

## Il Progetto CCM “Metodologie di screening fenotipiche e molecolari per il rilevamento delle colonizzazioni da enterobatteri resistenti ai carbapenemi (CRE)”

The CCM Project “Phenotypic and molecular screening methodologies for the detection of colonizations due to carbapenem-resistant *Enterobacteriales* (CRE)”

Teresa Fasciana<sup>1\*</sup>, Alberto Antonelli<sup>2,3\*</sup>, Gabriele Bianco<sup>4\*</sup>, Donatella Lombardo<sup>5\*</sup>, Giulia Codda<sup>6\*</sup>, Emanuela Roscetto<sup>7\*</sup>, Marianna Perez<sup>8\*</sup>, Dario Lipari<sup>1</sup>, Ignazio Arrigo<sup>1</sup>, Elena Galia<sup>1</sup>, Maria Rita Tricoli<sup>1</sup>, Maddalena Calvo<sup>8</sup>, Claudia Niccolai<sup>2,3</sup>, Fabio Morecchiato<sup>2</sup>, Giulia Errico<sup>9</sup>, Stefania Stefani<sup>8</sup>, Rossana Cavallo<sup>4</sup>, Anna Marchese<sup>6,10</sup>, Maria Rosaria Catania<sup>7</sup>, Simone Ambretti<sup>5,11</sup>, Gian Maria Rossolini<sup>2,3</sup>, Annalisa Pantosti<sup>9</sup>, Anna Teresa Palamara<sup>9,12</sup>, Michela Sabbatucci<sup>9,13</sup>, Nicola Serra<sup>14</sup>, Anna Giammanco<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Promozione della Salute, Materno-Infantile, Medicina Interna e Specialistica “G. D’Alessandro”, Università degli Studi di Palermo, Palermo

<sup>2</sup> Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Università degli Studi di Firenze, Firenze

<sup>3</sup> Unità di Microbiologia e Virologia, Ospedale Universitario Careggi, Firenze

<sup>4</sup> AOU Città della Salute e della Scienza di Torino, Torino

<sup>5</sup> UO Microbiologia, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, Bologna

<sup>6</sup> Dipartimento di Scienze Chirurgiche e Diagnostica Integrata (DISC), Università degli Studi di Genova, Genova

<sup>7</sup> Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologia Medica, Università degli Studi di Napoli “Federico II”, Napoli

<sup>8</sup> Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologie, AOU Policlinico G. Rodolico-San Marco, Catania

<sup>9</sup> Dipartimento di Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Roma

<sup>10</sup> Unità di Microbiologia, IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, Genova

<sup>11</sup> Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, “Alma Mater Studiorum” Università di Bologna, Bologna

<sup>12</sup> Dipartimento Salute Pubblica e Malattie Infettive, Università Sapienza, Roma

<sup>13</sup> Direzione Generale della Prevenzione Sanitaria, Ministero della Salute, Roma

<sup>14</sup> Dipartimento di Neuroscienze e Scienze Riproduttive ed Odontostomatologiche, Università degli Studi di Napoli “Federico II”, Napoli

\* Questi autori hanno contribuito in uguale misura alla realizzazione del progetto

**Corrispondenza:** Anna Giammanco; anna.giammanco@unipa.it

### Riassunto

Gli Enterobatteri resistenti ai carbapenemi (CRE) sono ritenuti a livello globale una delle principali minacce per la salute pubblica. Le linee guida nazionali e internazionali sottolineano l'importanza di politiche di sorveglianza di routine attiva per prevenire la loro trasmissione. Di conseguenza, lo screening per la valutazione dello stato di colonizzazione da CRE in pazienti ospedalizzati è considerato fondamentale per contenere e controllare la diffusione di questi microrganismi e la loro evoluzione verso un quadro di infezione.

Il Progetto CCM–Ministero della Salute intitolato Metodologie di screening fenotipiche e molecolari per il rilevamento delle colonizzazioni da enterobatteri resistenti ai carbapenemi (CRE) si è svolto nel periodo compreso tra febbraio 2018 e gennaio 2021 con l'obiettivo di valutare i test fenotipici e molecolari quali metodi in grado di rilevare i pazienti colonizzati da CRE in ambito ospedaliero in Italia. Per valutare l'impatto della pandemia di SARS-CoV-2 sulla colonizzazione da CRE, il periodo di osservazione è stato suddiviso in due: un primo periodo che andava da settembre 2018 a settembre 2019, un secondo periodo da ottobre 2019 a settembre 2020.

Quale obiettivo generale del progetto, è stata opportunamente prevista la valutazione dell'efficacia dei metodi; al fine di acquisire ulteriori informazioni sono stati inseriti quattro obiettivi specifici: **1.** confrontare i metodi fenotipici in termini di rapidità con il metodo molecolare; **2.** quantificare la frequenza di colonizzazione all'ingresso e durante il ricovero nei reparti di terapia intensiva (ICU) e non ICU; **3.** valutare l'efficacia degli interventi di screening; **4.** prevedere attività che attestano l'importanza dello screening.

