



UNIVERSITA' DI PISA

Facoltà di Medicina e Chirurgia

Scuola di Specializzazione in Anestesia e Rianimazione

Tesi di specializzazione:

*“Klebsiella pneumoniae produttrice di
Carbapenemasi: epidemiologia ospedaliera e
trattamento delle infezioni in Terapia Intensiva”*

Candidato:

Dott. Francesco Sbrana

Relatore:

Dott. Paolo Malacarne

Direttore: Prof. Francesco Giunta

Anno Accademico 2011 – 2012

Indice

Riassunto	pag. 3
Introduzione	pag. 5
Materiali e Metodi	pag. 13
Risultati	pag. 16
Discussione	pag. 28
Conclusioni	pag. 34
Bibliografia	pag. 35

Riassunto

La *Klebsiella pneumoniae* resistente ai carbapenemi ad opera di carbapenemasi di classe A (KPC) sta emergendo come un importante patogeno multiresistente in ambito sanitario. Questo germe, ad oggi, rappresentano una minaccia clinica allarmante.

Lo scopo di questo studio è stato inizialmente quello di censire l'epidemia da KPC insorta dall'aprile del 2010 presso l'Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana e successivamente quello di descrivere il trattamento e l'esito di infezioni da KPC in una singola Unità di Terapia Intensiva (ICU) del ospedale in esame.

Nei 22 mesi in esame sono stati identificati 174 casi di KPC provenienti sia dall'area critica (87 pazienti), che dall'area chirurgica (22 pazienti) che da quella medica (65 pazienti). Il numero totale di infezioni è stato di 86, l'incidenza di nuove infezioni è progressivamente aumentata durante il periodo di osservazione e di questo gruppo di pazienti si sono registrati 30 decessi.

La seconda parte dello studio, condotto in una singola terapia intensiva di 10 letti medico-chirurgica nel periodo aprile-novembre 2011, è stato di tipo osservazionale retrospettivo. Tutti i pazienti infettati con KPC sono stati arruolati. Identificazione batteriologica e la suscettibilità antibiotica sono stati eseguiti in tutti gli episodi di infezione utilizzando un sistema automatico di microdiluzione in brodo (Vitek® 2). Dopo test microbiologico di conferma la suscettibilità per colistina, imipenem, meropenem,

gentamicina, fosfomicina e tigeciclina è stata effettuata anche mediante E-test.

Durante il periodo di studio, 24 pazienti (21 maschi, età 53 ± 17 anni) sono stati arruolati e 29 episodi di infezioni KPC sono stati registrati; il 79% dei pazienti erano politraumatizzati e comorbidità importanti erano presenti nel 50% dei pazienti. Il tasso grezzo di mortalità in ospedale è stato del 20,8%. La terapia antibiotica mirata era composta da 2 o più farmaci nel 87,5% dei pazienti. L'analisi comparata della distribuzione cumulativa delle MIC ha mostrato una presenza più consistente di resistenza agli antibiotici testati con il sistema Vitek® 2 rispetto a E-test. Secondo il metodo di suscettibilità la terapia antibiotica empirica è considerabile efficace solo nel 7% del paziente secondo il sistema Vitek® 2 e nel 94% del paziente secondo l' E-test.

Il sequenziamento del gene blaKPC, eseguita in un sottogruppo di sei casi, ha mostrato che si ha produzione di KPC-3.

Concludendo, in caso di infezioni nosocomiali da KPC in pazienti politraumatizzati e precedentemente in buona salute queste infezioni possono essere trattate con terapia di combinazione di due o più antibiotici e possono avere un successo sia clinico che microbiologico. Rimane ancora da capire quale sia il metodo microbiologico migliore da utilizzare nella pratica clinica per valutare sensibilità e suscettibilità antibiotica dei ceppi di KPC.

Introduzione

La *Klebsiella pneumoniae* è un batterio Gram negativo appartenente agli enterobatteri. A seguito della dell'utilizzo dei carbapenemici come prima linea terapeutica per le infezioni severe causate da enterobatteri produttori di β -lattamasi ad ampio spettro¹ è progressivamente emersa una resistenza anche ai carbapenemici che è dovuta alla produzione, da parte degli enterobatteri, di carbapenemasi.

Le carbapenemasi sono enzimi che idrolizzano i carbapenemici assieme ad altri β -lattamici; le principali classi di carbapenemasi sono la carbapenemasi a serina (Classe A di Ambler), metallo-carbapenemasi (Classe B di Ambler) e l'OXA-carbapenemasi (Classe D di Ambler).

Un problema clinico emergente è legato all'isolamento di *Klebsiella pneumoniae* produttrice di carbapenemasi (KPC) che prevalentemente sono di classe A di Ambler. Questo patogeno, ad oggi, rappresenta un problema terapeutico soprattutto nelle terapie intensive²⁻⁴.

In primo isolamento di KPC si è avuto nel 1996 in North Carolina - USA⁵, successivamente si sono avuti altri isolamenti sempre negli Stati Uniti d'America in aree quali New York City, Pennsylvania e Texas. Il primo isolamento di KPC fuori dagli Stati Uniti d'America si è avuto in Israele e successivamente in Brasile, Argentina e in Europa dove il paese più colpito è stata la Grecia⁴. In Italia la KPC è arrivata a seguito del trasferimento, in una terapia intensiva ligure, di una paziente italiana che era stata ricoverata in un ospedale israeliano a seguito di un politrauma accorso durante

una vacanza in Israele e che durante la degenza nella terapia intensiva israeliana si è colonizzata con la KPC. Il primo caso "autoctono" è stato registrato nel 2008 presso l'ospedale universitario di Firenze e ha interessato una paziente con un'infezione intra-addominale complicata. In questo caso la paziente non aveva avuto contatti con aree endemiche per KPC e l'unico fattore epidemiologico che è stato chiamato in causa sono stati due medici israeliani che si trovavano per uno stage presso la terapia intensiva dove era ricoverata la paziente anche se a due mesi di distanza il tampone rettale in questi due medici è risultato negativo⁶.

Nella **Figura 1** è raffigurata l'estensione della pandemia da KPC.

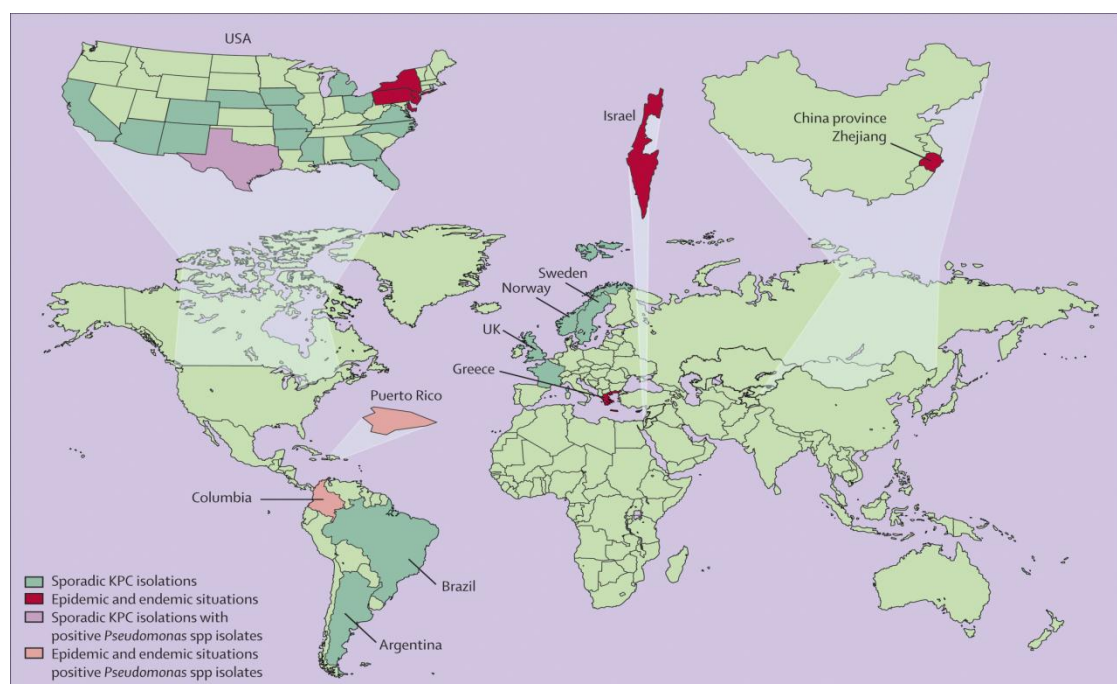


Figura 1. Distribuzione geografica della pandemia da KPC⁴

E' noto che il gene codificante per l'enzima carbapenemasi risiede in un plasmide batterico. Nel primo caso di KPC isolato in

North Carolina - USA, il batterio isolato era resistente a tutti i β -lattamici ma la minima concentrazione inibente (MICs) ai carbapenemici era ridotta dopo l'aggiunta di acido clavulanico (inibitore delle β -lattamasi). La scoperta di questo plasmide codificante per le β -lattamasi, KPC-1, è stato seguito dalla descrizione di altre mutazioni plasmidiche.

