emergence of ceftazidime-avibactam resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018;62(8):e01018-18.
 67. Lomovskaya O, Sun D, Rubio-Aparicio D, et al. Vaborbactam: spectrum of β -lactamase inhibition and impact of resistance mechanisms on activity in Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(11):e01443-17.
 68. Pogue JM, Bonomo RA, Kaye KS. Ceftazidime/avibactam, meropenem/vaborbactam or both? Clinical and formulary considerations. *Clin Infect Dis.* 2019;68(3):519-24.
 69. Noval M, Banoub M, Claeys KC, Heil E. The Battle Is on: new beta-lactams for the treatment of multidrug-resistant Gram-negative organisms. *Curr Infect Dis Rep.* 2020;22(1):1.
 70. Dulyayangkul P, Wan Nur Ismah WAK, Douglas EJA, Avison MB. Mutation of *kvrA* causes OmpK35 and OmpK36 porin downregulation and reduced meropenem-vaborbactam susceptibility in KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(7):e02208-19.
 71. Dulyayangkul P, Douglas EJA, Lastovka F, Avison MB. Resistance to ceftazidime/avibactam plus meropenem/ vaborbactam when both are used together is achieved in four steps in metallo- β -lactamase-negative *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(10):e00409-20.

72. Karlowsky JA, Lob SH, Kazmierczak KM, et al. In vitro activity of imipenem/relebactam against Gram-negative ESKA-PE pathogens isolated in 17 European countries: 2015 SMART surveillance programme. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73(7):1872-9.
73. Karaikos I, Galani I, Souli M, Giamarellou H. Novel β -lactam- β -lactamase inhibitor combinations: expectations for the treatment of carbapenem-resistant Gram-negative pathogens. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2019;15(2):133-49.
74. Noinaj N, Guillier M, Barnard TJ, Buchanan SK. TonB-dependent transporters: regulation, structure, and function. *Annu Rev Microbiol.* 2010;64:43-60.
75. Kazmierczak KM, Tsuji M, Wise MG, et al. In vitro activity of cefiderocol, a siderophore cephalosporin, against a recent collection of clinically relevant carbapenem-non-susceptible Gram-negative bacilli, including serine carbapenemase- and metallo- β -lactamase-producing isolates (SIDERO-WT-2014 Study). *Int J Antimicrob Agents.* 2019;53(2):177-84.
76. Delgado-Valverde M, Conejo MDC, Serrano L, et al. Activity of cefiderocol against high-risk clones of multidrug-resistant Enterobacterales, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(7):1840-9.
77. Mushtaq A, Sadouki Z, Vickers A, et al. In vitro activity of cefiderocol, a siderophore cephalosporin, against multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(12):e01582-20.
78. Lin CS, Tsai YH, Chang CJ, et al. An iron detection system determines bacterial swarming initiation and biofilm formation. *Sci Rep.* 2016;6:36747.
79. Wu Y, Outten FW. IscR controls iron-dependent biofilm formation in *Escherichia coli* by regulating type I fimbria expression. *J Bacteriol.* 2009;191(4):1248-57.
80. Pybus CA, Felder-Scott C, Obuekwe V, Greenberg DE. Cefiderocol retains antibiofilm activity in multidrug-resistant Gram-negative pathogens. *Antimicrob Agents Chemother.* 2021;65(2):e01194-20.
81. Wunderink RG, Matsunaga Y, Ariyasu M, et al. Cefiderocol versus high-dose, extended-infusion meropenem for the treatment of Gram-negative nosocomial pneumonia (APEKS-NP): a randomised, double-blind, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet Infect Dis.* 2021;21(2):213-25.
82. Wu JY, Srinivas P, Pogue JM. Cefiderocol: a novel agent for the management of multidrug-resistant Gram-negative organisms. *Infect Dis Ther.* 2020;9(1):17-40.
83. Gatti M, Pea F. Pharmacokinetic/pharmacodynamic target attainment in critically ill renal patients on antimicrobial usage: focus on novel beta-lactams and beta lactams/beta-lactamase inhibitors. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2021;14(5):583-99.
84. Kawaguchi N, Katsube T, Echols R, Wajima T. Population pharmacokinetic and pharmacokinetic/ pharmacodynamic analyses of cefiderocol, a parenteral siderophore cephalosporin, in patients with pneumonia, bloodstream infection/sepsis, or complicated urinary tract infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2021;65(3):e01437-20.
85. Georges B, Conil JM, Seguin T, et al. Population pharmacokinetics of ceftazidime in intensive care unit patients: influence of glomerular filtration rate, mechanical ventilation, and reason for admission. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(10):4483-9.
86. Katsube T, Kawaguchi N, Echols R, et al. Cefiderocol population pharmacokinetics and probability of target attainment in plasma and epithelial lining fluid in patients with pneumonia, blood-stream infection/sepsis, or complicated urinary tract infections. *Open Forum Infectious Diseases*, Volume 7, Issue Supplement_1, October 2020, Page S665.
87. Yuan Q, He L, Ke H. A potential substrate binding conformation of β -lactams and insight into the broad spectrum of NDM-1 activity. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(10):5157-63.
88. Jean SS, Gould IM, Lee WS, Hsueh PR; International Society of Antimicrobial Chemotherapy (ISAC). New drugs for multidrug-resistant Gram-negative organisms: time for stewardship. *Drugs.* 2019;79(7):705-14.