Allo studio hanno partecipato sette centri ospedalieri, dislocati in differenti Regioni, rappresentative di aree geografiche diverse: tre al Nord, una al centro e tre al Sud Italia. Sono stati arruolati 11.063 pazienti, i cui dati sono stati inseriti in una

piattaforma IT dedicata. Al fine di valutare il ruolo dell'ospedalizzazione nella colonizzazione, i tamponi rettali sono stati eseguiti all'ammissione e, se negativi, settimanalmente per tre settimane.

È stata confermata la capacità del test molecolare di rilevare i pazienti colonizzati e la presenza di marcatori di resistenza entro 60 minuti dall'arrivo del campione in laboratorio. La prevalenza dei CRE è aumentata durante la pandemia causata da SARS-CoV-2, soprattutto negli ospedali del Sud. *K. pneumoniae* è stata la specie più frequentemente associata ai pazienti colonizzati da CRE.

Sono state avviate attività di formazione per il personale ospedaliero al fine di ridurre la frequenza di colonizzazione nei reparti. Tutti i centri partecipanti al progetto hanno definito le procedure da applicare localmente per lo screening dei pazienti colonizzati da CRE e avviato attività di screening.

**Parole chiave:** screening CRE, test fenotipici e molecolari, epidemiologia, prevalenza in ICU e non ICU

### Abstract

Carbapenem-resistant *Enterobacteriales* (CREs) are globally considered to be a major threat to public health. National and international guidelines emphasize the importance of routine active surveillance policies to prevent their transmission. Consequently, screening for the evaluation of the status of colonization by CREs in hospitalized patients in Italy is considered essential to contain and control the spread of these microorganisms and their evolution towards infection. The Italian Ministry of Health funding the CCM Project “Phenotypic and molecular screening methodologies for the de-

tection of colonizations due to carbapenem-resistant enterobacteriales (CRE)", carried out between February 2018 and January 2021 with the aim of evaluating phenotypic and molecular tests as methods able to detect patients colonized by CRE in Italian hospital setting. To assess the impact of the SARS-CoV-2 pandemic on CRE colonization, the observation period was divided into two periods: September 2018-September 2019 (first period) and October 2019-September 2020 (second period).

As general objective of the project, the evaluation of the effectiveness of the methods has been appropriately foreseen. In addition, four specific objectives have been envisaged: **1.** to standardize and to compare phenotypic and molecular methods, in terms of Turnaround Time (TAT); **2.** to quantify the frequency of colonization at the admission and during hospitalization in Intensive Care Unit (ICU) and non-ICU wards; **3.** to evaluate the effectiveness of screening interventions; **4.** to provide activities that attest to the importance of screening.

In order to evaluate the role of hospitalization in CRE-colonization, 11,063 patients were enrolled to perform rectal swabs on admission, and, if negative, weekly for three weeks during hospitalization. The data were collected in a dedicated IT platform.

The molecular test demonstrated to be able to detect colonized patients and presence of resistance markers within 60 minutes from the sample arriving.

The prevalence of CRE has increased during SARS-CoV-2 pandemic, especially in hospitals in South Italy. *K. pneumoniae* was the species most frequently associated with patients colonized by CRE.

Training activities have been started for hospital staff, in order to reduce the frequency of colonization of patients. All the participating centres have defined the procedures to be applied locally for the screening of CRE colonized patients and have started screening activities.

**Keywords:** CRE screening, phenotypic and molecular tests, epidemiology, prevalence in ICU and non-ICU

## Introduzione

Il Progetto CCM "Metodologie di screening fenotipiche e molecolari per il rilevamento delle colonizzazioni da enterobatteri resistenti ai carbapenemi (CRE)" è stato realizzato in Italia nel periodo compreso tra febbraio 2018 e gennaio 2021 con l'intento di contenere il fenomeno della resistenza acquisita ai carbapenemi, emerso globalmente già da qualche anno negli enterobatteri,<sup>1,2</sup> oggi di dimensione preoccupante. Questo fenomeno è strettamente connesso all'ampia diffusione di infezioni da parte degli enterobatteri resistenti ai carbapenemi (CRE), strettamente correlate all'elevato numero di colonizzazioni ospedaliere, chiaramente associate a un alto rischio di infezione e a un tasso di mortalità elevato (a volte superiore al 70%), soprattutto in alcune categorie di pazienti ad alto rischio.<sup>3</sup> L'Italia è considerata un'area ad alta endemicità per la colonizzazione da CRE, la maggior parte rappresentata da *K. pneumoniae* produttore di KPC, e le infezioni correlate a batteriemie sono aumentate drammaticamente nell'ultimo decennio, passando dall'1,3% nel 2009 al 26,7% nel 2021.<sup>4,5</sup> Dal 2011, il Ministero della Salute ha raccomandato lo screening dei CRE e ha fornito indicazioni per i laboratori di microbiologia. Infatti, le linee guida nazionali e internazionali sottolineano l'importanza dello screening in grado di contribuire efficacemente a limitarne la diffusione, permettendo di rafforzare la prevenzione e la sorveglianza delle infezioni correlate all'assistenza (ICA) in ambito ospedaliero e comunitario.