Dal punto di vista della sanità pubblica questa condizione è preoccupante perché la rapida diffusione di KPC è soggetta a essere la fonte di molte infezioni nosocomiali, soprattutto in pazienti gravemente compromessi, ed è nota la sua capacità di acquisire e trasferire i caratteri di resistenza anche alle altre *Enterobacteriaceae*⁴.

La strategia per la rilevazione delle carbapenemasi induce uno step di screening, seguito dalla conferma fenotipica e poi, se possibile, da quella genotipica. Bisogna pertanto definire, durante l'esecuzione di un antibiogramma, livelli al di sopra dei quali la presenza di carbapenemasi è probabile per il ceppo batterico in esame. Questi livelli, però, non sempre coincidono con i breakpoints anche se tali livelli sono stati recentemente riconsiderati dall'EUCAST con lo scopo di non perdere i ceppi produttori di carbapenemasi. Si devono quindi considerare dei breakpoints epidemiologici al di sopra dei quali è sempre opportuno eseguire il test di conferma. In questi sarebbe opportuno eseguire la determinazione del gene di resistenza con amplificazione genica per confermare la presenza di carbapenemasi, tale metodica però difficilmente è di routine e spesso richiede l'invio del campione presso un laboratorio di riferimento. In tal caso si possono eseguire test di conferma

fenotipica che per la KPC sono il test di Hodge e il test di inibizione della carbapenemasi⁷.

Il test di Hodge (**Figura 2**) si basa su un germe tester che viene inibito da un dischetto di carbapenemico; vengono poi strisciati con un tampone, radialmente fino al dischetto, tre germi: il controllo positivo, quello negativo e il germe da testare. Se il ceppo in studio produce carbapenemasi questo diffonde nel mezzo e permette anche al germe tester, sensibile al carbapenemico, di crescere all'interno dell'alone. Il problema con il test di Hodge è però una difficile interpretazione dei risultati e il rischio di avere falsi positivi.

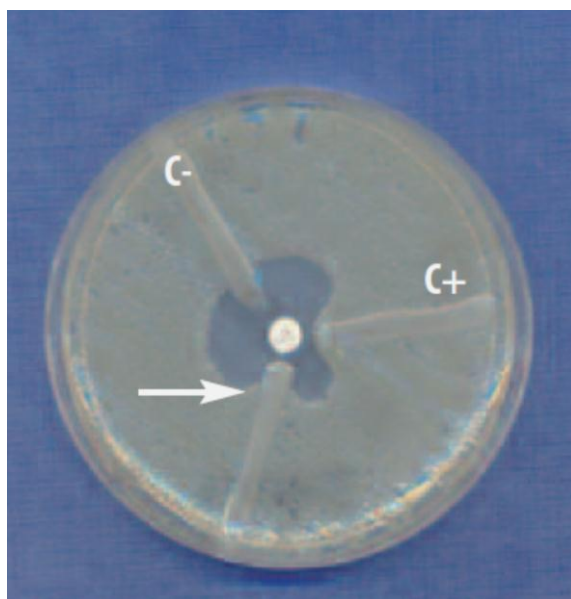


Figura 2. Test di Hodge: C- controllo negativo, C+ controllo positivo, al centro dischetto di ertapenem. La modificazione dell'alone di inibizione (*freccia*) intorno al germe da testare e al controllo positivo conferma la produzione di carbapenemasi⁷.

I test di inibizione della carbapenemasi, invece, si basano su molecole che bloccano l'azione degli enzimi. Se queste molecole

vengono aggiunte ai dischetti dei carbapenemici, questi determinano un aumento dell'alone di inibizione e permettono di dimostrare la presenza dell'enzima. Per la KPC l'inibitore è l'acido boronico (**Figura 3**).

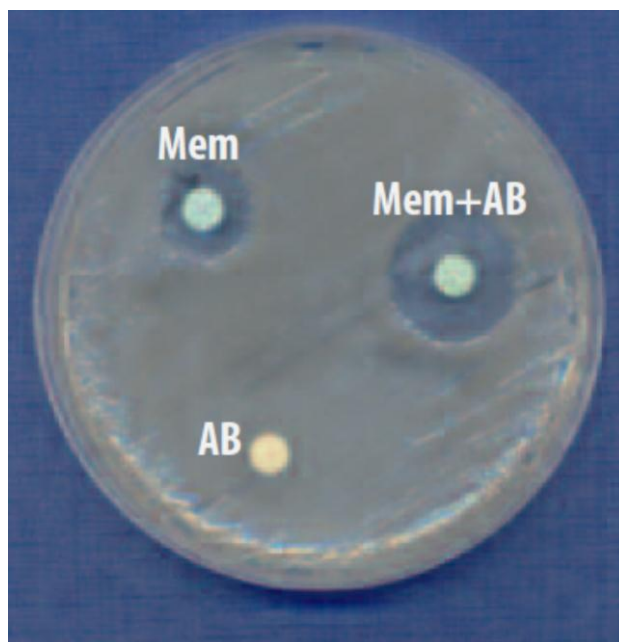


Figura 3. Test di conferma di KPC con acido boronico. Si ha aumento dell'alone di inibizione (>5mm) del dischetto di inibizione di meropenem+acido boronico (Mem+AB) rispetto al solo meropenem (Mem) o al solo acido boronico (AB)⁷.

E' ormai raccomandato che nei reparti ospedalieri dove vi è un isolamento di KPC bisogna testare i pazienti per la colonizzazione fecale e fare una prevalenza puntiforme di tutto il reparto al fine di mettere in isolamento tutti i pazienti che risultassero colonizzati. Lo screening si effettua seminando un tampone rettale su terreno di McConkey ed applicare un dischetto di ertapenem o di meropenem (**Figura 4**). Se vi è crescita di batteri fermentanti mucosi entro 15 mm, questi possono

essere KPC e pertanto devono essere i test di conferma come quelli precedentemente descritti.



Figura 4. Tampone rettale seminato su McConkey agar con aggiunta di un dischetto di carbapenemico. La crescita di colonie mucose fermentanti (rosa/rosse) entro 15 mm dal dischetto (freccia) deve far ipotizzare la presenza di KPC⁷.

Tra i test di identificazione fenotipica convenzionali va anche ricordato l' E-test che si basa sull'utilizzo di strisce di carta sulle quali sono disposti gli antibiotici con concentrazioni scalari. Le strisce sono appoggiate sull'agar dove i batteri sono stati seminati; la MIC si legge dopo 18-24 ore di incubazione come l'intersezione dell'alone di inibizione ellittico con la striscia (**Figura 5**). Tale metodo può essere utilizzato anche per determinare il sinergismo tra due antibiotici.

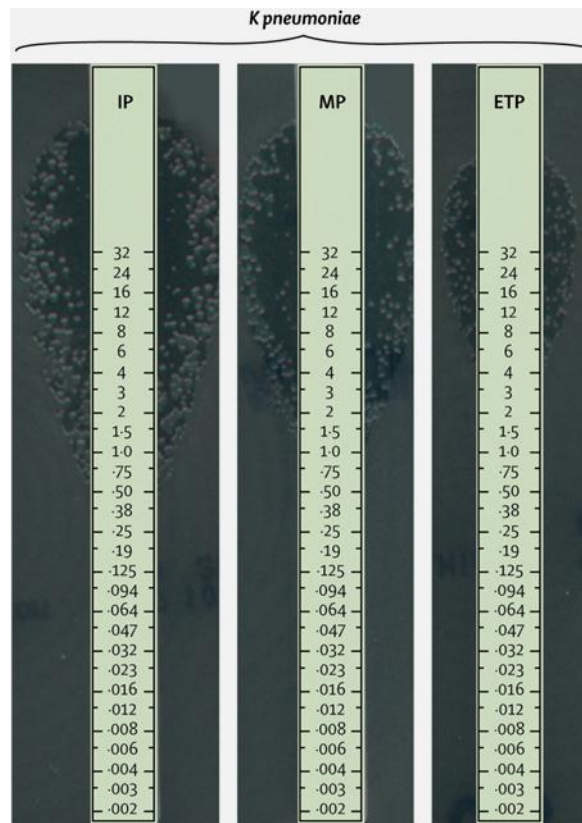


Figura 5. Test di suscettibilità mediante E-test. Il numero sulla striscia rappresenta la MIC ($\mu\text{g/ml}$) per l'antibiotico in questione. IP=imipenem, MP=meropenem, ETP=ertapenem⁴.

A livello clinico il problema relativo alle KPC è che questi batteri sono usualmente resistenti a molte delle classi antibiotiche utilizzate come opzione terapeutica quali gli altri β -lattamici, i chinoloni e gli aminoglicosidi. Il trattamento di queste infezioni rappresenta quindi una sfida prevalentemente legata alle scarse molecole ad oggi disponibili e alla mancanza di promettenti nuovi agenti antimicrobici.

I dati clinici del trattamento delle infezioni da KPC, ad oggi, sono molto limitati e consistono in un piccoli numeri di case reports^{8,9}. Il trattamento ottimale per le infezioni da KPC deve essere ancora standardizzato e dai pochi dati clinici disponibili

emergono solamente delle raccomandazioni per la terapia antibiotica⁸.

Ad oggi, le correnti linee guida e le raccomandazioni per le opzioni terapeutiche delle infezioni da KPC sono teoricamente limitate a colistina, tigeciclina, aminoglicosidi (prevalentemente gentamicina e raramente ampicacina), fosfomicina e/o carbapenemici se la loro MIC è sufficientemente bassa o nel range di concentrazione raggiungibile in vivo. Da riportare però che la singola resistenza a tutti questi antibiotici è già stata descritta per KPC⁹⁻¹³.