89. Lodise TP, Smith NM, O'Donnell N, et al. Determining the optimal dosing of a novel combination regimen of ceftazidime/avibactam with aztreonam against NDM-1-producing Enterobacteriaceae using a hollow-fibre infection model. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(9):2622-32.
90. Biagi M, Wu T, Lee M, et al. Searching for the optimal treatment for metallo- and serine- β -lactamase producing Enterobacteriaceae: aztreonam in combination with ceftazidime-avibactam or meropenem-vaborbactam. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019;63(12):e01426-19.
91. Boyd SE, Livermore DM, Hooper DC, Hope WW. Metallo- β -lactamases: structure, function, epidemiology, treatment options, and the development pipeline. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(10):e00397-20
92. Hamrick JC, Docquier JD, Uehara T, et al. VNRX-5133 (taniborbactam), a broad-spectrum inhibitor of serine- and metallo- β -lactamases, restores activity of cefepime in Enterobacterales and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(3):e01963-19.
93. Castanheira M, Deshpande LM, Mendes RE, et al. Variations in the occurrence of resistance phenotypes and carbapenemase genes among Enterobacteriaceae isolates in 20 years of the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Open Forum Infect Dis.* 2019;6(Suppl 1):S23-S33.
94. Sousa A, Pérez-Rodríguez MT, Soto A, et al. Effectiveness of ceftazidime/avibactam as salvage therapy for treatment of infections due to OXA-48 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73(11):3170-5.
95. Hirvonen VHA, Spencer J, van der Kamp MW. Antimicrobial resistance conferred by OXA-48 β -lactamases: towards a detailed mechanistic understanding. *Antimicrob Agents Chemother.* 2021;65(6):e00184-21.
96. de Jonge BL, Karlowsky JA, Kazmierczak KM, et al. In vitro susceptibility to ceftazidime-avibactam of carbapenem-non-susceptible Enterobacteriaceae isolates collected during the INFORM Global Surveillance Study (2012 to 2014). *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(5):3163-9.
97. Hrabák J, Chudáčková E, Papagiannitsis CC. Detection of carbapenemases in Enterobacteriaceae: a challenge for diagnostic microbiological laboratories. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(9):839-53.
98. Aktaş Z, Kayacan C, Oncul O. In vitro activity of avibactam (NXL104) in combination with β -lactams against Gram-negative bacteria, including OXA-48 β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Antimicrob Agents.* 2012;39(1):86-9.
99. Breidenstein EB, de la Fuente-Núñez C, Hancock RE. *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. *Trends Microbiol.* 2011;19(8):419-26.
100. Walkty A, Lagace-Wiens P, Adam H, et al. Antimicrobial susceptibility of 2906 *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates obtained from patients in Canadian hospitals over a period of 8 years: Results of the Canadian Ward surveillance study (CANWARD), 2008-2015. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2017;87(1):60-3.
101. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2015. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Available at: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2015>.
102. Grosjean M, Tazout S, Bour M, et al. Reassessment of the cooperativity between efflux system MexAB-OprM and cephalosporinase AmpC in the resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to β -lactams. *J Antimicrob Chemother.* 2021;76(2):536-9.
103. Wi YM, Greenwood-Quaintance KE, Schuetz AN, et al. Activity of ceftolozane-tazobactam against carbapenem-resistant, non-carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* and associated resistance mechanisms. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;62(1):e01970-17.
104. Li XZ, Plésiat P, Nikaido H. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28(2):337-418.