Sui presupposti menzionati, l'obiettivo generale del progetto era indirizzato alla definizione delle procedure metodologiche più efficaci per rilevare anche

in Italia la colonizzazione con ceppi CRE in pazienti ospedalizzati. La valutazione era volta, inoltre, a promuovere azioni di monitoraggio e controllo della diffusione intraospedaliera di microrganismi multiresistenti agli antibiotici e ad armonizzare a livello nazionale indicazioni per lo screening dei soggetti portatori. Sono state coinvolte nel progetto, con capofila la Regione Siciliana, 7 unità operative, attive in altrettante città italiane dislocate strategicamente in aree geografiche rappresentative delle diverse realtà, l'Istituto Superiore di Sanità con il compito di supervisor, e il Dipartimento delle attività Sanitarie e Osservatorio Epidemiologico (DASOE) della Regione Siciliana come supporto per gli aspetti amministrativi.

I quattro obiettivi aggiunti sono stati orientati a promuovere azioni rivolte alla valutazione del tempo di risposta (*turnaround time*, TAT) dei test fenotipici in confronto al test molecolare; al monitoraggio e al controllo della diffusione intraospedaliera dei microrganismi CRE; ad armonizzare, a livello nazionale, delle indicazioni per lo screening dei soggetti portatori; a operare una ricognizione dei determinanti di adesione alle misure di isolamento e alle precauzioni da contatto, a monitorare il consumo di antibiotici e promuovere percorsi di *antimicrobial stewardship*.

## Materiali e metodi

Sono stati arruolati 11.063 pazienti da settembre 2018 a settembre 2020. La raccolta dei dati è stata effettuata in due periodi: il primo periodo da febbraio 2018 a settembre 2019, il secondo da ottobre 2019 a settembre 2020. L'inclusione del secondo periodo è volta a valutare l'influenza delle procedure ap-

Unità Operativa	Non ICU															
	ICU						Non ICU									
	Periodo 1		Periodo 2		Periodo 1		Periodo 2		Periodo 1		Periodo 2					
	T0	T1-T3	T0	T1-T3	T0	T1-T3	T0	T1-T3	T0	T1-T3	T0	T1-T3				
Pazienti n.	Pazienti n. (%)	Pazienti n.	Pazienti n. (%)	Pazienti n.	Pazienti n. (%)	Pazienti n.	Pazienti n. (%)	Pazienti n.	Pazienti n. (%)	Pazienti n.	Pazienti n. (%)	Pazienti n.	Pazienti n. (%)			
Genova	370	16 (4,3)	325	21 (6,5)	211	7 (3,3)	180	3 (1,7)	251	19 (7,6)	196	12 (6,1)	195	10 (5,1)	173	3 (1,7)
Torino	1.024	31 (3,0)	170	59 (34,7)	392	13 (3,3)	84	17 (20,2)	--	--	--	--	--	--	--	--
Bologna	515	41 (8,0)	427	42 (9,8)	244	14 (5,7)	230	15 (6,5)	834	31 (3,7)	420	21 (5,0)	223	11 (4,9)	210	15 (7,1)
Firenze	2.157	69 (3,2)	438	33 (7,5)	402	17 (4,2)	90	5 (5,6)	325	18 (5,5)	165	2 (1,2)	74	7 (9,5)	47	6 (12,8)
Catania	200	5 (2,5)	115	12 (10,4)	122	54 (44,3)	65	2 (3,1)	213	3 (1,4)	89	3 (3,4)	162	70 (43,2)	86	8 (9,3)
Napoli	168	6 (3,6)	78	5 (6,4)	164	14 (8,5)	62	12 (19,4)	494	10 (2,0)	171	3 (1,8)	421	12 (2,9)	125	6 (4,8)
Palermo	465	49 (10,5)	165	45 (27,3)	489	113 (23,1)	142	78 (54,9)	252	12 (4,8)	74	16 (21,6)	696	85 (12,2)	240	48 (20,0)
<b>Totale</b>	<b>4.899</b>	<b>217 (4,4)</b>	<b>1.718</b>	<b>217 (12,6)</b>	<b>2.024</b>	<b>232 (11,5)</b>	<b>853</b>	<b>132 (15,5)</b>	<b>2.369</b>	<b>93 (3,9)</b>	<b>1.115</b>	<b>57 (5,1)</b>	<b>1.771</b>	<b>195 (11,0)</b>	<b>881</b>	<b>86 (9,8)</b>