Per le infezioni da KPC è stato riportato uno scarso outcome^{11,13,14,15,16} ma i dati riguardo l'outcome clinico rimangono scarsi e i criteri utilizzati per definire la "mortalità attribuibile" sono questionabili^{2,13,14,15}.

Lo scopo del nostro studio, prevede due fasi: la prima finalizzata a censire l'entità del problema all'interno dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana dal primo caso identificato (Aprile 2010) al 31 Dicembre 2011; e la seconda finalizzata a descrivere il trattamento e l'outcome dell'infezione da KPC in una particolare realtà di terapia intensiva dello stesso ospedale: quella riportata presso l'U.O. di Anestesia e Rianimazione di Pronto Soccorso.

Materiali e Metodi

Disegno dello studio. Questo studio è comprensivo di due analisi distinte:

Studio A: un rilevamento puntuale dei casi di KPC evidenziati, dall'Aprile 2010 al Dicembre 2011 all'interno dell'Azienda Ospedaliero Univeritaria Pisana.

Studio B: uno studio retrospettivo osservazionale condotto in una singola unità di terapia intensiva medico-chirurgica e centro di riferimento per i pazienti politraumatizzati. Questo studio è stato condotto tra Aprile e Novembre 2011, sono stati arruolati tutti i pazienti con infezione da KPC e i dati di follow-up sono stati ottenuti contattando l'ospedale di dimissione o di decesso.

Per lo **Studio B** bisogna precisare i seguenti dettagli:

Pazienti. I dati clinici analizzati sono comprensivi di dati demografici, delle caratteristiche cliniche del paziente all'ammissione, degli score SOFA¹⁷ e SAPS2¹⁸ all'ammissione, di sede, severità e trattamento delle infezioni e dei dati riguardanti l'outcome clinico del paziente.

Parametri microbiologici. L'identificazione delle specie di batteri isolati da un campione clinico e i test per la sensibilità con la determinazione MIC sono state eseguite in tutti gli episodi di infezione usando un sistema automatizzato di microdiluzione in brodo (Vitek® 2, bioMérieux, Mercy L'Etoile - Francia) utilizzando la AST-N 089 panel card; si segnala che la fosfomicina non è testata da questa scheda.

Inoltre per gli isolati sospetti è stato eseguito il test di conferma per KPC utilizzando un metodo diretto di screening

fenotipico, denominato “direct test di screening KPC” (DKST), progettato per rilevare KPC. Il DKST è stato effettuato inoculando il ceppo isolato direttamente su una piastra di agar McConkey per ottenere sia crescita uniforme che colonie isolate, e ponendo due dischi, uno contenente meropenem (MEM, 10 pg) e l'altra contenente MEM (10 pg) più acido 3 aminophenilboronico (PB, 600 microgrammi). La lettura delle piastre è stata effettuata dopo una notte di incubazione a 37 ° C. Secondo i risultati delle prove preliminari, la DKST è stata considerato positiva per KPC in presenza di un lattosio-fermentazione e di una crescita batterica di colonie mucoidi in una zona di inibizione attorno al dischetto PB-MEM il cui diametro è maggiore di almeno 5 mm di quello attorno al dischetto MEM.

Dopo aver confermato la presenza di un ceppo KPC è stato effettuato E-test (AB-Biodisk, Solna - Svezia) per testarne la sensibilità a colistina, imipenem, meropenem, gentamicina, fosfomicina, tigeciclina¹⁶.

Le MIC sono state interpretate secondo le linee guida del Comitato Europeo per i test di sensibilità antimicrobici (EUCAST)¹⁹: ≤ 2 mg/L per la suscettibilità alla colistina, ≤ 1 mg/L per quella della tigeciclina, ≤ 32 mg/L per quella della fosfomicina, ≤ 2 mg/L per quella di meropenem e imipenem, $\leq 0,5$ mg/L per la suscettibilità all'ertapenem e ≤ 2 mg/L la suscettibilità alla gentamicina.

La terapia antibiotica intrapresa è stata ritenuta appropriata in presenza si entrambe le seguenti condizioni: almeno uno dei farmaci utilizzati era efficace in vitro e se la terapia antibiotica era stata iniziata entro 24 ore dalla diagnosi clinica di infezione.

In un piccolo sottogruppo di pazienti con infezione da KPC la presenza del gene blaKPC è stata determinata mediante amplificazione genica di 1011 bp grazie ad un'analisi bidirezionale della sequenza di DNA per l'identificazione delle varianti di KPC²⁰. Per caratterizzare meglio la diffusione di questo meccanismo di resistenza, abbiamo utilizzato la “multi locus sequence typing” (MLST) per studiare la corrispondenza genetica tra gli isolati, secondo il protocollo descritto nella *Klebsiella pneumoniae* MLST website²¹.

Risultati

Studio A

Questo studio che è stato condotto su un periodo di 22 mesi (da Aprile 2010 a Dicembre 2011) ha consentito di censire i casi di KPC registrati presso l'Azienda Ospedaliero Univeritaria Pisana dal primo isolamento (11 Aprile 2011) fino al termine dello periodo di osservazione. Sono stati identificati 174 casi di KPC provenienti sia dall'area critica (87 pazienti), che dall'area chirurgica (22 pazienti) che da quella medica (65 pazienti).

In **Figura 6** è schematizzata la provenienza dei casi di KPC in base all'area di provenienza.

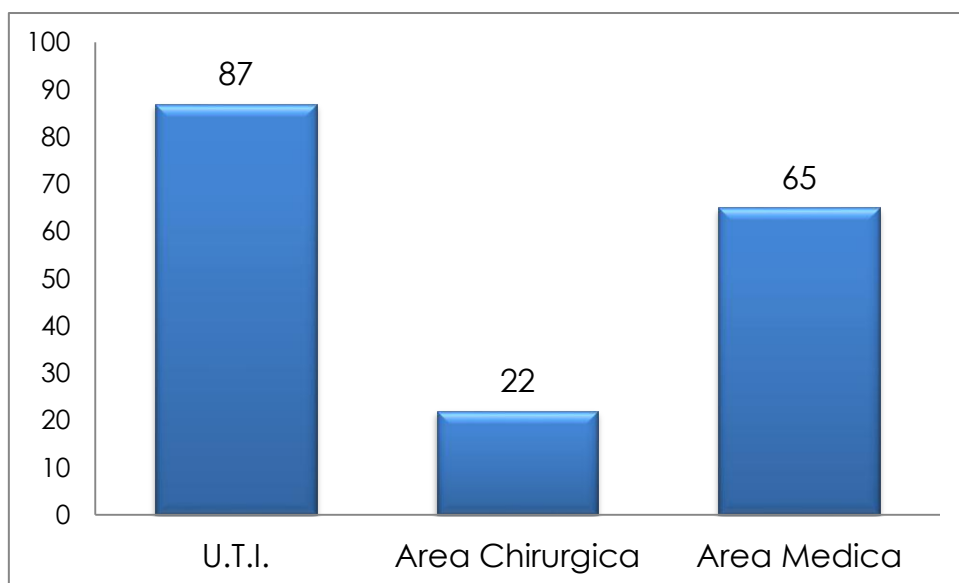


Figura 6. Aree di provenienza dei casi di KPC.

Durante il periodo in studio è stato osservato un progressivo incremento di incidenza di nuovi casi sia come numero di casi (pazienti colonizzati e pazienti con infezione da KPC) che solo come numero di infezioni da KPC (**Figura 7 e 8**)²².

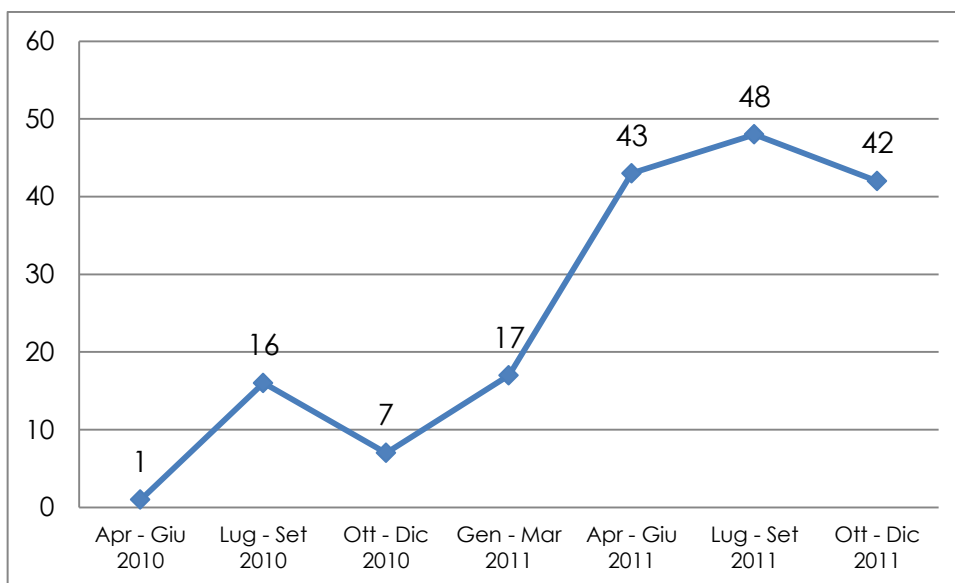


Figura 7. Numero di nuovi casi di KPC per trimestre.