105. Juan C, Torrens G, González-Nicolau M, Oliver A. Diversity and regulation of intrinsic β -lactamases from non-fermenting and other Gram-negative opportunistic pathogens. *FEBS Microbiol Rev.* 2017;41(6):781-815.
106. Moya B, Juan C, Albertí S, et al. Benefit of having multiple ampD genes for acquiring beta-lactam resistance without losing fitness and virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(10):3694-700.
107. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) – Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, valid from 2019-01-01. Available at: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_9.0_Breakpoint_Tables.pdf.
108. Riera E, Cabot G, Mulet X, et al. *Pseudomonas aeruginosa* carbapenem resistance mechanisms in Spain: impact on the activity of imipenem, meropenem and doripenem. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66(9):2022-7.
109. Gomis-Font MA, Cabot G, Sánchez-Diener J, et al. In vitro dynamics and mechanisms of resistance development to imipenem and imipenem/relebactam in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(9):2508-15.
110. Iregui A, Khan Z, Landman D, Quale J. Activity of cefiderocol against Enterobacterales, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii* endemic to Medical Centers in New York City. *Microb Drug Resist.* 2020;26(7):722-6.
111. Zerbaxa, INN-ceftolozane sulfate/tazobactam sodium. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zerbaxa-epar-product-information_it.pdf.
112. Escolà-Vergé L, Pigrau C, Almirante B. Ceftolozane/tazobactam for the treatment of complicated intra-abdominal and urinary tract infections: current perspectives and place in therapy. *Infect Drug Resist.* 2019;12:1853-67.
113. Moya B, Zamorano L, Juan C, et al. Activity of a new cephalosporin, CXA-101 (FR264205), against beta-lactam-resistant *Pseudomonas aeruginosa* mutants selected in vitro and after antipseudomonal treatment of intensive care unit patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(3):1213-7.
114. Zhanel GG, Chung P, Adam H, et al. Ceftolozane/tazobactam: a novel cephalosporin/ β -lactamase inhibitor combination with activity against multidrug-resistant gram-negative bacilli. *Drugs.* 2014;74(1):31-51.
115. Cabot G, Bruchmann S, Mulet X, et al. *Pseudomonas aeruginosa* ceftolozane-tazobactam resistance development requires multiple mutations leading to overexpression and structural modification of AmpC. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(6):3091-9.
116. Fraile-Ribot PA, Zamorano L, Orellana R, et al; GEMARA-SEIMC/REIPI *Pseudomonas* Study Group. Activity of imipenem-relebactam against a large collection of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates and isogenic β -lactam-resistant mutants. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(2):e02165-19.
117. Fournier D, Carrière R, Bour M, et al; GERPA Study Group. Mechanisms of resistance to ceftolozane/tazobactam in *Pseudomonas aeruginosa*: results of the GERPA multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother.* 2021;65(2):e01117-20.
118. RECARBRIQ, INN-imipenem/cilastatin/relebactam. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/recarbrio-epar-product-information_it.pdf.
119. Campanella T, Gallagher JC. A clinical review and critical evaluation of imipenem-relebactam: evidence to date. *Infect Drug Resist.* 2020;13:4297-308.
120. Horcajada JP, Montero M, Oliver A, et al. Epidemiology and treatment of multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Clin Microbiol Rev.* 2019;32(4):e00031-19.
121. Clancy C, Potoski B, Shields R, Nguyen M. A formal antimicrobial stewardship intervention programme targeting carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP) bacteraemia improved mortality, shortened lengths of stay, and reduced costs over a three-year period. *ECCMID 2017* – P1146.
122. Vázquez-Ucha JC, Arca-Suárez J, Bou G, Beceiro A. New carbapenemase inhibitors: clearing the way for the β -Lactams. *Int J Mol Sci.* 2020;21(23):9308.
123. Heo YA. Imipenem/cilastatin/relebactam: a review in Gram-negative bacterial infections. *Drugs.* 2021;81(3):377-88.

