

I BATTERI GRAM NEGATIVI MULTIRESISTENTI: UN PROBLEMA EMERGENTE E DI ATTUALITA'. INDICAZIONI GESTIONALI

Documento approvato dal Consiglio Direttivo Simpios il 27 settembre 2010

Premesse

Nei giorni precedenti il ferragosto i media (televisioni e giornali), a caccia di notizie come sempre nel periodo estivo, hanno ripreso un articolo pubblicato sulla rivista "The Lancet Infectious Diseases" dal gruppo di Tim Walsh per lanciare l'allarme nei confronti di un nuovo "superbug" resistente anche ai più "potenti" antibiotici.

Nello specifico, l'articolo riferisce la circolazione nel Regno Unito di Enterobatteri produttori di carbapenemasi, resistenti alla quasi totalità degli antibiotici disponibili, epidemiologicamente correlati con germi identificati in India e Pakistan (i soggetti colpiti da questi Enterobatteri avevano soggiornato in quei paesi dove sono stati isolati ceppi con gli stessi marcatori genetici di resistenza).

Gli addetti ai lavori sanno bene che germi antibiotico-resistenti circolano da diversi anni e con sempre maggior frequenza negli ospedali, che è imperativo mettere in atto misure di sorveglianza e di controllo per prevenirne la diffusione, che non se ne deve parlare episodicamente ma mettere in atto strategie permanenti e su vasta scala. Sanno che non sono disponibili nuovi antibiotici efficaci contro i batteri Gram negativi: il massimo sforzo della ricerca e dell'industria è stato rivolto, infatti, alla sintesi di molecole (quinopristin/dalfopristin, oxazolidinoni, daptomicina, pleuromotiline) attive prioritariamente nei confronti di batteri Gram-positivi.

Il testo che segue si pone l'obiettivo di descrivere gli aspetti microbiologici delle resistenze, fornire alcuni dati epidemiologici, indicare gli strumenti efficaci di prevenzione, nell'ottica di favorire un impegno diffuso, continuo e condiviso di "contenimento" delle infezioni sostenute da Enterobatteri multiresistenti.

Gli anni '90: le prime resistenze nei Gram negativi

Nell'ultimo ventennio è stata osservata, ovunque nel mondo, una sempre maggior diffusione di microrganismi Gram-negativi resistenti a diverse classi di antibiotici. In precedenza, nella pratica clinica il fenomeno della multiresistenza agli antibiotici era stato riscontrato - tra i Gram-negativi - in modo pressoché esclusivo a carico di *Pseudomonas aeruginosa*, per il quale l'epidemiologia delle resistenze era tuttavia assai variabile tra Centro e Centro e anche, nell'ambito di un singolo ospedale, tra reparto e reparto.

Il fenomeno della multiresistenza ha poi interessato altri comuni batteri Gram-negativi quali le *Enterobacteriaceae* produttrici di beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL) diffuse capillarmente nel nostro paese già a far corso dalla metà degli anni '90 e, più o meno nello stesso periodo, anche *Acinetobacter baumannii* resistente a diverse classi di molecole antibiotiche. In tutti i casi, però, i batteri Gram-negativi risultavano ancora sensibili ai carbapenemici.

Gli anni 2000: il problema "emergente"

Nel 2001 è stato descritto per la prima volta in *Klebsiella pneumoniae* un nuovo fenotipo di resistenza dovuto alla presenza di una nuova carbapenemasi, cosiddette carbapenemasi tipo KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapenemase*) [1]. Da allora sono state descritte diverse varianti di "*Klebsiella pneumoniae carbapenemases*" [2]. Esse possono causare livelli di resistenza bassi, non sempre e non facilmente riconosciuti dagli strumenti automatici di laboratorio: il microbiologo ne deve sospettare la presenza quando - utilizzando metodi "manuali" di analisi - viene evidenziata la presenza di un'*Enterobacteriaceae* (quasi sempre *K. pneumoniae*, più raramente *K. oxytoca*, *Escherichia coli* o altri Enterobatteri) per la quale il diametro dell'alone di inibizione di ertapenem o di meropenem (ma non di imipenem, che non è un marcatore efficiente) è < 22 mm oppure quando la CMI è > 1 µg/mL. In particolare, le KPC di classe A sono enzimi in grado di idrolizzare non solo i carbapenemi ma anche le penicilline, le cefalosporine e l'aztreonam.

In questo caso è necessario che il Laboratorio di Microbiologia predisponga test supplementari in grado di determinare se il ceppo microbico isolato in coltura sia effettivamente portatore del plasmide KPC.