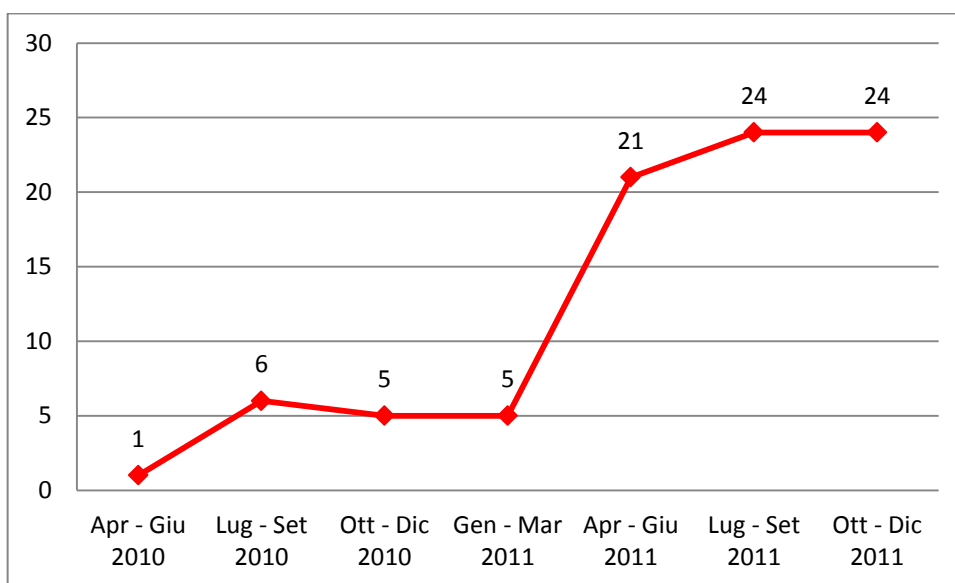


Figura 8. Numero di nuove infezioni da KPC per trimestre.

Le “prime” infezioni da KPC registrate sono state in totale 86. Di queste si sono identificate 35 setticemie, 22 infezioni delle vie respiratorie, 13 infezioni delle vie urinarie, 10 infezioni addominali e 6 infezioni di altre sedi quali infezioni dei tessuti molli o del piede diabetico. In **Figura 9** è rappresentata la distribuzione delle infezioni da KPC²².

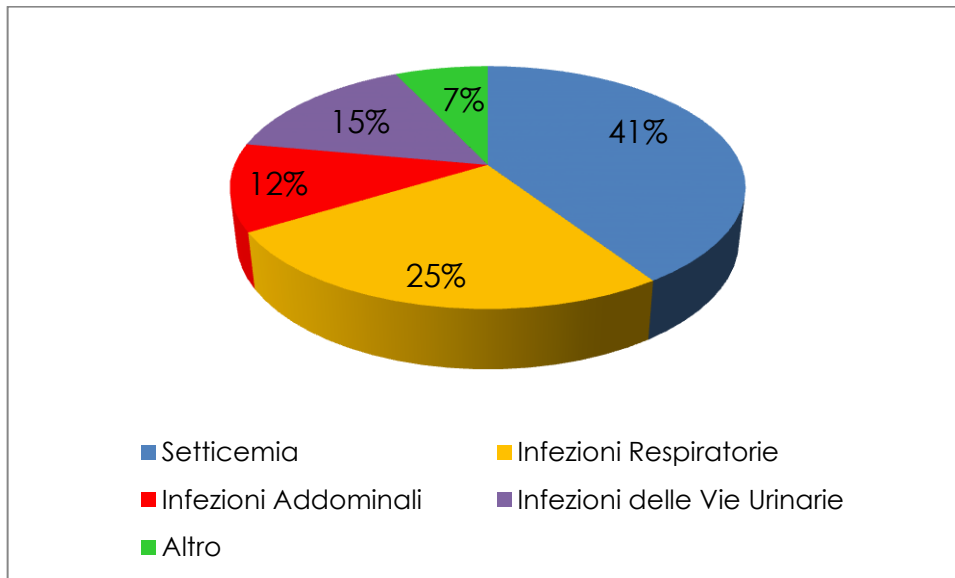


Figura 9. Distribuzione delle infezioni da KPC.

Tra i 174 casi di KPC si sono registrati 36 decessi e di questi 30 sono accorsi in soggetti con infezione da KPC. Si è registrato, quindi, il decesso del 35% dei pazienti con infezione da KPC.

Studio B

Durante il periodo di studio, un totale di 24 pazienti (21 maschi, età 53 ± 17 anni) sono stati infettati con dalla KPC. Le caratteristiche cliniche e demografiche di questi pazienti sono riportate in **Tabella 1** e in **Tabella 2**. Un totale di 29 episodi di infezione sono stati rilevati: cinque pazienti hanno avuto due infezioni diverse. Il sito di infezioni, il trattamento adottato, la sua adeguatezza ed i risultati clinici sono riportati in **Tabella 2**.

Tra le 29 infezioni si sono registrate: 16 polmoniti associate al ventilatore (VAP) cinque delle quali associate a batteriemia, 7 infezione associata a catetere venoso centrale (BSI-CR), 3 infezioni

delle vie urinarie (UTI), 1 batteriemia ad origine sconosciuta, 1 peritonite e 1 infezione dei tessuti molli batteriémica.

Caratteristiche	Pazienti con infezione da KPC (n = 24)
Sesso maschile	21 (87,5%)
Età, media anni \pm SD	53 \pm 17
Reparto di provenienza	
Altra ICU	1
Reparto Medico	2
Reparto Chirurgico	3
Pronto Soccorso	17
Trasferimento da altro ospedale	1
Richiesta di ventilazione meccanica	24
Richiesta di terapia renale sostitutiva	0
Immunosoppressione	0
SOFA, media \pm SD	9,63 \pm 3,35
SAPS II, media \pm SD	50,17 \pm 15,78
Mortalità cruda alla dimissione ospedaliera	5 (20,8%)

Tabella 1. Caratteristiche cliniche e demografiche dei 24 pazienti con infezione da KPC.

Tra i 24 pazienti dello studio, 2 sono deceduti in terapia intensiva (uno per shock emorragico, l'altro per perforazione intestinale) e 3 sono morti prima della dimissione ospedaliera. Nei due pazienti che sono morti in terapia intensiva la causa della morte non è correlabile con l'infezione KPC. Per quanto riguarda i 3 pazienti deceduti dopo la dimissione dalla terapia intensiva solo

uno è morto a causa dell'infezione KPC, gli altri due sono morti a causa delle gravi sequele neurologiche secondarie al danno cerebrale precoce e non è presente una correlazione con l'esito dell'infezione KPC da cui sono clinicamente guariti.

Negli altri 19 pazienti si è ottenuta una guarigione clinica dell'infezione da KPC, anche se questi pazienti hanno mantenuto una colonizzazione rettale e/o bronchiale. La persistenza della colonizzazione da KPC è stata comunicata al momento del trasferimento in modo da mantenere il paziente in "isolamento da contatto" con il fine di limitare la diffusione della KPC^{3,4,23}.

I risultati dei test di suscettibilità eseguiti con sistema Vitek® 2 e con E-test sono riportati nella **Tabella 3**. I test di sensibilità sono stati eseguiti con il metodo automatico Vitek® 2 in tutti i 29 isolamenti; il test di conferma diretta con il metodo di screening fenotipico (DKST) e con E-test sono stati eseguiti in 17 casi.

I test di sensibilità eseguiti con il sistema Vitek® 2 hanno mostrato una resistenza alla colistina (MIC >2 mg/L) in 26 su 29 isolati (90%), resistenza a tigeciclina (MIC >1 mg/L) in 26 su 28 isolati (93%), resistenza alla gentamicina (MIC >2 mg/L) in 27 su 29 isolati (93%), la MIC del meropenem è risultata >16 mg/L in 28 su 29 isolati (96%).

In caso contrario al sistema Vitek® 2 i test di sensibilità eseguite nei 17 casi con E-test dimostrano una resistenza alla colistina in 13 isolati (76%), resistenza alla tigeciclina in 5 isolati (29%), resistenza a gentamicina in 3 isolati (18%), resistenza a fosfomicina in 4 episodi (23%). È interessante notare che in 13 isolati resistenti alla colistina, mentre i valori di MIC per il sistema

Vitek® 2 è sempre maggiore di 16, per E-test, la MIC è ≤ 8 in 11 casi (**Tabella 4**).

La terapia antibiotica empirica intrapresa non è stata modificata in 16 casi su 27 casi di infezione trattati (59,2%). Da sottolineare che 2 dei 24 pazienti non sono stati trattati durante il ricovero in terapia intensiva perché un paziente è morto di shock emorragico prima che fossero disponibili i risultati microbiologici e, nell'altro paziente, il trattamento antibiotico è stato iniziato dopo la dimissione dalla terapia intensiva ottenendo comunque la guarigione dell'infezione dei tessuti molli batteriemica.