124. Dimelow R, Wright JG, MacPherson M, et al. Population pharmacokinetic modelling of ceftazidime and avibactam in the plasma and epithelial lining fluid of healthy volunteers. *Drugs* R D. 2018;18(3):221-30.
125. Zavicefta, INN-ceftazidime/avibactam. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zavicefta-epar-product-information_it.pdf.
126. van Duin D, Bonomo RA. Ceftazidime/avibactam and ceftolozane/tazobactam: second-generation β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations. *Clin Infect Dis*. 2016;63(2):234-41.
127. Yahav D, Giske CG, Grāmatniece A, et al. New β -lactam- β -lactamase inhibitor combinations. *Clin Microbiol Rev*. 2020;34(1):e00115-20.
128. Asli A, Brouillette E, Krause KM, et al. Distinctive binding of avibactam to penicillin-binding proteins of Gram-negative and Gram-positive bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;60(2):752-6.
129. López-Argüello S, Montaner M, Oliver A, Moya B. Molecular basis of AmpC β -lactamase induction by avibactam in *Pseudomonas aeruginosa*: PBP occupancy, live cell binding dynamics and impact on resistant clinical isolates harboring PDC-X variants. *Int J Mol Sci*. 2021;22(6):3051.
130. ClinicalTrials.Gov. Aztreonam avibactam. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=aztreonam+avibactam&cntry=&state=&city=&dist=>.
131. Cies JJ, LaCourse RJ, Moore WS 2nd, Chopra A. Therapeutic drug monitoring of prolonged infusion aztreonam for multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*: a case report. *J Pediatr Pharmacol Ther*. 2017;22(6):467-70.
132. Karlowsky JA, Kazmierczak KM, de Jonge BLM, et al. In Vitro activity of Aztreonam-Avibactam against Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* isolated by clinical laboratories in 40 Countries from 2012 to 2015. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(9):e00472-17.
133. Davies TA, Shang W, Bush K, Flamm RK. Affinity of doripenem and comparators to penicillin-binding proteins in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52(4):1510-2.
134. Fetcroja, INN-cefiderocol. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/fetcroja-epar-product-information_it.pdf.
135. Giacobbe DR, Ciacco E, Girmenia C, et al; ISGRI-SITA (Italian Study Group on Resistant Infections of the Italian Society of Anti-infective Therapy). Evaluating cefiderocol in the treatment of multidrug-resistant Gram-negative bacilli: a review of the emerging data. *Infect Drug Resist*. 2020;13:4697-711.
136. Katsube T, Kawaguchi N, Matsunaga Y, et al. Pharmacokinetic/pharmacodynamic analyses of cefiderocol in critically ill patients. *OFID* 2020; 7(Suppl 1): S669-S670
137. Ito A, Nishikawa T, Ota M, et al. Stability and low induction propensity of cefiderocol against chromosomal AmpC β -lactamases of *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter cloacae*. *J Antimicrob Chemother*. 2018;73(11):3049-52.
138. Ito A, Sato T, Ota M, et al. In Vitro antibacterial properties of cefiderocol, a novel siderophore cephalosporin, against Gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;62(1):e01454-17.
139. Streling AP, Al Obaidi MM, Lainhart WD, et al. Evolution of cefiderocol non-susceptibility in *Pseudomonas aeruginosa* in a patient without previous exposure to the antibiotic. *Clin Infect Dis*. 2021 Jan 7:ciaa1909.
140. Patel G, Bonomo RA. Status report on carbapenemases: challenges and prospects. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2011;9(5):555-70.
141. Botelho J, Grosso F, Peixe L. Unravelling the genome of a *Pseudomonas aeruginosa* isolate belonging to the high-risk clone ST235 reveals an integrative conjugative element housing a blaGES-6 carbapenemase. *J Antimicrob Chemother*. 2018;73(1):77-83.
142. Recio R, Villa J, Viedma E, et al. Bacteraemia due to extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* sequence type 235 high-risk clone: facing the perfect storm. *Int J Antimicrob Agents*. 2018;52(2):172-9.

143. Castón JJ, De la Torre Á, Ruiz-Camps I, et al. Salvage therapy with ceftolozane-tazobactam for multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(3):e02136-16.
144. Haidar G, Philips NJ, Shields RK, et al. Ceftolozane/tazobactam for the treatment of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections: clinical effectiveness and evolution of resistance. *Clin Infect Dis*. 2017;65(1):110-20.
145. Munita JM, Aitken SL, Miller WR, et al. Multicenter evaluation of ceftolozane/tazobactam for serious infections caused by carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis*. 2017;65(1):158-61.
146. Gallagher JC, Satlin MJ, Elabor A, et al. Ceftolozane-tazobactam for the treatment of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections: a multicenter study. *Open Forum Infect Dis*. 2018;5(11):ofy280.
147. Bassetti M, Castaldo N, Cattelan A, et al; CEFTABUSE Study Group. Ceftolozane/tazobactam for the treatment of serious *Pseudomonas aeruginosa* infections: a multicentre nationwide clinical experience. *Int J Antimicrob Agents*. 2019;53(4):408-15.
148. Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis*. 2016;63(5):e61-e111.
149. Langer M, Cigada M, Mandelli M, et al. Early onset pneumonia: a multicenter study in intensive care units. *Intensive Care Med*. 1987;13(5):342-6.
150. Torres A, Niederman MS, Chastre J, et al. International ERS/ESICM/ESCMID/ALAT guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: Guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia (HAP)/ventilator-associated pneumonia (VAP) of the European Respiratory Society (ERS), European Society of Intensive Care Medicine (ESICM), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) and Asociación Latinoamericana del Tórax (ALAT). *Eur Respir J*. 2017;50(3):1700582.
151. Kollef MH, Nováček M, Kivistik Ü, et al. Ceftolozane-tazobactam versus meropenem for treatment of nosocomial pneumonia (ASPECT-NP): a randomised, controlled, double-blind, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet Infect Dis*. 2019;19(12):1299-311.
152. Xiao AJ, Miller BW, Huntington JA, Nicolau DP. Ceftolozane/tazobactam pharmacokinetic/pharmacodynamic-derived dose justification for phase 3 studies in patients with nosocomial pneumonia. *J Clin Pharmacol*. 2016;56(1):56-66.
153. Talbot GH, Das A, Cush S, et al; Foundation for the National Institutes of Health Biomarkers Consortium HABP/VABP Project Team. Evidence-based study design for hospital-acquired bacterial pneumonia and ventilator-associated bacterial pneumonia. *J Infect Dis*. 2019;219(10):1536-44.
154. Giani T, Arena F, Pollini S, et al; *Pseudomonas aeruginosa* Working Group. Italian nationwide survey on *Pseudomonas aeruginosa* from invasive infections: activity of ceftolozane/tazobactam and comparators, and molecular epidemiology of carbapenemase producers. *J Antimicrob Chemother*. 2018;73(3):664-71.
155. Carmeli Y, Armstrong J, Laud PJ, et al. Ceftazidime-avibactam or best available therapy in patients with ceftazidime-resistant Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* complicated urinary tract infections or complicated intra-abdominal infections (REPRISE): a randomised, pathogen-directed, phase 3 study. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(6):661-73.
156. Rodríguez-Núñez O, Ripa M, Morata L, et al. Evaluation of ceftazidime/avibactam for serious infections due to multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Glob Antimicrob Resist*. 2018;15:136-9.
157. Torres A, Zhong N, Pacht J, 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;18(3):285-95.
158. Matsumoto S, Singley CM, Hoover J, et al. Efficacy of cefiderocol against carbapenem-resistant Gram-negative bacilli in immunocompetent-rat respiratory tract infection models recreating human plasma pharmacokinetics. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(9):e00700-17.