ICU: reparto di terapia intensiva / intensive care unit

non ICU: altri reparti diversi dalla terapia intensiva / Non intensive care unit wards

**Tabella 2.** Pazienti colonizzati da enterobatteri resistenti ai carbapenemi (CRE) sottoposti a tampone di screening al ricovero (T0) e durante l'ospedalizzazione (T1-T3), distribuiti nei diversi centri partecipanti allo studio e nei vari reparti ospedalieri (terapia intensiva o altri reparti). Italia, 2018-2020.

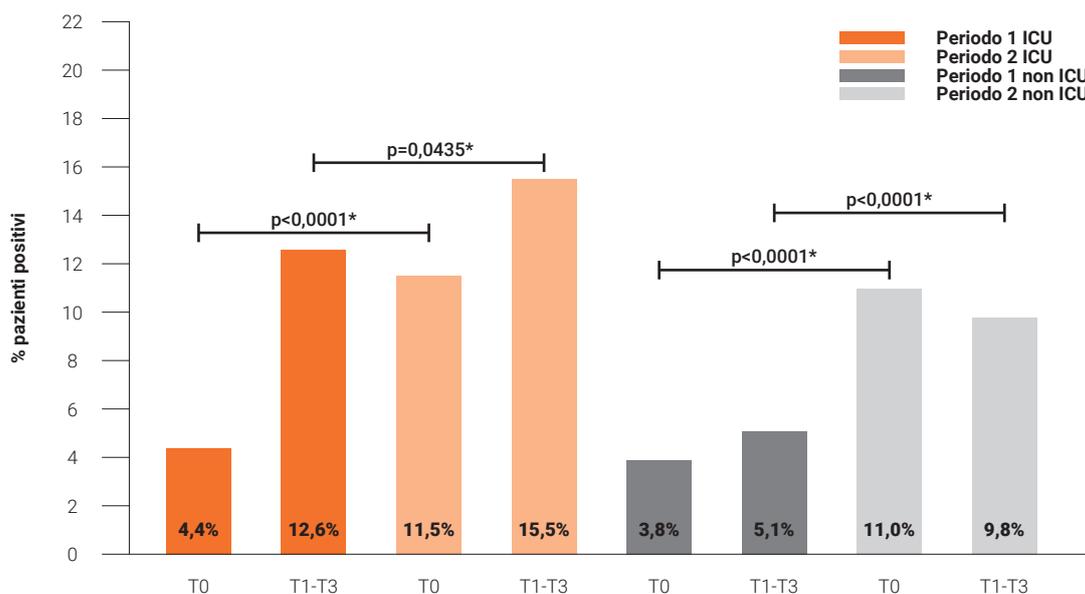
**Table 1.** Patients colonised by carbapenemase-resistant enterobacteria (CRE) undergoing a screening swab on admission (T0) and during hospitalisation (T1-T3), distributed in the different centres participating in the study and in different hospital wards (intensive care unit or other wards). Italy, 2018-2020.

plicate in seguito alla pandemia di SARS-CoV-2 sulla diffusione degli stipiti multiresistenti (*multidrug resistant*, MDR). I centri partecipanti collocati a Nord (Ospedale Universitario Città della salute e della scienza di Torino; ospedale Universitario San Martino di Genova, Ospedale Universitario S.Orsola-Malpighi di Bologna), al Centro (Ospedale Universitario Careggi di Firenze) e a Sud (Ospedale Universitario Federico II di Napoli, Policlinico Universitario Rodolico-San Marco di Catania, Policlinico Universitario P. Giaccone di Palermo) hanno reclutato, rispettivamente, 1.416 pazienti a Torino, 1.027 a Genova, 1.816 a Bologna, 2.958 a Firenze, 1.247 a Napoli, 697 a Catania, 1.902 a Palermo. A tutti i pazienti è stato effettuato un tampone rettale al ricovero (T0) e, se negativo per CRE, il tampone è stato ripetuto settimanalmente per 3 settimane (T1-T3). Dopo una revisione dei metodi, è stato deciso di utilizzare il metodo colturale come primo metodo per evidenziare la presenza dei CRE e, nei centri che ne avevano la disponibilità, anche il test molecolare. Il campione fecale è stato piastrato direttamente su agar selettivo cromogeno e, in alcuni centri, sottoposto direttamente anche ad analisi molecolare, ottenendo il rilevamento dei CRE in 24 ore, nel primo caso, e in 60 minuti nel secondo. Inoltre, è stato utilizzato il metodo molecolare per il rilevamento dei marcatori di resistenza.

