



**Allegato 2**

**Protocollo operativo per la diagnosi, la sorveglianza e il controllo degli enterobatteri produttori di carbapenemasi nelle strutture sanitarie e socio-sanitarie**



12a7afc5





INDICE	PAG.
<b>1. PREMESSA</b> .....	<b>3</b>
<b>2. OBIETTIVI</b> .....	<b>4</b>
<b>3. PROTOCOLLI MICROBIOLOGICI</b> .....	<b>4</b>
3.1 Identificazione delle carbapenemasi in microrganismi isolati da campioni microbiologici clinici.....	4
3.1.1 <i>Quando sospettare la produzione di carbapenemasi alla lettura dell'antibiogramma</i> .....	4
3.1.2 <i>Test di conferma fenotipica</i> .....	5
3.1.3 <i>Test di conferma molecolari</i> .....	7
3.2 Standard per la refertazione (antibiogramma, interpretazione risultati).....	9
3.2.1 <i>Tempo di refertazione colture: risultati intermedi o preliminari</i> .....	9
3.2.2 <i>Tempo di refertazione colture: risultati definitivi</i> .....	9
<b>4. SORVEGLIANZA E CONTROLLO</b> .....	<b>10</b>
4.1 Test di screening all'ingresso.....	10
4.2 Sorveglianza attiva dei contatti.....	10
4.2.1 <i>Tempistica di esecuzione/refertazione dei test di screening e di implementazione delle relative misure di controllo</i> .....	11
4.2.2 <i>Follow-up dei casi di colonizzazione/infezione</i> .....	11
4.2.3 <i>Metodologie microbiologiche fenotipiche di screening</i> .....	12
4.2.4 <i>Metodiche microbiologiche molecolari di screening</i> .....	13
4.3 Cosa non è necessario fare di routine.....	14
4.4 Dimissioni del paziente.....	14
<b>APPENDICE 1</b> .....	<b>15</b>





## 1. PREMESSA

La diffusione di ceppi di *Enterobatteri* (*Enterobacteriaceae*, ora tassonomicamente definite *Enterobacterales*) resistenti ai carbapenemi (Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae*-CRE), specialmente se produttori di carbapenemasi (Carbapenemase Producing *Enterobacteriaceae*-CPE), rappresenta non solo un problema clinico emergente e di grande rilevanza, perché tale resistenza è frequentemente associata a resistenza multipla a diverse classi di antibiotici (ceppi pan-resistenti), ma anche un problema di sanità pubblica, per la loro elevata capacità di diffusione clonale fra pazienti diversi, e per la capacità di trasmissione mediante elementi genetici mobili tra i diversi microrganismi.

Negli *Enterobatteri* i tipi di carbapenemasi più frequentemente rilevate sono quelle di classe A e B, che possono diffondersi mediante plasmidi (es. KPC e NDM). Più raramente la resistenza ai carbapenemi è dovuta alla iperproduzione di  $\beta$ -Lattamasi a spettro esteso (ESBL) o di enzimi AmpC associata a ridotta permeabilità alle porine, oppure a presenza di carbapenemasi di classe D quali le OXA-48. Attualmente il meccanismo di resistenza più frequentemente riscontrato nella Regione Veneto è mediato dal plasmide KPC, anche se sono in aumento le segnalazioni di carbapenemasi di classe B e D.

La percentuale di isolati di *Klebsiella pneumoniae* produttori di carbapenemasi è molto variegata con differenze significative tra i vari Paesi; in alcuni casi si sono verificate epidemie di larga scala che hanno coinvolto numerosi ospedali di una stessa regione, in altri contesti la presenza di questi microrganismi è divenuta endemica mentre vi sono Paesi in cui il fenomeno è ancora sotto controllo.

Gli *Enterobatteri* sono frequentemente responsabili di infezioni comunitarie e infezioni correlate all'assistenza, causando cistiti, pielonefriti, batteriemie, polmoniti, peritoniti, meningiti, infezioni device-correlate. La mortalità ad essi attribuita risulta elevata, in particolar modo nelle batteriemie, dove può raggiungere il 70%.