159. Hackel MA, Tsuji M, Yamano Y, et al. In vitro activity of the siderophore cephalosporin, cefiderocol, against carbapenem-nonsusceptible and multidrug-resistant isolates of Gram-negative bacilli collected worldwide in 2014 to 2016. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(2):e01968-17.
160. Bassetti M, Echols R, Matsunaga Y, 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;21(2):226-40.
161. Portsmouth S, van Veenhuizen D, Echols R, et al. Cefiderocol versus imipenem-cilastatin for the treatment of complicated urinary tract infections caused by Gram-negative uropathogens: a phase 2, randomised, double-blind, non-inferiority trial. *Lancet Infect Dis*. 2018;18(12):1319-28.
162. Karlowsky JA, Lob SH, Young K, et al. Activity of imipenem/relebactam against *Pseudomonas aeruginosa* with antimicrobial-resistant phenotypes from seven global regions: SMART 2015-2016. *J Glob Antimicrob Resist*. 2018;15:140-7.
163. Mushtaq S, Meunier D, Vickers A, et al. Activity of imipenem/relebactam against *Pseudomonas aeruginosa* producing ESBLs and carbapenemases. *J Antimicrob Chemother*. 2021;76(2):434-42.
164. Johnston BD, Thuras P, Porter SB, et al. Activity of imipenem-relebactam against carbapenem-resistant *Escherichia coli* isolates from the United States in relation to clonal background, resistance genes, coresistance, and region. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020;64(5):e02408-19.
165. Rhee EG, Rizk ML, Calder N, et al. Pharmacokinetics, safety, and tolerability of single and multiple doses of relebactam, a β -lactamase inhibitor, in combination with imipenem and cilastatin in healthy participants. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(9):e00280-18.
166. Rizk ML, Rhee EG, Jumes PA, et al. Intrapulmonary pharmacokinetics of relebactam, a novel β -lactamase inhibitor, dosed in combination with imipenem-cilastatin in healthy subjects. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(3):e01411-17.
167. Lucasti C, Vasile L, Sandesc D, et al. Phase 2, dose-ranging study of relebactam with imipenem-cilastatin in subjects with complicated intra-abdominal infection. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(10):6234-43.
168. Sims M, Mariyanovski V, McLeoth P, et al. Prospective, randomized, double-blind, Phase 2 dose-ranging study comparing efficacy and safety of imipenem/cilastatin plus relebactam with imipenem/cilastatin alone in patients with complicated urinary tract infections. *J Antimicrob Chemother*. 2017;72(9):2616-26.
169. Motsch J, Murta de Oliveira C, Stus V, et al. 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. *Clin Infect Dis*. 2020;70(9):1799-808.
170. Titov I, Wunderink RG, Roquilly A, 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). *Clin Infect Dis*. 2020 Aug 12:ciaa803.
171. Wenzler E, Deraedt MF, Harrington AT, Danizger LH. Synergistic activity of ceftazidime-avibactam and aztreonam against serine and metallo- β -lactamase-producing gram-negative pathogens. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2017;88(4):352-4.
172. Lee M, Abbey T, Biagi M, Wenzler E. Activity of aztreonam in combination with ceftazidime-avibactam against serine- and metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2021;99(1):115227.
173. Davido B, Fellous L, Lawrence C, et al. Ceftazidime-avibactam and aztreonam, an interesting strategy to overcome β -lactam resistance conferred by metallo- β -lactamases in Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(9):e01008-17.
174. Mularoni A, Mezzatesta ML, Pilato M, et al. Combination of aztreonam, ceftazidime-avibactam and amikacin in the treatment of VIM-1 *Pseudomonas aeruginosa* ST235 osteomyelitis. *Int J Infect Dis*. 2021;108:510-2.
175. Cornely OA, Cisneros JM, Torre-Cisneros J, et al; COMBACTE-CARE consortium/REJUVENATE Study Group. Pharmacoki-