Secondo i criteri adottati per questo studio la terapia antibiotica empirica è risultata appropriata secondo i dati del sistema Vitek® 2 solo in 2 su 29 (7%) episodi di infezione da KPC; secondo l' E-test, invece, la terapia antibiotica empirica è risultata appropriata in 16 su 17 (94%) episodi di infezione da KPC.

La terapia antibiotica mirata era composta da 4 farmaci in 1 paziente, 3 farmaci in 12 pazienti, 2 farmaci in 8 pazienti e 1 da un farmaco in 1 paziente. La terapia antibiotica mirata più frequente è stata tigeciclina più gentamicina in 5 casi, seguita da tigeciclina più gentamicina e fosfomicina in 4 casi; tigeciclina più gentamicina e colistina in 3 casi; tigeciclina più colistina e fosfomicina in 2 casi.

Tra i singoli antibiotici la molecola più comunemente utilizzata è stata la tigeciclina; è stata utilizzata in 22 su 29 episodi infettivi da KPC, alla dose di 100 mg BD²⁴. In 16 di questi 22 episodi di infezione, il test eseguito con il sistema Vitek® 2 ha mostrato una MIC tra 2 e 4 che in base ai criteri EUCAST risulta essere resistente. Nei casi testati con E-test la MIC della tigeciclina era ≥ 2 solo in 5

casi. Tigeciclina è stata usata in combinazione con altri antibiotici in 21 casi: in 9 con colistina, in 18 con gentamicina, in 11 con fosfomicina e in 3 con meropenem.

Il secondo antibiotico più comunemente usato è stato la gentamicina; è stata utilizzata in 20 su 29 infezioni da KPC (17 su 24 pazienti). È stata somministrata una volta al giorno alla dose di 5-7 mg/Kg. In 19 di questi 20 casi, secondo il sistema Vitek® 2 è stata riportata una MIC >2 che secondo EUCAST risulta essere resistente, mentre in 13 ceppi batterici testati con E-test si riporta una MIC >2 solo in 2 casi. La gentamicina non è stata somministrata in ionoterapia; in 8 casi è stata associata con un altro antibiotico e in 13 casi è stata associata a due o più farmaci.

La fosfomicina è stata utilizzata in 12 pazienti, è stata somministrata alla dose di 3 gr TD, è stato somministrato con un altro antibiotico in un caso e con altri due farmaci negli altri 11 casi.

La colistina metansolfonato è stato utilizzato in 12 su 29 infezioni da KPC (10 su 24 pazienti), è stata somministrata in 3 ore alla dose di 9 milioni di UI OD. In 2 casi è stata associata con un altro antibiotico e in 10 casi è stato associato a due o più farmaci. In 10 dei 12 ceppi batterici testati con sistema Vitek® 2 è stata riportata una MIC > 2 che secondo EUCAST risulta essere resistente, mentre nei 7 casi testati con E-test una MIC > 2 è stata trovata solamente in 3 casi.

Il meropenem è stato somministrato in 4 pazienti alla dose di 2 gr TD, è stato somministrato per infusione prolungata di 4 ore²⁵; è sempre stato somministrato in combinazione con altri antibiotici e

con un MIC >16 che in base alle linee guida EUCAST risulta essere resistente.

L'analisi comparata della distribuzione cumulativa delle MIC eseguita con sistema Vitek® 2 e con E-test per colistina, gentamicina, tigecyclin, meropenem e imipenem, ha mostrato una presenza più consistente di resistenza agli antibiotici testati con il sistema Vitek® 2 rispetto all'E-test (**Figura 10**).

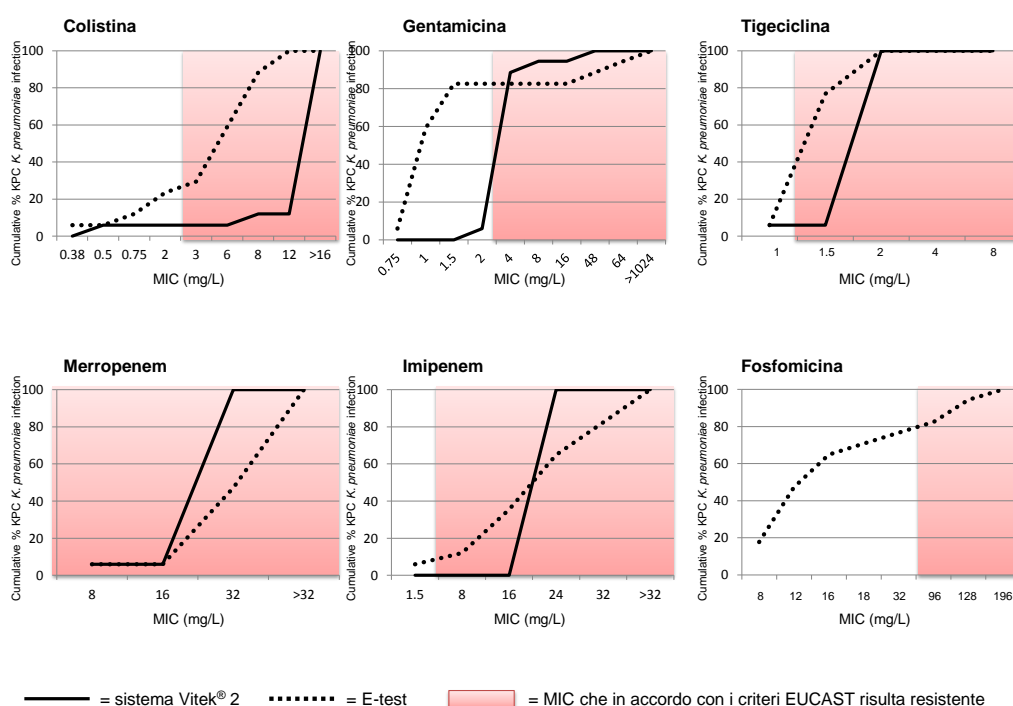


Figura 10. Distribuzioni cumulative delle MIC per gli antibiotici nelle infezioni da KPC; analisi comparativa tra sistema Vitek® 2 e E-test.

Il sequenziamento del gene blaKPC ha dimostrato che tutti gli isolati producono KPC-3. La tipizzazione molecolare mediante analisi MLST degli isolati ottenuti da sei pazienti, ha evidenziato la diffusione in terapia intensiva di due ceppi diversi, rappresentati da ST512 e ST101. Il primo, appartenente alla pandemia clonale

del complesso 258 che è il ceppo epidemico predominante identificato presso l'Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana ma diversi isolati con genotipi distinti sono stati trovati nello stesso paziente, confermando la circolazione intra- ed interospedaliera di ceppi di *Klebsiella pneumoniae* produttori dell'enzima KPC-3.

Paziente	Età,anni	Comorbidità	SOFA Score	SAPS 2 Score	Sede d' Infezione	Severità della sepsi	ICU outcome del Trattamento (outcome finale)	Terapia antibiotica mirata intrapresa	
1	CM	65	AH, HF, COPD	9	41	VAP batteriemica	Shock settico	Successo (decesso dopo la dimissione)	COL, GEN, FOS
2	SS	63	---	10	55	BSICR	Shock settico	Successo (dimesso)	TIG, COL, FOS
3	PT	32	---	7	24	peritonite e secondariamente VAP	Sepsi severa	Successo (dimesso)	TIG, COL, FOS
4	MA	56	---	9	33	VAP e secondariamente UTI	Sepsi severa	Successo (dimesso)	TIG, COL, GEN, MEM
5	MGG	59	---	10	50	VAP	Sepsi severa	Successo (dimesso)	TIG, GEN
6	PP	61	---	11	64	VAP	Sepsi severa	Successo (dimesso)	TIG, GEN
7	CG	35	---	8	61	VAP	Sepsi	Successo (dimesso)	TIG, COL, GEN
8	LM	22	AIDS	9	61	VAP batteriemica	Sepsi severa	Successo (dimesso))	TIG, GEN
9	BO	76	AH, HF, COPD	13	75	UTI	Shock settico	Successful (death after discharge)	TIG, GEN, FOS
10	GM	39	insuff renale cronica	10	46	VAP batteriemica e secondariamente BSICR	Sepsi severa	Successo (dimesso)	TIG, GEN, FOS
11	FT	75	AH, DM	9	48	BSICR	Sepsi severa	Successo (decesso dopo la dimissione)	COL, GEN, MEM
12	CL	65	AH	10	55	BSI	Sepsi severa	Successo (dimesso)	TIG, COL, GEN
13	TR	40	---	8	32	VAP e secondariamente BSICR	Sepsi severa	Successo (dimesso)	TIG, GEN, FOS
14	MFe	88	AH	12	72	VAP	Shock settico	Fallimento (decesso per shock emorragico)	Non Trattato*
15	MFI	56	AH, DM, OSAS	11	54	BSICR	Sepsi severa	Successo (dimesso)	TIG
16	BM	23	---	4	27	BSICR	Sepsi severa	Successo (dimesso)	TIG, GEN, MEM
17	NGA	42	HCV, tossicodipendenza	16	68	BSICR e secondariamente VAP	Sepsi severa	Successo (dimesso)	TIG, GEN, FOS
18	FF	52	---	1	24	VAP	Sepsi severa	Successo (dimesso)	TIG, GEN
19	BR	57	CAD, AH, insuff renale cronica	11	46	VAP	Sepsi severa	Successo (dimesso)	TIG, GEN
20	DP	62	AH	11	63	VAP batteriemica	Sepsi severa	Successo (dimesso)	TIG, COL, GEN
21	CA	56	AH, DM	11	75	UTI	Sepsi severa	Successo (dimesso)	COL, GEN
22	AB	30	---	8	33	Infezione dei tessuti molli batteriemica	Sepsi severa	Successo (dimesso)	Non Trattato §
23	RR	65	DM, eteroplasia	17	55	VAP batteriemica	Shock settico	Fallimento (decesso per perforazione intestinale)	TIG, FOS
24	CE	62	AH, CAD, HF	6	42	VAP	Sepsi severa	Successo (dimesso)	COL, MEM

