

Pseudomonas aeruginosa

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

Impermeabilizzazione di membrana e iperproduzione di AmpC

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

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

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

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

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

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

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

Iperproduzione di AmpC e resistenza a CZA e C/T

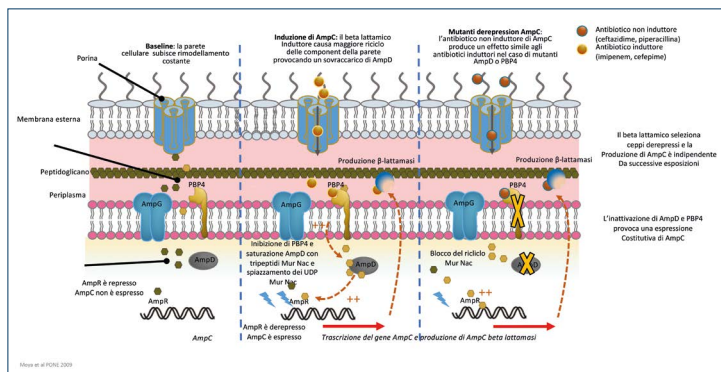


Figura 23. Meccanismo di inibizione e di induzione dell'enzima AmpC⁽¹⁰⁶⁾.

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

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

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

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

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

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

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

Penicillin Binding Proteins (PBP)

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

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

Porina OprD

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

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

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

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

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

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

Attività delle pompe di efflusso e delle porine su Cefiderocol

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

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

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

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

Figura 25A.

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

Figura 24. *Pseudomonas aeruginosa*; antibiogramma molecolare.

a meccanismi non enzimatici (Figura 25, A-E).

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

Figura 25B.

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

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

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

ATTIVITÀ PBP/ LEGANTE PBP4 E INDUZIONE AMPC	SAFETY	MECCANISMI RESISTENZA	CROSS RESISTENZA
<p>Lega fortemente tutte le PBPs rilevanti¹¹³</p> <p>PBP4: legame 15X inferiore IMI, 4X maggiore CZA, non importante per induzione AmpC¹¹⁴</p>	<p>–</p>	<p>Classe B e alcune di classe A (<i>K. pneumoniae</i> produttori di KPC, VEB, PER, GES), classe D Mutanti AmpC (PDC) (cross-resistenza CZA/AVI) Mutazioni PBP3</p>	<p>Ipermutanti mutS con AmpC iperespresso o mutato, aumentata S a IMI e C/T¹¹⁵ Mutazione Ω loop AmpC resistenza a CZA/AVI ma non IMI¹¹⁶ Cross-resistenza con CZA, FEP e PIP/TAZ e CZA/AVI (meglio solo su alcune GES-5) da resistenti produttori OXA-type, ESBL e PDC¹¹⁷</p>
<p>Lega DacB (PBP4) induce AmpC¹¹⁸</p>	<p>DDI, convulsioni¹¹⁸</p>	<p>β-lattamasi di Classe B e D, sovraespressione PDC e mutazioni porine, Alcune GES¹¹⁸ mutazione PBP target</p>	<p>AmpC produttori con mutazione Ω loop (CZA/AVI e C/T)¹¹⁶, induzione di MeXY. MexD e OprD (cefotitina) come IMI¹²¹, determinanti di R quali OXA-48, GES e permeabilità cellulare^{122,123}</p>
<p>Lega PBP3 (CZA), PBP2 e PBP3 (AVI)¹²⁸ Legame AVI con PBP4 induce AmpC¹²⁹</p>	<p>–</p>	<p>Classe B, mutazioni AmpC, pompe di efflusso e porine alcune VEB¹²⁷</p>	<p>Mutazioni in OXA e AmpC-PDC (resistenza a C/T e CZA/AVI)¹²⁰ Mutazioni Ω loop (C/T)¹¹⁶, Cross-resistenza con CZA, FEP e PIP/TAZ e C/T da resistenti produttori OXA type, ESBL e PDC¹¹⁷</p>
<p>Lega preferibilmente PBP3¹³³</p>	<p>–</p>	<p>Mutanti AmpC e pompe efflusso/porine. AVI non apporta maggiore beneficio¹³²</p>	<p>Sovraespressione pompe di efflusso e ridotta permeabilità (susceptibilità analoga a MER), mutanti Ω loop A e C non inibite da AVI e mutazioni PBP3¹³²</p>
<p>Lega preferibilmente PBP3¹³⁷, non induce AmpC¹³⁸</p>	<p>Sbilanciamento mortalità CREDIBLE-CR¹³⁴</p>	<p>Mutazioni trasportatori ferro ed espressione siderofori¹³⁷, mutanti AmpC¹³⁹</p>	

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

Figura 25C.