- netics and safety of aztreonam/avibactam for the treatment of complicated intra-abdominal infections in hospitalized adults: results from the REJUVENATE study. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(3):618-27.
176. Edeki T, Zhou D, van den Berg F, et al. A phase I, 3-part placebo-controlled randomised trial to evaluate the safety, tolerability and pharmacokinetics of aztreonam-avibactam in healthy subjects. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Amsterdam, The Netherlands, 2016. Poster EV0643.
 177. Harding CM, Hennon SW, Feldman MF. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nat Rev Microbiol.* 2018;16(2):91-102.
 178. Sarshar M, Behzadi P, Scribano D, et al. *Acinetobacter baumannii*: an ancient commensal with weapons of a pathogen. *Pathogens.* 2021;10(4):387.
 179. Krasauskas R, Skerniškytė J, Armalytė J, Suziedėlienė E. The role of *Acinetobacter baumannii* response regulator BfmR in pellicle formation and competitiveness via contact-dependent inhibition system. *BMC Microbiol.* 2019;19(1):241.
 180. Pakharukova N, Tuittila M, Paavilainen S, et al. Structural basis for *Acinetobacter baumannii* biofilm formation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018;115(21):5558-63.
 181. Cerqueira GM, Kostoulas X, Khoo C, et al. A global virulence regulator in *Acinetobacter baumannii* and its control of the phenylacetic acid catabolic pathway. *J Infect Dis.* 2014;210(1):46-55.
 182. O'Shea MK. *Acinetobacter* in modern warfare. *Int J Antimicrob Agents.* 2012;39(5):363-75.
 183. Chang HC, Chen YC, Lin MC, et al. Mortality risk factors in patients with *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. *J Formos Med Assoc.* 2011;110(9):564-71.
 184. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 9th Edition. Elsevier - Health Sciences Division, 2020.
 185. Tsai HY, Cheng A, Liu CY, et al. Bacteremia caused by *Acinetobacter junii* at a medical center in Taiwan, 2000-2010. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012;31(10):2737-43.
 186. Hujer KM, Hamza NS, Hujer AM, et al. Identification of a new allelic variant of the *Acinetobacter baumannii* cephalosporinase, ADC-7 beta-lactamase: defining a unique family of class C enzymes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(7):2941-8.
 187. Ingti B, Upadhyay S, Hazarika M, et al. Distribution of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* with bla ADC-30 and induction of ADC-30 in response to beta-lactam antibiotics. *Res Microbiol.* 2020;171(3-4):128-33.
 188. Higgins PG, Pérez-Llarena FJ, Zander E, et al. OXA-235, a novel class D beta-lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(5):2121-6.
 189. Higgins PG, Poirel L, Lehmann M, et al. OXA-143, a novel carbapenem-hydrolyzing class D beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(12):5035-8.
 190. Tascini C, Menichetti F, Bozza S, et al. Evaluation of the activities of two-drug combinations of rifampicin, polymyxin B and ampicillin/sulbactam against *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother.* 1998;42(2):270-1.
 191. Diancourt L, Passet V, Nemec A, et al. The population structure of *Acinetobacter baumannii*: expanding multiresistant clones from an ancestral susceptible genetic pool. *PLoS One.* 2010;5(4):e10034.
 192. König C, Both A, Rohde H, et al. Cefiderocol in critically ill patients with multi-drug resistant pathogens: real-life data on pharmacokinetics and microbiological surveillance. *Antibiotics (Basel).* 2021;10(6):649.
 193. Doi Y. Treatment options for carbapenem-resistant Gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis.* 2019;69(Suppl 7):S565-S575.
 194. Candel FJ, Henriksen AS, Longshaw C, et al. In vitro activity of the novel siderophore cephalosporin, cefiderocol, in Gram-negative pathogens in Europe by site of infection. *Clin Microbiol Infect.* 2021;S1198-743X(21)00410-9.
 195. Yamano Y. In vitro activity of cefiderocol against a broad range of clinically important Gram-negative bacteria. *Clin In-*