In presenza di risposta positiva, il Laboratorio di Microbiologia deve "interpretare" i risultati e provvedere alla loro refertazione sulla base dei valori di CMI ottenuti; imipenem e meropenem dovrebbero essere refertati come resistenti se la loro CMI è superiore a 8 µg/mL e non essere refertati se, al contrario, la CMI è inferiore a 8 µg/mL. Il referto dovrebbe essere corredato da una nota di commento che recita: "il microrganismo isolato in coltura è produttore di carbapenemasi: l'efficacia di antibiotici appartenenti alla classe dei carbapenemici non è provata, in tale situazione, nella pratica clinica" [3]. Infatti - sebbene i valori di CMI siano compatibili con una possibile efficacia terapeutica - variabili *in vivo*, quali la carica batterica o il volume di distribuzione del farmaco,

potrebbero correlarsi con una inefficace azione dell'antibiotico; è tuttavia necessario ricordare che sono descritti casi in cui la terapia con carbapenemici a dosaggi elevati (sino a 4 g/*die* di imipenem/cilastatina, sino a 6 g/*die* di meropenem) si è rivelata efficace [4].

Per assumere decisioni razionali è fondamentale l'attenta valutazione della significatività clinica, potendosi spesso trattare di colonizzazioni e non di infezioni. E' quanto si verifica, ancor più frequentemente, con *A. baumannii*. Per poter definire il significato clinico di questi isolamenti è quindi necessaria una stretta collaborazione fra microbiologo, infettivologo e clinico.

Il 2010: il problema "emerso" si complica

Del tutto recentemente (2009) è stata descritta una nuova carbapenemasi in un ceppo di *Klebsiella pneumoniae* isolata da un paziente svedese di ritorno dal Pakistan [5]. Si tratta di una metallo-beta-lattamasi (MBL) - beta-lattamasi di classe B, idrolizzanti i carbapenemici - denominata NDM-1 (*New Delhi Metallo-beta-lactamase type 1*) che presenta caratteristiche di assoluta novità.

Le MBL possono essere occasionalmente riscontrate negli enterobatteri, che possono acquisirle da Gram negativi non fermentanti il glucosio come *Pseudomonas aeruginosa*. Ciò è accaduto, ad esempio, in occasione di recenti epidemie in Grecia e in Turchia.

NDM-1 è invece sostanzialmente diversa dalle altre MBL riscontrate negli enterobatteri e questo fa supporre che essa potrebbe provenire da microrganismi diversi da *Pseudomonas aeruginosa*. Inoltre, questo enzima pare dotato della capacità di trasferirsi con estrema facilità fra diversi generi di microrganismi: lo stesso plasmide NDM-1 è stato infatti riscontrato anche in un ceppo di *E. coli* isolato dalle feci del paziente svedese.

Recentemente è stata valutata l'epidemiologia di questo plasmide che, a partire dalla prima segnalazione in Svezia, pare ora diffondersi anche nel Regno Unito [6]. Sinora in Inghilterra sono stati segnalati 37 pazienti che albergano *Enterobacteriaceae* portatrici del plasmide NDM-1: sono tutti pazienti che riferiscono viaggi in India e Pakistan. In questi paesi la diffusione di questo tratto di resistenza parrebbe essere ancora più estesa e riguarderebbe non solo *K. pneumoniae* ma anche ceppi di *E. coli*.

Tutti questi microrganismi sono, quindi, multiresistenti: le uniche molecole efficaci *in vitro* sembrano essere colistina e tigeciclina, molecole che dal punto di vista terapeutico presentano limiti intrinseci per la scarsa o nulla diffusibilità tissutale (colistina) o per l'attività esclusivamente batteriostatica (tigeciclina).

L'emergenza e il diffondersi di questo fenotipo di resistenza potrebbe quindi essere veramente drammatico.

A fronte di questo panorama assai preoccupante non è possibile rivolgerci con fiducia alle risorse terapeutiche in nostro possesso. Il passato può riservarci qualche gradita sorpresa (il cloramfenicolo - pur con tutti i limiti del caso - può essere considerato una possibile opzione terapeutica), ma il futuro sicuramente si prospetta povero di novità: anche la molecola sperimentale NXL104, inibitore delle carbapenemasi, testata in combinazione con cefepime e ceftazidime non sembra fornire risultati confortanti.

Allora: che fare?