Essi possono colonizzare l'uomo (a livello cutaneo, tratto respiratorio e digerente), comportandosi come patogeni opportunisti nei soggetti a rischio.

Interventi attivi di controllo delle infezioni, (tempestiva identificazione dei casi di infezione e dei pazienti colonizzati, e la tempestiva attuazione di misure di prevenzione) risultano efficaci nell'eradicare o contenere fortemente la diffusione di questi microrganismi.

Nella Regione del Veneto, un'indagine effettuata presso tutte le strutture ospedaliere pubbliche e private ha permesso di evidenziare che gli isolamenti di CPE da emocoltura sono cresciuti da 336 (relativi a 192 pazienti) nel 2016 a 516 (relativi a 273 pazienti) nel 2017. Rapportando gli isolamenti al numero di giornate di degenza (ricoveri ordinari, sia per acuti sia in lungodegenza/riabilitazione), il tasso di pazienti con batteriemia da CPE è cresciuto nel biennio considerato da 0.49 a 0.70 per 10,000 gg di degenza.

Nella maggior parte delle strutture è attivo uno screening sistematico dei pazienti ricoverati in Terapia Intensiva; in alcune lo screening è esteso all'Oncoematologia, al Centro Trapianti, o ad altri reparti anche a seconda dell'epidemiologia locale. Alcuni ospedali hanno avuto difficoltà nel fornire i dati di screening relativi ai singoli pazienti (su cui il test può essere stato ripetuto più volte), per cui si forniscono i dati sui





risultati complessivi dei test effettuati: sono risultati positivi a CPE l'11.2% dei test effettuati in Terapia Intensiva (2413/21595), il 6.2% nei Centri Trapianti (385/6219), il 3.3% in Oncoematologia (133/4013), ed il 2.8% in altri reparti in cui era attivo uno screening sistematico (473/17006).

Valori di positività più elevati sono stati riportati nei risultati della sorveglianza attiva effettuata su pazienti considerati ad altro rischio. Le strategie adottate sono differenti nelle diverse strutture, nella maggior parte includono la valutazione dei contatti di pazienti con infezione/colonizzazione da CPE, con precedente nota positività a CPE, o trasferiti da altro ospedale; solo in un numero limitato di strutture la sorveglianza attiva è condotta su pazienti con recente ricovero ospedaliero o provenienti da strutture residenziali per anziani. I risultati sul totale dei test condotti su pazienti ad alto rischio mostrano una positività del 14.6% in Area Medica, del 21.9% in Area Chirurgica, e del 7.0% in altri reparti ospedalieri.

## 2. OBIETTIVI

Il presente documento ha l'obiettivo di fornire protocolli operativi per la diagnosi, la sorveglianza e il controllo della trasmissione degli Enterobatteri produttori di carbapenemasi. Gli interventi proposti mirano principalmente a interrompere la catena di trasmissione dei microrganismi in questione; è inoltre affrontato anche il problema concernente, l'uso inappropriato degli antibiotici. Per questo motivo, sono riportate in appendice alcune note al referto microbiologico che, fornendo indicazioni per una corretta interpretazione dell'esame colturale e del suo significato clinico, potrebbero favorire un utilizzo più corretto degli antibiotici. Non viene in questa sede affrontato l'aspetto terapeutico delle infezioni causate da questi microrganismi.

## 3. PROTOCOLLI MICROBIOLOGICI

Sui materiali biologici inviati per una diagnosi microbiologica, una rapida e accurata rilevazione degli isolati produttori di carbapenemasi è estremamente importante per il management della terapia antimicrobica, l'implementazione delle misure di *infection control* e a scopi epidemiologici.