Note: AH: ipertensione arteriosa, BSI: batteriemia, BSICR: BSI relata a CVC, CAD: malattia coronarica, COL: colistina, COPD: bronco pneumopatia cronica ostruttiva, DM: diabete mellito, FOS: fosfomicina, GEN: gentamicina, MEM: meropenem, TIG: tigeciclina, VAP: polmonite associata al ventilatore, HF: scompenso cardiaco, OSAS: sindrome delle apnee notturne, AIDS: sindrome da immunodeficienza acquisita, HCV: infezione da HCV. * = paziente deceduto per shock emorragico prima della disponibilità dei test microbiologici. § = terapia antibiotica intrapresa dopo la dimissione dall' ICU.

Tabella 2. Dati demografici, caratteristiche cliniche e outcome dei 24 pazienti con infezione da KPC.

Infezione	Paz.	Sede d'infezione	Terapia antibiotica mirata intrapresa	COL				GEN				TIG				MEM				IMP				FOS	
				Vitek® 2		E-test		Vitek® 2		E-test		Vitek® 2		E-test		Vitek® 2		E-test		Vitek® 2		E-test		E-test	
				MIC	Sus.	MIC	Sus.	MIC	Sus.	MIC	Sus.	MIC	Sus.	MIC	Sus.	MIC	Sus.	MIC	Sus.	MIC	Sus.	MIC	Sus.	MIC	Sus.
1	CM	VAP batteriemica	COL, GEN, FOS	>16	R	6	R	4	R	1	S	2	R	1,5	I	>16	R	32	R	>16	R	32	R	12	S
2	SS	BSICR	TIG, COL, FOS	>16	R	2	S	>16	R	1	S	2	R	2	R	8	R	8	R	>16	R	1,5	S	128	R
3	PT	peritonite	TIG, COL, FOS	0,5	S	0,38	S	8	R	>1024	R	1	S	2	R	>16	R	>32	R	>16	R	>32	R	192	R
4	PT	VAP	TIG, COL, FOS	0,5	S	Non testato		2	S	Non testato		1	S	Non testato		>16	R	Non testato		>16	R	Non testato		Non testato	
5	MA	VAP	TIG, COL, GEN, MEM	8	R	8	R	4	R	1	S	2	R	2	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	96	R
6	MA	UTI	TIG, COL, GEN, MEM	2	S	Non testato		4	R	Non testato		Non testato		Non testato		>16	R	Non testato		>16	R	Non testato		Non testato	
7	MGG	VAP	TIG, GEN	>16	R	12	R	4	R	1,5	S	2	R	1,5	I	>16	R	>32	R	>16	R	24	R	12	S
8	PP	VAP	TIG, GEN	>16	R	8	R	4	R	1	S	2	R	1,5	I	>16	R	>32	R	>16	R	16	R	12	S
9	CG	VAP	TIG, COL, GEN	>16	R	Non testato		4	R	Non testato		2	R	Non testato		>16	R	Non testato		>16	R	Non testato		Non testato	
10	LM	VAP batteriemica	TIG, GEN	>16	R	12	R	4	R	0,75	S	2	R	1,5	I	>16	R	>16	R	>16	R	16	R	32	S
11	BO	UTI	TIG, GEN, FOS	>16	R	Non testato		4	R	Non testato		2	R	Non testato		>16	R	Non testato		>16	R	Non testato		Non testato	
12	GM	VAP batteriemica	TIG, GEN, FOS	>16	R	Non testato		4	R	Non testato		2	R	Non testato		>16	R	Non testato		>16	R	Non testato		Non testato	
13	GM	BSICR	TIG, GEN, FOS	>16	R	Non testato		4	R	Non testato		2	R	Non testato		>16	R	Non testato		>16	R	Non testato		Non testato	
14	FT	BSICR	COL, GEN, MEM	>16	R	Non testato		4	R	Non testato		2	R	Non testato		>16	R	Non testato		>16	R	Non testato		Non testato	
15	CL	BSI	TIG, COL, GEN	>16	R	0,75	S	4	R	48	R	2	R	1,5	I	>16	R	>32	R	>16	R	8	R	18	S
16	TR	VAP	TIG, GEN, FOS	>16	R	6	R	4	R	1,5	S	2	R	1,5	I	>16	R	>32	R	>16	R	16	R	8	S
17	TR	BSICR	TIG, GEN, FOS	>16	R	6	R	4	R	1,5	S	2	R	1,5	I	>16	R	>32	R	>16	R	16	R	8	S
18	MFe	VAP	Non intrapresa	>16	R	Non testato		4	R	Non testato		2	R	Non testato		>16	R	Non testato		>16	R	Non testato		Non testato	
19	MFI	BSICR	TIG	>16	R	Non testato		4	R	Non testato		2	R	Non testato		>16	R	Non testato		>16	R	Non testato		Non testato	
20	BM	BSICR	TIG, GEN, MEM	>16	R	3	R	4	R	64	R	2	R	4	R	>16	R	>32	R	>16	R	>32	R	128	R
21	NGA	BSICR	TIG, GEN, FOS	>16	R	6	R	2	S	1	S	2	R	1,5	I	>16	R	>32	R	>16	R	24	R	16	S
22	NGA	VAP	TIG, GEN, FOS	>16	R	6	R	4	R	1	S	2	R	1,5	I	>16	R	>32	R	>16	R	24	R	16	S
23	FF	VAP	TIG, GEN	>16	R	Non testato		4	R	Non testato		4	R	Non testato		>16	R	Non testato		>16	R	Non testato		Non testato	
24	BR	VAP	TIG, GEN	>16	R	8	R	4	R	1	S	2	R	1,5	I	>16	R	>16	R	>16	R	32	R	16	S
25	DP	VAP batteriemica	TIG, COL, GEN	>16	R	8	R	4	R	1,5	S	2	R	2	R	>16	R	>16	R	>16	R	32	R	8	S
26	CA	UTI	COL, GEN	>16	R	2	S	4	R	1	S	2	R	1,5	I	>16	R	>16	R	>16	R	24	R	12	S
27	AB	Infezione dei tessuti molli batteriemica	Non intrapresa	>16	R	Non testato		4	R	Non testato		2	R	Non testato		>16	R	Non testato		>16	R	Non testato		Non testato	
28	RR	VAP batteriemica	TIG, FOS	>16	R	8	R	4	R	1	S	2	R	1,5	I	>16	R	>16	R	>16	R	>32	R	12	S
29	CE	VAP	COL, MEM	>16	R	Non testato		>16	R	Non testato		4	R	Non testato		>16	R	Non testato		>16	R	Non testato		Non testato	

Note: BSI: batteriemia, BSICR: BSI relata a CVC, COL: colistina, FOS: fosfomicina, GEN: gentamicina, IMP: imipenem, MEM: meropenem, MIC: minima concentrazione inibente (mg/L), TIG: tigeciclina, VAP: polmonite associata al ventilatore

Tabella 3. Comparazione, secondo le linee guida EUCAST, dei test di suscettibilità tra sistema Vitek® 2 e E-test per le infezioni da KPC.

COL			GEN			TIG			MEM			IMP			FOS	
MIC (mg/L)	Vitek® 2	E-test	MIC (mg/L)	Vitek® 2	E-test	MIC (mg/L)	Vitek® 2	E-test	MIC (mg/L)	Vitek® 2	E-test	MIC (mg/L)	Vitek® 2	E-test	MIC (mg/L)	E-test
0.38		1	0.75		1	1	1	1	8	1	1	1.5		1	8	3
0.5	1		1		9	1.5		12	16			8		1	12	5
0.75		1	1.5		4	2	16	4	32	16	7	16		4	16	3
2		2	2	1		4			>32		9	24	17	5	18	1
3		1	4	14								32		3	32	1
6		5	8	1								>32		3	96	1
8	1	5	16												128	2
12		2	48	1	1										192	1
16			64		1											
>16	15		>1024		1											

Note: COL: colistina, FOS: fosfomicina, GEN: gentamicina, IMP: imipenem, MEM: meropenem, TIG: tigeciclina

Table 4. Comparazione tra le MIC degli antibiotici per il sistema Vitek® 2 e E-test in accordo con le linee guida EUCAST per la suscettibilità delle infezioni da KPC.

Discussione

I dati di questo studio permettono di focalizzare: 1) la presenza di un problema epidemico in espansione; 2) il relativo buon esito dei pazienti dello studio B; 3) l'importanza del test di sensibilità adottata; 4) l'adeguatezza della terapia antibiotica eseguita.

Dai dati presentati nello studio A si evince l'importanza del problema che ha ormai carattere epidemico anche all'interno dell'Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana.