I reparti considerati sono stati scelti in base al tipo di degenza e alla disponibilità a partecipare allo studio: unità di terapia intensiva (ICU), oncematologia (UO) e, ove possibile, chirurgia (UC) e medicina (UO). I dati sono stati raccolti in una piattaforma IT dedicata a cui ogni centro poteva accedere tramite username e password, includendo le informazioni riguardanti il centro di arruolamento, le caratteristiche cliniche e demografiche dei pazienti, i dati microbiologici e lo stato di colonizzazione. I dati relativi alle colonizzazioni raccolti tra i due periodi sono stati trasferiti in un file Excel per l'elaborazione statistica.

## Analisi statistica

I dati sono stati presentati come numeri e percentuali nel caso di variabili categoriali, mentre nel caso di dati continui sono presentati come media±deviazione standard (DS), salvo diversamente specificato. Il test del chi<sup>2</sup> e il test esatto di Fisher sono stati eseguiti per valutare le differenze tra proporzioni o percentuali di due gruppi. In particolare, il test esatto di Fisher è stato utilizzato laddove il test chi<sup>2</sup> non era appropriato. Tutti i test con p<0,05 sono stati considerati significativi. I dati sono stati analizzati con Matlab statistical toolbox versione 2008 (Math Works, Natick, MA, Stati Uniti) per Windows a 32 bit.



**ICU:** reparto di terapia intensiva / *intensive care unit*

**non ICU:** altri reparti diversi dalla terapia intensiva / *non intensive care unit wards*

**Figura 1.** Pazienti colonizzati da enterobatteri resistenti ai carbapenemi (CRE) sottoposti a tampone di screening al ricovero (T0) e durante l'ospedalizzazione (T1-T3), distribuiti nei diversi centri partecipanti allo studio e nei vari reparti ospedalieri (terapia intensiva o altri reparti). Italia, 2018-2020.

**Figure 1.** Patients colonised by carbapenemase-resistant enterobacteria (CRE) undergoing a screening swab on admission (T0) and during hospitalisation (T1-T3), distributed in the different centres participating in the study and in different hospital wards (intensive care unit or other wards). Italy, 2018-2020.

\* Test di significatività ( $p \leq 0,05$ ) nella comparazione del totale dei pazienti positivi a CRE tra terapia intensiva e altri reparti diversi dalla terapia intensiva per entrambi i periodi di osservazione. / *Significance test ( $p \leq 0,05$ ) when comparing total CRE-positive patients between ICU and non-ICU for both observation periods.*

## Risultati

Per il raggiungimento degli obiettivi, la presenza di CRE è stata valutata negli 11.063 pazienti arruolati applicando e confrontando metodi di screening fenotipici e molecolari, stimando sensibilità, specificità e riduzione di TAT.

### Obiettivo specifico 1

Per l'obiettivo specifico 1, è stato possibile dimostrare che, mediante tecniche di biologia molecolare, è possibile rilevare i pazienti colonizzati e la presenza di marcatori di resistenza entro 60 minuti dall'arrivo del campione in laboratorio e che la sensibilità e la specificità dei test fenotipici è simile a quella dei test molecolari.

I centri che hanno avuto la possibilità di utilizzare i due metodi (Firenze, Bologna, Palermo, Torino) hanno rilevato la concordanza del 90%, come peraltro si evince dalla letteratura.<sup>6</sup>

### Obiettivo specifico 2

Questo obiettivo prevedeva di quantificare la frequenza di colonizzazione al ricovero e alla dimissione in ICU, oncematologia e, ove possibile, in chirurgia e nelle medicine. Per ogni UO, è stata calcolata la frequenza di positività ai CRE al ricovero e alla di-

missione. I risultati delle analisi relative ai pazienti arruolati sono stati inseriti nella piattaforma IT da parte delle unità operative partecipanti. È stato valutato il numero dei pazienti colonizzati durante i due periodi di osservazione in relazione al reparto e al tempo di ricovero (tabella 1).

### Obiettivo specifico 3

L'obiettivo 3 era finalizzato alla valutazione in reparti campione dell'efficacia degli interventi di screening. Sulla base delle frequenze di colonizzazione quantificate prima e dopo l'intervento di screening, sono stati analizzati i dati complessivi provenienti dai reparti coinvolti nello studio (figura 1) e si è proceduto alla sensibilizzazione sul problema delle colonizzazioni e sulla formazione del personale sanitario addetto, al fine di ridimensionare e limitare la diffusione dei CRE. Dalla valutazione (tabella 1) è emerso che la prevalenza dei pazienti colonizzati era più elevata nel secondo periodo sia in ICU sia negli altri reparti, così come la proporzione di pazienti che acquisivano CRE durante l'ospedalizzazione.