- fect Dis. 2019;69(Suppl 7):S544–S551.
196. Longshaw C, Manissero D, Tsuji M, et al. *In vitro* activity of the siderophore cephalosporin, cefiderocol, against molecularly characterized, carbapenem-non-susceptible Gram-negative bacteria from Europe. JAC Antimicrob Resist. 2020;2(3):dlaa060.
 197. Poirel L, Sadek M, Nordmann P. Contribution of PER-type and NDM-type β -lactamases to cefiderocol resistance in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother. 2021;AAC0087721.
 198. Trecarichi EM, Quirino A, Scaglione V et al; IMAGES Group. Successful treatment with cefiderocol for compassionate use in a critically ill patient with XDR *Acinetobacter baumannii* and KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: a case report. J Antimicrob Chemother. 2019;74(11):3399–401.
 199. Zingg S, Nicoletti GJ, Kuster S, et al. Cefiderocol for extensively drug-resistant Gram-negative bacterial infections: real-world experience from a case series and review of the literature. Open Forum Infect Dis. 2020;7(6):ofaa185.
 200. Dagher M, Ruffin F, Marshall S, et al. Case report: successful rescue therapy of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* osteomyelitis with cefiderocol. Open Forum Infect Dis. 2020;7(5):ofaa150.
 201. Falcone M, Tiseo G, Nicastro M, et al. Cefiderocol as rescue therapy for *Acinetobacter baumannii* and other carbapenem-resistant Gram-negative infections in Intensive Care Unit patients. Clin Infect Dis. 2021;72(11):2021–4.
 202. Bavaro DF, Belati A, Diella L, et al. Cefiderocol-based combination therapy for “difficult-to-treat” Gram-negative severe infections: real-life case series and future perspectives. Antibiotics (Basel). 2021;10(6):652.
 203. Oliva A, Ceccarelli G, De Angelis M, et al. Cefiderocol for compassionate use in the treatment of complicated infections caused by extensively and pan-resistant *Acinetobacter baumannii*. J Glob Antimicrob Resist. 2020;23:292–6.
 204. Penwell WF, Shapiro AB, Giacobbe RA, et al. Molecular mechanisms of sulbactam antibacterial activity and resistance determinants in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(3):1680–9.
 205. Mohd Sazly Lim S, Heffernan AJ, Roberts JA, Sime FB. Semi-mechanistic PK/PD modelling of fosfomycin and sulbactam combination against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother. 2021;65(5):e02472–20.
 206. Yang Y, Xu Q, Li T, et al. OXA–23 Is a prevalent mechanism contributing to sulbactam resistance in diverse *Acinetobacter baumannii* clinical strains. Antimicrob Agents Chemother. 2018;63(1):e01676–18.
 207. Pasteran F, Cedano J, Baez M, et al. A new twist: the combination of sulbactam/avibactam enhances sulbactam activity against Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* (CRAB) isolates. Antibiotics (Basel). 2021;10(5):577.
 208. Geisinger E, Mortman NJ, Dai Y, et al. Antibiotic susceptibility signatures identify potential antimicrobial targets in the *Acinetobacter baumannii* cell envelope. Nat Commun. 2020;11(1):4522.
 209. Abdul-Mutakabbir JC, Nguyen L, Maassen PT, et al. *In vitro* antibacterial activity of cefiderocol against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother. 2021;65(9):e0264620.
 210. Drawz SM, Bonomo RA. Three decades of beta-lactamase inhibitors. Clin Microbiol Rev. 2010;23(1):160–201.
 211. Bullitta J, Shan J, Moya B, et al. First comprehensive penicillin-binding protein (PBP) occupancy patterns of beta-lactams in *Acinetobacter baumannii* (AB). P1531, ECCMID 2018.
 212. Yamano Y, Takemura M; Anan N, et al. 1626. Synergistic Effect of Cefiderocol with Other Antibiotics Against PER-Producing *Acinetobacter baumannii* Isolates from the Multinational SIDERO-WT Studies. Open Forum Infectious Diseases, Volume 7, Issue Supplement_1, October 2020, Page S805.
 213. Jung SY, Lee SH, Lee SY, et al. Antimicrobials for the treatment of drug-resistant *Acinetobacter baumannii* pneumonia in critically ill patients: a systematic review and Bayesian network meta-analysis. Crit Care. 2017;21(1):319.
 214. Liu J, Shu Y, Zhu F, et al. Comparative efficacy and safety of combination therapy with high-dose sulbactam or colistin with additional antibacterial agents for multiple drug-resistant and extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*