La diffusione degli stipti di batteri Gram-negativi MDR potrebbe divenire esplosiva soprattutto a causa di un loro riconoscimento subottimale, per fattori molecolari e per la selezione indotta dagli antibiotici utilizzati in ospedale, in particolare in soggetti che sono esposti a terapie antibiotiche prolungate, specie con fluorchinoloni e beta-lattamine (es. pazienti con comorbidità, sottoposti a ricoveri frequenti o prolungati, che alloggiano *devices*).

Dinanzi a un panorama così critico è imperativo mettere in atto da subito cinque interventi:

1. accurata diagnosi microbiologica:
 - o corretta esecuzione dei *test* di sensibilità da parte del Laboratorio di Microbiologia, eventualmente confermati da *test* supplementari (come il *test* di Hodge modificato, l' *Etest* per la rilevazione delle MBL, oppure il ricorso a tecniche molecolari). In particolare, per l'esecuzione del *test* di Hodge modificato procedere come di seguito indicato: inoculare con tampone sterile una piastra di Muller Hinton Agar con una sospensione 0.5 McFarland di *E. coli* ATCC25922 diluita 1:10; posizionare un dischetto di ertapenem o di meropenem da 10 µg al centro della piastra; strisciare con tampone il ceppo batterico in esame dal dischetto alla periferia della piastra; interpretare la eventuale presenza di crescita interna all'alone di inibizione come positività per KPC [7];
 - o refertazione "interpretata" dei risultati fenotipici
2. immediata notifica
 - o immediata notifica dei casi di infezione da enterobatteri resistenti ai carbapenemi o portatori di geni di resistenza (di seguito, MDR-E) ai Reparti, alle strutture/professionisti dedicati al controllo delle infezioni nelle organizzazioni sanitarie e alla Direzione Sanitaria;

3. avvio di un programma di sorveglianza
 - o sorveglianza basata sugli isolamenti da campioni clinici; non ci sono infatti per ora indicazioni per l'effettuazione di sorveglianze attive (ricerca dei colonizzati);
 - o a fronte di casi di isolamento di MDR-E: indagini retrospettive nell'archivio microbiologico per verificare se nei 6-12 mesi precedenti si fossero verificati altri casi, sfuggiti all'attenzione degli operatori sanitari. In questo caso (e solo in questo caso) deve essere eseguita una sorveglianza attiva per valutare la presenza di enterobatteri MDR in unità critiche: Terapie Intensive, reparti ove la pressione antibiotica è più elevata, reparti con precedenti isolamenti di MDR-E;
 - o organizzazione di un programma di monitoraggio microbiologico da effettuare sottoponendo una volta alla settimana a prelievo di tampone perianale o rettale e/o di materiale respiratorio tutti e solo i pazienti correlabili al caso-indice: i ricoverati nella stessa area o nello stesso reparto o seguiti dallo stesso personale di assistenza. In caso di endemia, è opportuno sottoporre a coltura anche i pazienti all'ingresso nel reparto. La sorveglianza attiva deve essere continuata sino a quando non vengano più documentati altri casi di colonizzazione e/o infezione. Qualora la sorveglianza attiva risultasse negativa per nuovi isolamenti, dovrà comunque essere considerata la possibilità di eseguire studi di prevalenza puntuale mirati alla sorveglianza in reparti a rischio.
 - o esecuzione delle indagini colturali per la ricerca dei colonizzati seminando su terreno solido (piastre di McConkey Agar con un dischetto di ertapenem o di meropenem, incubazione a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ per 48 ore ed identificazione delle colonie mucose e lattosio-positive cresciute fino a 15 mm dal dischetto) o liquido (5 ml di *Tryptic Soy Broth* contenente un dischetto di imipenem 10 μg , incubazione a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ per 18 ore) con successiva sottocoltura su McConkey Agar incubando a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ per 48 ore; identificazione delle colonie mucose e lattosio-positive e valutazione della resistenza a ertapenem) [8];
4. corretta prescrizione di antibiotici
 - o a fronte di un isolamento di MDR-E, dopo attenta valutazione del significato clinico dell'isolamento, colonizzazione o infezione, che deve necessariamente coinvolgere l'infettivologo o, dove questi non fosse presente, un esperto in terapia antibiotica, si deve impostare una terapia antibiotica solo in presenza di infezione;
 - o più in generale, nella pratica clinica, è opportuno promuovere e attuare a livello di ogni ospedale programmi di politica degli antibiotici (*antimicrobial stewardship*), che costituiscono una componente chiave per un approccio integrato alla prevenzione delle resistenze [9]. Essa implica la corretta indicazione alla terapia antibiotica, la scelta della molecola e la prescrizione di dosi e modalità di somministrazione ottimali e durata appropriata, il che porta a minimizzare gli effetti tossici e le condizioni che favoriscono la selezione di ceppi resistenti. Riteniamo che, data l'importanza della diffusione di questi germi multi resistenti, sia imperativo che in ogni ospedale si organizzino programmi di *antimicrobial stewardship*;
5. adozione di misure di prevenzione nell'assistenza al malato/colonizzato, come da indicazioni per la sorveglianza e il controllo delle infezioni da enterobatteri MDR-E del documento proposto dai CDC statunitensi [10], che qui sinteticamente riportiamo:
 - o adozione delle precauzioni *standard* (l'igiene delle mani in particolare, ma non solo) per prevenire la trasmissione tra malati: tali misure sono da applicare nell'assistenza a tutti i malati, consapevoli che non è sempre possibile riconoscere i pazienti colonizzati da MDR-E anche in presenza di programmi di sorveglianza attiva (sensibilità non elevata dei *test* di laboratorio, colonizzazione intermittente, prelievi eseguiti non correttamente, ...) [10];
 - o implementazione delle precauzioni da contatto sino alla dimissione del paziente, anche nel caso di successivi controlli microbiologici negativi. Tali precauzioni sono dirette ad impedire la trasmissione diretta o indiretta di batteri che possono essere trasmessi da malato a malato, direttamente o tramite le mani degli operatori o l'ambiente contaminato. Ne consegue l'importanza di ricoverare in camera singola i malati colonizzati o infetti da batteri resistenti ai carbapenemici, o in alternativa raggrupparli, affidandoli a personale dedicato (*cohorting*). Il personale e i visitatori dovranno indossare guanti e sovracamice ogni volta che entrano nella stanza e toglierli quando escono. Dovranno essere utilizzati dispositivi medici ed altri presidi monouso; quando non fosse possibile, lavarli e disinfettarli con soluzioni a medio/alto livello prima di utilizzarli su altri malati ricoverati. Assicurare la frequente (almeno tre volte al giorno) pulizia e disinfezione di superfici ed oggetti, in particolare in prossimità dell'ammalato [11]