Nello studio B, si mostra un buon risultato per le infezioni nosocomiali dovute a KPC contratte nell'ambiente di terapia intensiva in esame. Anche se diversi studi focalizzati sulla diffusione ospedaliera di un focolaio, o sull'epidemiologia molecolare o sulla sensibilità in vitro dei ceppi isolati, pochi studi incentrato la loro attenzione sulle caratteristiche cliniche dei pazienti infettati, del loro trattamento e dell'esito dell'infezione^{2,3,8,9,10,11,12,13,14,15,16,26,27,28}; e ad oggi il trattamento ottimale per l'infezione da KPC ottimale non è ben stabilito⁴.

I ceppi di KPC sono quasi sempre resistenti ai beta-lattamici e a diverse altre classi di agenti antimicrobici, compresi chinolonici e aminoglicosidi, con conseguente multiresistenza (MDR)^{8,11}. Il numero di farmaci che potrebbero essere utilizzato è limitato a: tigeciclina, colistina, gentamicina, fosfomicina, e nel caso di MIC vicina al breakpoint clinico, meropenem o imipenem. Purtroppo la resistenza alla tigeciclina e la colistina, farmaci di "ultima istanza", è già stata segnalata^{9,10,12,25,28,29}. I farmaci di salvataggio, ad eccezione dei carbapenemici, non hanno una buona cinetica

pk/pd per curare una polmonite (tigeciclina e colistina) o un'infezione del sangue (tigeciclina).

I dati di out come riportati in letteratura sono negative: la mortalità ospedaliera cruda osservata in pazienti con infezione da KPC oscilla dal 48,8%¹³ al 58,8%² in studi che includono diversi siti di infezione, e in caso di batteriemia è tra il 47%²⁸ e il 79%¹⁶. Per le infezioni da KPC i fattori associati con la prognosi infausta, rispetto a infezioni dovute a ceppi sensibili, sono una maggiore gravità della malattia di base come la storia clinica scompenso cardiaco¹³, insufficienza renale¹³ o epatica¹⁶, recente trapianto¹⁶, eteroplasia concomitante¹⁵ e la terapia antibiotica inappropriata^{13,14} in termini di ritardo nella somministrazione della terapia antibiotica con sensibilità in vitro per il germe in questione. D'altra parte la rimozione iniziale del sito d'infezione¹³ infetto e il trauma come motivo per l'ammissione¹⁴ sono suggeriti come fattori protettivi.

Nel nostro studio B, il tasso grezzo di mortalità alla dimissione è 20,8% (5 su 24 pazienti), che è molto inferiore a quello riportato da altri autori. Diverse spiegazioni possono essere date per questi dati. Nel nostro studio, rispetto alla letteratura, abbiamo:

1) Un diverso case-mix dei pazienti. Ci sono molti pazienti senza comorbidità importanti (12 su 24 pazienti) e molti erano politraumatizzati (19 su 24 pazienti). A nostro parere, l'alta mortalità ospedaliera può riflettere la gravità della patologia di base, piuttosto che l'infezione da KPC.

2) Nessuno dei nostri 7 pazienti con BSI-CR è morto. Questo è stato possibile, a accordo Patel¹³, a seguito della rimozione iniziale

del CVC come fonte di infezione. La rimozione è stata effettuata, in tutti i casi, entro 24 ore dalla diagnosi clinica di infezione.

3) Diverso case-mix del sito d'infezione da KPC. Nei nostri casi, la VAP è stata l'infezione più comune con il 55,1%; le peritoniti sono il 3,4% e l'infezione del circolo sanguigno (casi primari o catetere-correlate) sono il 27,5% dei casi. Questi dati sono diversi da quelli di Souli² (12 infezione del torrente ematico e 2 infezioni del tratto respiratorio inferiore su 18 casi) o di Patel¹³ (56 infezioni del torrente ematico e 34 infezioni addominali su 99 casi).

4) Nell'unità di terapia intensiva dove si è svolto lo studio B, vengono regolarmente effettuate due volte a settimana colture di sorveglianza (tamponi rettali e le secrezioni bronchiali) al fine di ottenere la diagnosi precoce di colonizzazione da KPC. Come suggerito da Calfee³⁰ questa accortezza permette di adottare una strategia preventiva. Le colture di sorveglianza consentono anche, in caso di segni clinici di infezione, di guidare una terapia antibiotica empirica migliorando i dati dell'outcome.

In questa serie di casi, la terapia antibiotica appropriata è intesa come farmaci e come tempistica (almeno un farmaco con suscettibilità *in vitro* per la KPC è stato somministrato entro le 24 ore dalla diagnosi clinica di infezione) solamente in 2 casi (7%) delle 27 infezioni trattate se ci riferiamo ai profili di suscettibilità mostrati dal sistema Vitek[®] 2. Se, invece, si fa riferimento ai profili di suscettibilità mostrati dal E-test, l'adeguatezza della terapia era molto più alto (16 su 17 casi, 93%).

La differenza di sensibilità tra sistema Vitek[®] 2 e E-test lascia molti dubbi sia al medico, che deve impostare la terapia di combinazione sui profili di suscettibilità del microrganismo, che al

microbiologo che deve decidere qual è il test di sensibilità più opportuno da eseguire per fornire al medico le informazioni più giuste.

La **Figura 1** mostra una discrepanza tra il sistema Vitek® 2 e l'E-test. Con l'E-test si recupera un'alta percentuale di sensibilità a gentamicina, tigeciclina e meno alla colistina. Questi dati combinati con la conoscenza della sensibilità per la fosfomicina potrebbe spiegare l'elevata percentuale di successo raggiunto in questi pazienti.

Questo serie di casi, anche se limitata e che richiede conferma da ulteriori studi, permette di consigliare non solo l'uso di metodi automatici come il sistema Vitek® 2, ma anche l'E-test, e la necessità di testare la sensibilità della KCP alla fosfomicina.

Nel 40,8% degli episodi infettivi da KPC trattati è stata modificata la terapia antibiotica empirica secondo il test di sensibilità, per cui vi è una discrepanza tra l'adeguatezza della terapia antibiotica e il positivo out come clinico. Patel¹³ inoltre non riesce a dimostrare un'associazione tra la somministrazione tempestiva degli antibiotici e l'adeguata sopravvivenza paziente. Alla luce del buon esito che abbiamo evidenziato, ci si deve chiedere se la definizione comunemente accettata di "appropriatezza" della terapia antibiotica, peraltro utilizzato anche da noi, è da rivalutare in caso di germi così fortemente multi-resistenti. In questo caso la terapia combinata a base di molecole che prese singolarmente sono inefficaci, secondo le linee guida EUCAST¹⁹, ma possono rivelarsi efficaci nelle prove di sinergia così da come nella pratica clinica e quindi giustamente definite appropriate.

Pertanto la conoscenza di alcuni sinergismi può essere utile per impostare una miglior terapia di combinazione contro le infezioni da KPC. Probabilmente nel prossimo futuro saremo più interessati ai risultati di sinergismo piuttosto che ai singoli test di sensibilità.

Un secondo aspetto della appropriatezza terapeutica è relativa al dosaggio utilizzato nel tentativo di ottimizzare il pK/pD ratio⁸. Quando tigeciclina è stato usato, questo è stato somministrato alla dose di 100 mg BD. Questo è un dosaggio doppio rispetto alla dose standard, ma è già descritto²⁴ che la dose standard di 50 mg BD può essere insufficiente e uno "high-dose" di 100 mg ogni 12 ore è stato proposto per patogeni resistenti, specialmente per infezioni di tessuti dove la concentrazione di tigeciclina, raggiunta con dosi convenzionali, può non essere sufficiente gli obiettivi terapeutici e quando la MIC dei ceppi responsabili dell'infezione è leggermente superiore ai breakpoint clinici.

La colistina metansolfonato è stata somministrata alla dose di 9 milioni di UI OD ed è stata infusa in 3 ore, perché questo farmaco ha un'attività battericida concentrazione dipendente¹⁰. Daikos³¹ ha dimostrato che questo modo di somministrazione della colistina può essere più battericida, rispetto a dosi ripetute durante la giornata.

Nelle 4 infezioni dove sono stati somministrati carbapenemi, anche in presenza di MIC >16 con un sinergismo documentata in vitro, questi sono stati infusi in 4 ore²⁵ alla dose di 2 gr TD.

L'uso della terapia di combinazione in tutti questi episodi di infezione da KPC è in linea con la letteratura e numerosi dati^{4,12,32}

orientata verso una terapia di combinazione. Recenti revisioni della letteratura⁸ mostrano una bassa percentuale di successo di colistina o polimixin B se usate in monoterapia rispetto a quando utilizzate in terapia di combinazione (14% a fronte di un molto più elevato 73%). E' segnalata anche una diminuzione della sensibilità durante il trattamento in monoterapia sia con tigeciclina³³ che con polimixina B³².

In questa serie di casi, abbiamo usato per lo più combinazioni di antibiotici escludendo i carbapenemici. Questo approccio, insieme con un buoni risultati clinici, può essere molto importante perché è in grado di ridurre la pressione antibiotico dei carbapenemi sulla microflora intestinale dei pazienti ricoverati in terapia intensiva, e che se di lunga durata può portare allo sviluppo di colonizzazione intestinale da KPC. In terapia intensiva rimangono però alcune situazioni dove l'utilizzo dei carbapenemici rimane indicato per gravi infezioni da KPC; la somministrato in infusione continua o prolungata, o un approccio alternativo di somministrazione possono essere utili per ridurre il focolaio di KPC.