### 3.1 Identificazione delle carbapenemasi in microrganismi isolati da campioni microbiologici clinici

Gli obiettivi sono rivolti a riconoscere in modo efficace tutti gli Enterobatteri produttori di carbapenemasi, e distinguerli dai ceppi che sono resistenti ai carbapenemi in virtù di altri meccanismi.

A fronte della diversità della tipologia degli enzimi, della considerevole variazione nei livelli di resistenza fenotipica ai carbapenemi (ad esempio nella valutazione delle MIC), e della complessità della resistenza ai carbapenemi non mediata dalle carbapenemasi, non esiste un metodo universalmente applicabile in grado di realizzare quest'obiettivo.

#### 3.1.1 Quando sospettare la produzione di carbapenemasi alla lettura dell'antibiogramma

In Europa, l'*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST), per gli Enterobatteri, sulla base dei definiti breakpoint clinici per i carbapenemi, raccomanda di riportare nella refertazione i risultati





del test di sensibilità (antibiogramma) senza alcuna variazione, in quanto la presenza o l'assenza di una carbapenemasi non influenza di per sé la categorizzazione di sensibilità. In molte aree, la rilevazione e la caratterizzazione delle carbapenemasi, nei casi sospetti, è raccomandata, o obbligatoria, per scopi epidemiologici o di controllo delle infezioni.

Tuttavia, i nuovi antimicrobici, di recente introduzione nella pratica clinica con attività sui batteri Gram negativi, hanno dimostrato attività solo su determinati meccanismi di resistenza, che devono essere necessariamente rilevati per un corretto approccio terapeutico.

La produzione di carbapenemasi deve essere sospettata in tutti gli isolati di *Enterobatteri* per i quali le MIC dei carbapenemi risultino superiori ai rispettivi *cut-off* epidemiologici (ECOFF) dei ceppi selvaggi o *wild-type* della specie corrispondente. I valori ECOFF definiscono l'estremità superiore della distribuzione dei ceppi *wild-type*, per cui i microrganismi con valori di MIC superiori all'ECOFF hanno verosimilmente acquisito qualche meccanismo di resistenza.

Tuttavia, i *breakpoint* clinici dei carbapenemi sono più elevati dei valori di ECOFF, e i diversi sistemi utilizzati nella pratica di laboratorio per determinare la sensibilità agli antibiotici non sempre consentono di misurare valori di MIC dei carbapenemi nel range degli ECOFF.

Secondo le indicazioni dell'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), Il Meropenem viene attualmente considerato il farmaco più idoneo da utilizzare per sospettare la produzione di carbapenemasi, perchè garantisce, rispetto a Imipenem ed Ertapenem, una adeguata sensibilità e specificità nella selezione dei ceppi sui quali effettuare i test di conferma.

In questo documento viene pertanto raccomandato di sottoporre a conferma fenotipica e/o molecolare tutti i ceppi di *Enterobatteri* che presentino nel test di sensibilità (antibiogramma) una **MIC  $\geq$  0,25  $\mu$ g/ml per meropenem.**

**Il valore di MIC  $\geq$  0,5  $\mu$ g/ml per meropenem** (CoSA-AMCLI 2012) dovrebbe invece essere utilizzato da quei laboratori la cui strumentazione in uso per i test di sensibilità non consente di saggiare la MIC = 0,25

La produzione di carbapenemasi negli *Enterobatteri* può essere rilevata e confermata con metodi fenotipici o molecolari.

I test di conferma devono essere disponibili a livello locale, per consentire di individuare in tempi rapidi i ceppi produttori di carbapenemasi e poter attuare celermente i corretti approcci terapeutici e tutte le necessarie misure di *infection control*.

### 3.1.2 Test di conferma fenotipica

Per il rilievo fenotipico della produzione di carbapenemasi sono proposte le seguenti tipologie di test.

#### **Test di sinergia**

Il microrganismo potenziale produttore di carbapenemasi è testato nei confronti di un carbapenemico in presenza di inibitori quali EDTA o acido dipicolinico (per MBL) ed acido boronico (per KPC) in disco-combinazione/disco-approssimazione.