Data la grande importanza del problema in termini di salute pubblica, è auspicabile che le indicazioni sopra riportate possano rappresentare, in toto ove possibile ma anche solo in parte, ove le risorse fossero limitate, un obiettivo primario di tutte le organizzazioni sanitarie, in primo luogo delle strutture ospedaliere.

Bibliografia essenziale

- 1 Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001; 45: 1151-1161.
- 2 Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis*. 2009; 9: 228-236.
- 3 CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twentieth informational supplement. *Clinical and Laboratory Standards Institute* 2010; 30, M100-S20: 48-51.
- 4 Weisenberg SA, Morgan DJ, Espinal-Witter R, Larone DH. Clinical outcomes of patients with *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae* after treatment with imipenem or meropenem. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 64: 233-235.
- 5 Yong D, Toleman MA, Giske CG, et al. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla_{NDM-1}, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009; 53: 5046-5054.
- 6 Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis*. 2010, published online August, 11th.
- 7 Anderson KF, Lonsway DR, Rasheed JK, et al. Evaluation of methods to identify the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase in *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol*. 2007;45: 2723-2725.
- 8 Calfee D, Jenkins SG. Use of active surveillance cultures to detect asymptomatic colonization with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Intensive Care Unit patients. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008; 29: 966-968.
- 9 Dellit TH, Owens RC, McGowan JE Jr, Gerding DN, Weinstein RA, Burke JP, Huskins WC, Paterson DL, Fishman NO, Carpenter CF, Brennan PJ, Billeter M, Hooton TM; Infectious Diseases Society of America; Society for Healthcare Epidemiology of America. Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America guidelines for developing an institutional program to enhance antimicrobial stewardship. *Clin Infect Dis*. 2007 Jan 15;44(2):159-77. Epub 2006 Dec 13.
- 10 CDC. Guidance for control of infections with carbapenem-resistant or carbapenemase-producing enterobacteriaceae in acute care facilities. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2009; 58: 256-260.
- 11 Zotti C., Moro M.L. Compendio delle principali misure per la prevenzione e il controllo delle infezioni correlate all'assistenza. Progetto "Prevenzione e controllo delle infezioni nelle organizzazioni sanitarie e socio-sanitarie - INF-OSS" finanziato dal Centro nazionale per la prevenzione e il controllo delle malattie - CCM, 2010, 158 p. http://asr.regione.emilia-romagna.it/wcm/asr/aree_di_programma/rischioinfettivo/gr_ist/pr_inf_ccm/pubblicazioni/compendio/link/linee_guida_inf-oss.pdf