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

Figura 25E.

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

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

Figura 25D.

TRASMISSIONE ORIZZONTALE DI RESISTENZA

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

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

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

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

CEFTOLOZANO/AZOBACTAM (C/T)

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

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

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

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

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

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

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

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

Dosaggio polmonare di ceftolozano/tazobactam (C/T)

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

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

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

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

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

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

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

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

Ceftolozano/
tazobactam
(C/T) e vHAP

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

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

Ceftolozano/
tazobactam
(C/T) in vHAP

vHAP sono caratterizzati da una maggiore gravità e presentano una maggiore mortalità; **C/T in questo contesto ha mostrato di essere non inferiore** (e possibilmente superiore) **al carbapenemico.** Questi sono pazienti in genere fragili, con molte comorbidità, che acquisiscono una polmonite nosocomiale con germi MDR e che una volta intubati sono molto difficili da trattare e sono più gravi rispetto ai pazienti con VAP; infatti, le VAP sono frequenti anche in pazienti più giovani che sono intubati, ad esempio per traumi gravi. La reattività alle infezioni di questi pazienti è maggiore rispetto al paziente dell'esempio precedente e così la capacità di sopravvivere.

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

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

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

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

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

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

CEFTAZIDIME/AVIBACTAM (CZA/AVI)

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

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

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

CEFIDEROCOL (FDC)

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

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

Cefiderocol
in *Pseudomonas
aeruginosa*:
studio CREDIBLE

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

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

(range n0,004-2) senza isolamento di ceppi resistenti, invece la MIC₉₀ di questi ceppi ad imipenem era > 8 mg/l dimostrando la presenza di ceppi MDR. Il successo clinico per le infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* era di 10/18 nel braccio cefiderocol rispetto ad 1 successo su 5 infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* nel braccio imipenem⁽¹⁶¹⁾.

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

IMIPENEM/RELEBACTAM (IMI/REL)

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

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

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

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

Resistenza
a IMI/REL
in *Pseudomonas
aeruginosa*

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

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

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

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

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

Resistenza a
IMI/REL in
Pseudomonas
aeruginosa

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

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

La farmacocinetica delle due molecole è complementare con C_{max} allo *steady state* per imipenem e relebactam pari a 88,9 μ M e 58,5 μ M, rispettivamente, e le rispettive AUC da zero a 24 h pari a 500 μ M·h e 390.5 μ M·h (con infusioni multiple da 30 min di 500/500 mg imipenem/cilastatina + 250 mg relebactam ogni 6 h in pazienti con infezioni batteriche). Il legame alle proteine plasmatiche è pari a circa 20%, 40% e 22% per imipenem, cilastatina e relebactam, rispettivamente.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

AZTREONAM/AVIBACTAM (AZT/AVI)

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

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

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

AZT/AVI e
Pseudomonas
aeruginosa

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

a causa dei numerosi meccanismi di resistenza di cui è dotato il patogeno (pompe di efflusso, mutazioni delle porine e mutazioni della PBP3), rendendo inefficace l'aggiunta di avibactam. Anche la tipologia di β -lattamasi e la frequenza con cui vengono espresse è differente in *Pseudomonas aeruginosa*, rendendo la colistina una delle ultime risorse nel trattamento di questi patogeni⁽¹⁷²⁾.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

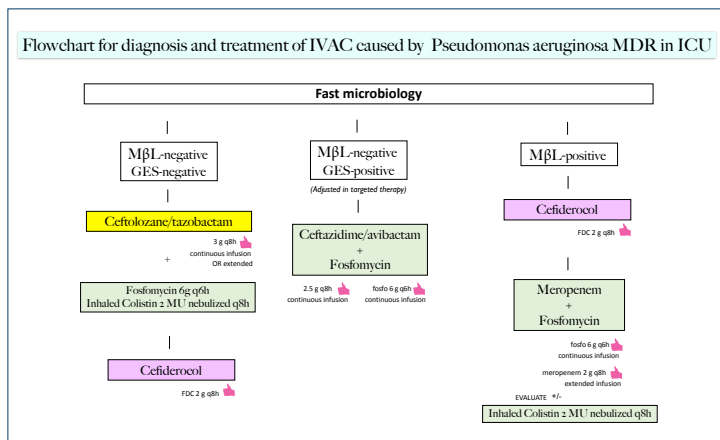


Figura 26. Algoritmo decisionale diagnostico-terapeutico per il trattamento delle polmoniti associate al ventilatore da *Pseudomonas aeruginosa* MDR.