- infections: a systematic review and network meta-analysis. *J Glob Antimicrob Resist*. 2021;24:136-47.
215. Bussey K, Ferreira J, Aldridge P, et al. Treatment efficacy of ampicillin/sulbactam in comparison to alternative beta-lactams for severe *Acinetobacter baumannii* infections. *Infect Dis (Lond)*. 2016;48(10):775-7.
 216. Karaikos I, Galani L, Baziaka F, Giamarellou H. Intraventricular and intrathecal colistin as the last therapeutic resort for the treatment of multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventriculitis and meningitis: a literature review. *Int J Antimicrob Agents*. 2013;41(6):499-508.
 217. Chusri S, Sakarunchai I, Kositpantawong N, et al. Outcomes of adjunctive therapy with intrathecal or intraventricular administration of colistin for post-neurosurgical meningitis and ventriculitis due to carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents*. 2018;51(4):646-50.
 218. Zheng JY, Huang SS, Huang SH, Ye JJ. Colistin for pneumonia involving multidrug-resistant *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex. *J Microbiol Immunol Infect*. 2020;53(6):854-65.
 219. Dalfino L, Puntillo F, Mosca A, et al. High-dose, extended-interval colistin administration in critically ill patients: is this the right dosing strategy? A preliminary study. *Clin Infect Dis*. 2012;54(12):1720-6.
 220. Durante-Mangoni E, Signoriello G, Andini R, et al. Colistin and rifampicin compared with colistin alone for the treatment of serious infections due to extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: a multicenter, randomized clinical trial. *Clin Infect Dis*. 2013;57(3):349-58.
 221. Paul M, Daikos GL, Durante-Mangoni E, et al. Colistin alone versus colistin plus meropenem for treatment of severe infections caused by carbapenem-resistant Gram-negative bacteria: an open-label, randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis*. 2018;18(4):391-400.
 222. Russo A, Bassetti M, Ceccarelli G, et al; ISGRI-SITA (Italian Study Group on Resistant Infections of the Società Italiana Terapia Antinfettiva). Bloodstream infections caused by carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: Clinical features, therapy and outcome from a multicenter study. *J Infect*. 2019;79(2):130-8.
 223. Shao Hua SY, Jie H, Linlin H. Pharmacokinetics and drug concentration monitoring of high dose tigecycline in patients with septic shock. *J China Pharmaceut Univers*. 2017;48:721-6.
 224. Yang T, Mei H, Wang J, Cai Y. Therapeutic drug monitoring of tigecycline in 67 infected patients and a population pharmacokinetics/microbiological evaluation of *A. baumannii* study. *Front Microbiol*. 2021;12:678165.
 225. Beganovic M, Daffinee KE, Luther MK, LaPlante KL. Minocycline alone and in combination with polymyxin b, meropenem, and sulbactam against carbapenem-susceptible and -resistant *Acinetobacter baumannii* in an in vitro pharmacodynamic model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2021;65(3):e01680-20.
 226. Sumyk M, Himpich S, Foong WE, et al. Binding of tetracyclines to *Acinetobacter baumannii* TetR involves two arginines as specificity determinants. *Front Microbiol*. 2021;12:711158.
 227. Seifert H, Müller C, Stefanik D, et al. In vitro activity of sulbactam/durlobactam against global isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*. 2020;75(9):2616-21.
 228. Moussa SH, Shapiro AB, McLeod SM, Miller AA. Resistance to sulbactam-durlobactam in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* is rare and maps to PBP3. Presented at *Acinetobacter 2019*, Frankfurt, September 2019.

FETCROJA® è indicato per il trattamento delle infezioni dovute a organismi aerobi gram-negativi negli adulti con opzioni terapeutiche limitate ⁽¹⁾.

Medicinale non più sottoposto a monitoraggio addizionale dal 13/01/2025.

Classe di rimborsabilità "H"; prezzo al pubblico IVA inclusa (al lordo delle riduzioni di legge): € 2.475,60; prezzo ex factory IVA esclusa (al lordo delle riduzioni di legge): € 1.500,00.

Regime di fornitura: medicinale soggetto a prescrizione medica limitativa, utilizzabile esclusivamente in ambiente ospedaliero o in struttura ad esso assimilabile (OSP).

[Cliccare qui per visualizzare l'RCP di Fetcroja®](#)

Bibliografia

1. Riassunto delle caratteristiche del prodotto di Fetcroja®.

Tutti i diritti riservati.
© Copyright 2022



www.medimay.it