Considerando l'Italia settentrionale, sono state osservate differenze significative tra primo e secondo periodo per il centro di Genova, nell'ambito dei pazienti che hanno acquisito CRE durante il periodo di



## INTERVENTI

ospedalizzazione (T1-T3), con percentuali più basse nel secondo periodo sia nelle unità operative di terapia intensiva (6,5% vs 1,7%;  $p=0,0153$ ) sia per le altre unità (6,1% vs 1,7%;  $p=0,0332$ ), ma non per Bologna. Similmente, è stato osservato anche a Torino nell'Unità di Terapia Intensiva (34,7% vs 20,2%;  $p=0,0178$ ). Per quanto riguarda l'Italia centrale (centro di Firenze), per i reparti di terapia non intensiva, a T1-T3 è stata osservata una differenza tra i due periodi (primo periodo 1,2% vs. secondo periodo 12,8%;  $p=0,002$ ), con un aumento significativo dei pazienti che sono stati colonizzati durante il ricovero ospedaliero.

Relativamente all'Italia meridionale, il centro di Napoli ha osservato in ICU un aumento significativo nell'ambito delle percentuali dei pazienti che hanno acquisito CRE in T1-T3 tra il primo e il secondo periodo (6,4% vs 19,4%;  $p=0,0198$ ). Invece, non sono state osservate differenze negli altri reparti.

Il centro di Catania ha mostrato un aumento molto elevato della percentuale di pazienti colonizzati al momento del ricovero (T0) tra primo e secondo periodo sia per i reparti di terapia intensiva (2,5 vs 44,3%;  $p<0,0001$ ) sia per gli altri reparti (1,4% vs 43,2%;  $p<0,0001$ ).

Infine, il centro di Palermo ha manifestato in terapia intensiva un aumento significativo tra primo e secondo periodo relativamente alla percentuale di pazienti che erano colonizzati al momento del ricovero (T0: 10,5% vs 23,1%;  $p<0,0001$ ) e a quelli che avevano acquisito stipiti CRE durante la degenza ospedaliera (T1-T3: 27,3% vs 54,9%;  $p<0,0001$ ). Nelle altre unità, invece, è stata riscontrata una differenza significativa tra il primo e il secondo periodo solo per la prevalenza dei pazienti colonizzati al momento del ricovero (T0: 4,8% vs 12,2%;  $p=0,0008$ ).

*K. pneumoniae* produttrice di carbapenemasi di tipo KPC è stata la specie più frequentemente isolata a Bologna, Firenze e Palermo; nella stessa sorveglianza, sono stati isolati anche ceppi produttori di carbapenemasi di tipo VIM, NDM e OXA-48-like.<sup>4</sup>

Sulla base dei dati descritti, è stato supposto che la pandemia di SARS-CoV-2 nel corso dell'anno 2020 abbia modificato l'epidemiologia dei CRE nei reparti valutati e possa aver alterato gli interventi di screening.

#### Obiettivo specifico 4

Per l'obiettivo specifico 4, mirato alla predisposizione di protocolli e atti di indirizzo per lo screening dei CRE, tutte le unità operative aderenti al progetto, sulla base dell'esperienza acquisita, hanno definito le procedure da applicare localmente nell'iter diagnostico per lo screening dei pazienti colonizzati da CRE e avviato attività di screening. Le singole esperienze

sono state condivise sia a livello locale sia nazionale tramite convegni ed è stato realizzato un corso FAD. I dati epidemiologici sono stati pubblicati per condividerli con la comunità internazionale.<sup>7</sup>

### Discussione e conclusioni

Il progetto è stato redatto prevedendo la necessità di una valutazione dei metodi disponibili in grado di rilevare e identificare rapidamente gli enterobatteri resistenti ai carbapenemi, oggi sempre più frequentemente presenti a livello mondiale e sul territorio italiano. Quindi, sono stati analizzati i tamponi rettali dei pazienti arruolati e sottoposti a screening tramite terreni selettivi cromogeni e test molecolari ed è stata valutata la presenza di marcatori di resistenza in ambito ospedaliero. L'applicazione dei test molecolari ha permesso di rilevare rapidamente i portatori e le tipologie di carbapenemasi, di agire efficacemente sulla sorveglianza dei CRE e sulle procedure di *infection control*, di acquisire dati sulla prevalenza in Italia settentrionale, centrale e meridionale di pazienti colonizzati da CRE all'ammissione ospedaliera e durante l'ospedalizzazione nel periodo settembre 2018-settembre 2020, in particolare di agire sul ruolo dell'ospedalizzazione nell'acquisizione dei CRE. Si tratta del primo ampio studio italiano multicentrico che identifica i portatori di CRE e ne descrive l'epidemiologia.