Conclusioni

L'epidemiologia ospedaliera dei casi di KPC da noi rilevata ci mostra che il problema deve essere di interesse generale e non è solo un problema di ambito rianimatorio in quanto quasi la metà dei pazienti è stato identificato in ambiente medico e chirurgico.

L'epidemia da KPC deve essere gestita su larga scala a livello aziendale, richiede la sensibilizzazione di tutto il personale medico e paramedico per cercare di contenere il problema.

Le prime norme da adottare per limitare l'epidemia da KPC, in caso di paziente con colonizzazione o infezione da KPC, riguardano l'applicazione dei protocolli di isolamento da contatto.

In ambienti quali le rianimazioni dove si ha un'elevata promiscuità dei pazienti è raccomandato effettuare una "sorveglianza proattiva" con l'esecuzione di tamponi rettali due volte a settimana al fine di identificare precocemente i pazienti colonizzati da KPC per poter adottare le norme di isolamento da contatto al fine di limitare l'epidemia da KPC.

In pazienti precedentemente in buona salute e senza comorbilità importanti o stati di immunosoppressione, le infezioni nosocomiali da KPC possono essere trattate con terapia di combinazione di due o tre antibiotici, senza beta-lattamici e possono avere un successo clinico e microbiologico.

Il profilo di diversa suscettibilità dimostrato tra sistema Vitek® 2 e E-test richiedono un aggiornamento microbiologico per capire qual è il metodo migliore da utilizzare nella pratica clinica, quando siamo di fronte ad un'epidemia di KPC all'interno di un ospedale.

Bibliografia

- 1) Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis.* 2008 Mar;8(3):159-66
- 2) Souli M, Galani I, Antoniadou A, Papadomichelakis E, Poulakou G, Panagea T, Vourli S, Zerva L, Armaganidis A, Kanellakopoulou K, Giamarellou H. An outbreak of infection due to beta-Lactamase Klebsiella pneumoniae Carbapenemase 2-producing K. pneumoniae in a Greek University Hospital: molecular characterization, epidemiology, and outcomes. *Clin Infect Dis.* 2010;50(3):364-73.
- 3) Gupta N, Limbago BM, Patel JB, Kallen AJ. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: epidemiology and prevention. *Clin Infect Dis.* 2011;53(1):60-7.
- 4) Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis.* 2009;9(4):228-36.
- 5) Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, Alberti S, Bush K, Tenover FC. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of Klebsiella pneumoniae. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45(4):1151-61.

6) Giani T, D'Andrea MM, Pecile P, Borgianni L, Nicoletti P, Tonelli F, Bartoloni A, Rossolini GM. Emergence in Italy of *Klebsiella pneumoniae* sequence type 258 producing KPC-3 Carbapenemase. *J Clin Microbiol.* 2009 Nov;47(11):3793-4.

7) Carlo Tascini. La gestione delle resistenze antimicrobiche: approccio clinico alla lettura dell'antibiogramma. Springer-Verlag Italia 2010.

8) Hirsch EB, Tam VH. Detection and treatment options for *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPCs): an emerging cause of multidrug-resistant infection. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(6):1119-25.

9) Elemam A, Rahimian J, Mandell W. Infection with panresistant *Klebsiella pneumoniae*: a report of 2 cases and a brief review of the literature. *Clin Infect Dis.* 2009;49(2):271-4.

10) Bratu S, Tolaney P, Karumudi U, Quale J, Mooty M, Nichani S, Landman D. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY: molecular epidemiology and in vitro activity of polymyxin B and other agents. *J Antimicrob Chemother.* 2005;56(1):128-32.

11) Gasink LB, Edelstein PH, Lautenbach E, Synnestvedt M, Fishman NO. Risk factors and clinical impact of *Klebsiella pneumoniae*

carbapenemase-producing *K. pneumoniae*. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2009;30(12):1180-5.

12) Elemam A, Rahimian J, Doymaz M. In vitro evaluation of antibiotic synergy for polymyxin B-resistant carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Clin Microbiol.* 2010;48(10):3558-62.

13) Patel G, Huprikar S, Factor SH, Jenkins SG, Calfee DP. Outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008;29(12):1099-106.

14) Borer A, Saidel-Odes L, Riesenberk K, Eskira S, Peled N, Nativ R, Schlaeffer F, Sherf M. Attributable mortality rate for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2009;30(10):972-6.

15) Schwaber MJ, Klarfeld-Lidji S, Navon-Venezia S, Schwartz D, Leavitt A, Carmeli Y. Predictors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* acquisition among hospitalized adults and effect of acquisition on mortality. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(3):1028-33.

16) Mouloudi E, Protonotariou E, Zagorianou A, Iosifidis E, Karapanagiotou A, Giasnetsova T, Tsioka A, Roilides E, Sofianou D, Gritsi-Gerogianni N. Bloodstream infections caused by metallo- β -lactamase/*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K.*

pneumoniae among intensive care unit patients in Greece: risk factors for infection and impact of type of resistance on outcomes. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2010;31(12):1250-6.

17) Vincent JL, de Mendonça A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM, Sprung CL, Colardyn F, Blecher S. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on "sepsis-related problems" of the European Society of Intensive Care Medicine. *Crit Care Med.* 1998 Nov;26(11):1793-800.

18) Auriant I, Vinatier I, Thaler F, Tourneur M, Loirat P. Simplified acute physiology score II for measuring severity of illness in intermediate care units. *Crit Care Med.* 1998 Aug;26(8):1368-71.

19) European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) . Clinical breakpoint. EUCAST. Available from: http://www.eucast.org/clinical_brekpoints

20) Rasheed JK, Biddle JW, Anderson KF, Washer L, Chenoweth C, Perrin J, Newton DW, Patel JB. Detection of the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase type 2 Carbapenem-hydrolyzing enzyme in clinical isolates of *Citrobacter freundii* and *K. oxytoca* carrying a common plasmid. *J Clin Microbiol.* 2008;46(6):2066-9.

21) <http://www.pasteur.fr/recherche/genopole/PF8/mlst/Kpneumoniae.html>

22) Tascini C, Leonildi A, Ciullo I, Sbrana F, Flammini S, Tagliaferri E, Menichetti F; Epidemiological, microbiological and clinical characteristics of an outbreak of KPC carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. 22nd European Congress of Clinical Microbiology and Infection Diseases - Clinical Microbiology and Infection - ***in Press***.

23) Schwaber MJ, Lev B, Israeli A, Solter E, Smollan G, Rubinovitch B, Shalit I, Carmeli Y; Israel Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Working Group. Containment of a country-wide outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Israeli hospitals via a nationally implemented intervention. *Clin Infect Dis*. 2011;52(7):848-55.

24) Cunha BA. Pharmacokinetic considerations regarding tigecycline for multidrug-resistant (MDR) *Klebsiella pneumoniae* or MDR *Acinetobacter baumannii* urosepsis. *J Clin Microbiol*. 2009;47(5):1613

25) Daikos GL, Markogiannakis A. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: (when) might we still consider treating with carbapenems? *Clin Microbiol Infect*. 2011;17(8):1135-41.

26) Livermore DM, Warner M, Mushtaq S, Doumith M, Zhang J, Woodford N. What remains against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae? Evaluation of chloramphenicol, ciprofloxacin, colistin, fosfomicin, minocycline, nitrofurantoin,

temocillin and tigecycline. *Int J Antimicrob Agents*. 2011;37(5):415-9.

27) Pournaras S, Vrioni G, Neou E, Dendrinou J, Dimitroulia E, Poulou A, Tsakris A. Activity of tigecycline alone and in combination with colistin and meropenem against *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing Enterobacteriaceae strains by time-kill assay. *Int J Antimicrob Agents*. 2011;37(3):244-7.

28) Endimiani A, Patel G, Hujer KM, Swaminathan M, Perez F, Rice LB, Jacobs MR, Bonomo RA. In vitro activity of fosfomicin against blaKPC-containing *Klebsiella pneumoniae* isolates, including those nonsusceptible to tigecycline and/or colistin. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(1):526-9.

29) Bratu S, Landman D, Haag R, Recco R, Eramo A, Alam M, Quale J. Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium. *Arch Intern Med*. 2005;165(12):1430-5.

30) 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(10):966-8.

31) Daikos GL, Skiada A, Pavleas J, Vafiadi C, Salatas K, Tofas P, Tzanetou K, Markogiannakis A, Thomopoulos G, Vafiadi I, Petrikos G. Serum bactericidal activity of three different dosing regimens of

colistin with implications for optimum clinical use. *J Chemother.* 2010;22(3):175-8.

32) Lee J, Patel G, Huprikar S, Calfee DP, Jenkins SG. Decreased susceptibility to polymyxin B during treatment for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection. *J Clin Microbiol.* 2009;47(5):1611-2.

33) Daly MW, Riddle DJ, Ledebouer NA, Dunne WM, Ritchie DJ. Tigecycline for treatment of pneumonia and empyema caused by carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Pharmacotherapy.* 2007;27(7):1052-7.