I risultati ottenuti dalle valutazioni hanno dimostrato l'elevata presenza di stipiti CRE in tutta Italia, con una prevalenza più elevata nelle Regioni del Sud, in linea con altri report precedenti.<sup>8-10</sup>

Si conferma: ● l'elevata percentuale di pazienti CRE positivi correlata all'ospedalizzazione in ICU dove i pazienti facilmente acquisiscono infezioni invasive da CRE;<sup>11,12</sup> ● la presenza di *K. pneumoniae* carbapenemasi produttore come più comune microrganismo CRE circolante in Italia anche nel periodo della pandemia di SARS-CoV-2, sebbene la sua frequenza non incrementava significativamente; ● la presenza di ceppi con più di una carbapenemasi principalmente nei centri di Firenze e Palermo.<sup>8</sup>

I dati sottolineano l'importanza della sorveglianza attiva e della necessità di misure stringenti di controllo dell'infezione. Mentre nel secondo periodo di studio, durante la pandemia di SARS-CoV-2, la prevalenza dei portatori di CRE aumenta al Sud sia nei pazienti all'atto del ricovero sia durante l'ospedalizzazione, nel Nord Italia non si osservano modifiche rilevanti. Questo dato è in linea con i dati riportati dalla Sorveglianza nazionale dell'antibiotico resistenza AR-ISS<sup>13</sup> da cui emerge una percentuale più bassa di *K. pneumoniae* resistenti ai carbapenemi isolati dal sangue, al Nord Italia, verosimilmente associata alle attente misure di controllo in ambito ospedaliero e all'accurata e rapi-

da identificazione dei pazienti colonizzati da CRE.<sup>13-19</sup> Al contrario di quanto riportato dai dati nazionali che registrano un aumento generale della circolazione dei CRE durante il periodo pandemico SARS-CoV-2,<sup>20-22</sup> questo andamento non si evince nel presente studio in alcuni centri del Nord. Questo fenomeno può essere dovuto alle caratteristiche dei pazienti ospedalizzati, alla gestione dei pazienti correlato all'intensità di cura, alla particolare epidemiologia di SARS-CoV-2 nelle varie Regioni durante lo studio, alla pregressa esistenza di un sistema di screening CRE e alle differenti organizzazioni delle strutture.<sup>21</sup>

### Limiti dello studio

Alcuni centri partecipanti, avevano già in atto una sorveglianza attiva per CRE all'inizio dello studio e solo quattro centri utilizzavano metodi molecolari per lo screening.

Non è stato possibile distinguere pazienti ospedalizzati per la prima volta da quelli che provenivano da altri ospedali o da altri reparti.

Non è stato possibile avere informazioni sul follow-up dei pazienti positivi a CRE, inclusi il decesso o lo stato di positività a COVID-19.

**Conflitti di interesse dichiarati:** nessuno.

**Finanziamenti:** progetto realizzato con il supporto finanziario del Ministero della Salute/CCM.

**Ringraziamenti:** gli autori desiderano ringraziare coloro che hanno contribuito alla realizzazione del progetto: Tommaso Giani (Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Università di Firenze; Unità di Microbiologia e Virologia, Ospedale Universitario Careggi, Firenze) in qualità di *scientific consultant*; Lara Mosconi (Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Università di Firenze; Unità di Microbiologia e Virologia, Ospedale Universitario Careggi, Firenze), Eleonora Riccobono (Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Università di Firenze; Dipartimento di Biotecnologie Mediche, Università di Siena), Alessandro Bondi e Marco Peradotto (Ospedale Universitario Città della Salute e della Scienza di Torino) che hanno partecipato alla raccolta dei dati.

## Bibliografia

- Martin RM, Bachman MA. Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Front Cell Infect Microbiol* 2018;8:4. doi: 10.3389/fcimb.2018.00004
- Temkin E, Adler A, Lerner A, Carmeli Y. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: biology, epidemiology, and management. *Ann N Y Acad Sci* 2014;1323:22-42. doi: 10.1111/nyas.12537
- Dickstein Y, Edelman R, Dror T, Hussein K, Bar-Lavie Y, Paul M. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae colonization and infection in critically ill patients: a retrospective matched cohort comparison with non-carriers. *J Hosp Infect* 2016;94(1):54-59. doi: 10.1016/j.jhin.2016.05.018
- European Center for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-net) – Annual epidemiological report 2021. Stockholm, ECDC, 2022.
- WHO Regional Office for Europe, European Center for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022-2020 data. Copenhagen, WHO Regional Office for Europe, 2022.
- Mojica MM, De La Cadena E, Correa A, Appel TM, Pallares CJ, Villegas MV. Evaluation of Allplex™ Entero-DR assay for detection of antimicrobial resistance determinants from bacterial cultures. *BMC Res Notes* 2020;13(1):154. doi: 10.1186/s13104-020-04997-4
- Fasciana T, Antonelli A, Bianco G et al. Multicenter study on the prevalence of colonization due to carbapenem-resistant Enterobacteriales strains before and during the first year of COVID-19, Italy 2018-2020. *Front Public Health* 2023;11:1270924. doi: 10.3389/fpubh.2023.1270924
- Fasciana T, Gentile B, Aquilini M et al. Co-existence of virulence factors and antibiotic resistance in new *Klebsiella pneumoniae* clones emerging in south of Italy. *BMC Infect Dis* 2019;19(1):928. doi: 10.1186/s12879-019-4565-3
- Fasciana T, Ciannamaroni A, Gentile B et al. Draft genome sequence and biofilm production of a Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* (KpR405) sequence type 405 strain isolated in Italy. *Antibiotics (Basel)* 2021;10(5):560. doi: 10.3390/antibiotics10050560
- Di Lodovico S, Fasciana T, Di Giulio M et al. Spread of multidrug-resistant microorganisms. *Antibiotics (Basel)* 2022;11(7):832. doi: 10.3390/antibiotics11070832
- Ambretti S, Bassetti M, Clerici P et al. Screening for carriage of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in settings of high endemicity: a position paper from an Italian working group on CRE infections. *Antimicrob Resist Infect Control* 2019;8:136. doi: 10.1186/s13756-019-0591-6
- Foschi D, Lombardo P, Gaibani MC, Ambretti RS. Carbapenemase-producing Enterobacteriales: changing epidemiology in a highly endemic Italian area. *J Hosp Infect* 2021;108:221-23. doi: 10.1016/j.jhin.2020.10.017
- Iacchini S, Pezzotti P, Caramia A et al. AR-ISS: sorveglianza nazionale dell'Antibiotico-Resistenza. Dati 2021. Rapporti ISS Sorveglianza RIS-1/2022. Roma, Istituto Superiore di Sanità, 2022. Disponibile all'indirizzo: [https://www.epicentro.iss.it/antibiotico-resistenza/ar-iss/RIS-1\\_2022.pdf](https://www.epicentro.iss.it/antibiotico-resistenza/ar-iss/RIS-1_2022.pdf)
- Giani T, Pini B, Arena F et al. Epidemic diffusion of KPC carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Italy: results of the first countrywide survey, 15 May to 30 June 2011. *Eur Surveill* 2013;18(22):20489.
- Rossini A, Di Santo SG, Libori MF, Tiracchia V, Balice MP, Salvia A. Risk factors for carbapenemase-producing Enterobacteriaceae colonization of asymptomatic carriers on admission to an Italian rehabilitation hospital. *J Hosp Infect* 2016;92(1):78-81. doi: 10.1016/j.jhin.2015.10.012
- Arena F, Vannetti F, Di Pilato V et al. Diversity of the epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in long-term acute care rehabilitation settings from an area of hyperendemicity, and evaluation of an intervention bundle. *J Hosp Infect* 2018;100(1):29-34. doi: 10.1016/j.jhin.2018.05.025
- Gagliotti C, Ciccarese V, Sarti M et al. Active surveillance for asymptomatic carriers of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a hospital setting. *J Hosp Infect* 2013;83(4):330-32. doi: 10.1016/j.jhin.2012.11.024
- Viale P, Tumietto F, Giannella M et al. Impact of a hospital-wide multifaceted programme for reducing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections in a large teaching hospital in northern Italy. *Clin Microbiol Infect* 2015;21(3):242-47. doi: 10.1016/j.cmi.2014.10.020
- Del Bianco F, Morotti M, Zannoli S, Dirani G, Fantini M, Pedna MF, et al. Comparison of four commercial screening assays for the detection of blaKPC, blaNDM, blaIMP, blaVIM, and blaOXA-48 in rectal secretion collected by swabs. *Microorganisms*. (2019) 7:704. doi: 10.3390/microorganisms7120704
- Bianco G, Boattini M, Comini S et al. Occurrence of multi-carbapenemases producers among carbapenemase-producing Enterobacteriales and in vitro activity of combinations including cefiderocol, ceftazidime-avibactam, meropenem-vaborbactam, and aztreonam in the COVID-19 era. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2022;41(4):573-80. doi: 10.1007/s10096-022-04408-5
- Tiri B, Sensi E, Marsiliani V et al. Antimicrobial stewardship program, COVID-19, and infection control: spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* colonization in ICU COVID-19 patients: What did not work? *J Clin Med* 2020;9(9):2744. doi: 10.3390/jcm9092744
- Faccione D, Gomez SA, de Mendieta JM et al. Emergence of hyper-epidemic clones of Enterobacteriales clinical isolates co-producing KPC and Metallo-Beta-lactamases during the COVID-19 pandemic. *Pathogens* 2023;12(3):479. doi: 10.3390/pathogens12030479