Vantaggi: di facile esecuzione, consente la rilevazione e caratterizzazione fenotipica delle carbapenemasi di tipo KPC e MBL.

Limiti: non consente il riconoscimento della produzione di carbapenemasi di tipo OXA (in questo ambito, può essere utile l'evidenza di resistenza alla temocillina con altre sinergie negative, oppure la crescita dopo semina su terreni selettivi per questo microrganismi con geni OXA).

#### ***Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation - Time of Flight (MALDI-ToF)***

La spettrometria di massa è diventata di utilizzo comune nei laboratori di Microbiologia e consente, oltre ad una rapida identificazione di numerosi microrganismi, anche di rilevare la produzione di carbapenemasi. Il sistema rileva i cambiamenti di massa dovuti all'idrolisi di una molecola di carbapenemico. Richiede una pre-incubazione di un carbapenemico con il microrganismo in esame, può essere completato in circa due ore e fornisce un risultato SI/NO. Numerosi studi in letteratura descrivono le sue eccellenti applicazioni per la rilevazione delle carbapenemasi (analisi del farmaco e dei suoi prodotti di degradazione) negli enterobatteri, utilizzando differenti carbapenemi (imipenem, meropenem, ertapenem) vari buffer di reazione (es.: ammonio citrato, Tris-HCl,  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ), differenti matrici e differenti tempi di incubazione.

Vantaggi: rappresenta un metodo semplice, rapido ed economico per rilevare la produzione di carbapenemasi negli Enterobatteri, è può essere introdotto con facilità, in quei laboratori che già utilizzano il sistema per le identificazioni di batteri e funghi, nel flusso di lavoro di un laboratorio di Microbiologia.

Limiti: auspicabile una futura standardizzazione delle procedure operative e loro validazione in studi multicentrici o in studi multipli in singoli centri, inoltre, le impostazioni del MALDI-ToF devono essere modificate rispetto a quelle utilizzate per l'identificazione dei microrganismi.

#### ***Test immunocromatografici***

Sono commercialmente disponibili test immunocromatografici che permettono di rilevare, negli Enterobatteri produttori di carbapenemasi, la presenza dei principali determinanti di resistenza eventualmente presenti (KPC, VIM, NDM, IMP, OXA-48-like).

Il saggio utilizza anticorpi monoclonali marcati diretti contro i principali determinanti di resistenza: KPC, OXA, VIM, IMP, NDM. Quando il campione migra attraverso la membrana di nitrocellulosa (strip), gli enzimi presenti vengono catturati, e compare visivamente una linea colorata in corrispondenza della regione contenente gli anticorpi monoclonali specifici diretti selettivamente contro il determinante di resistenza immobilizzato sulla membrana. La regione di controllo, qualunque sia il risultato, deve sempre mostrare una linea colorata affinché il test possa considerarsi valido.

Sono disponibili test immunocromatografici specifici per un singolo determinante di resistenza o test multiplex in grado di rilevare contemporaneamente solo alcuni o tutti i principali determinati di resistenza.

Vantaggi: costi contenuti, facilità di utilizzo e tempi di esecuzione di circa 15 minuti. Ottimale la possibilità di rilevare contemporaneamente in un unico test tutti i principali determinati di resistenza e di rilevare anche





due diversi meccanismi di resistenza nello stesso microrganismo. I dati di letteratura disponibili evidenziano una ottima sensibilità e specificità e nessuna interferenza tra i diversi meccanismi di resistenza.

Limiti: i test sono di recente commercializzazione e quindi, seppur promettenti, necessitano di validazione in studi multicentrici o in studi multipli in singoli centri.

#### ***Test colorimetrico (CarbaNP test e sue varianti)***

Rileva l'idrolisi di un carbapenemico da parte di un microrganismo produttore di carbapenemasi. L'idrolisi "in vitro" acidifica il terreno determinando un cambio di colore dell'indicatore di pH. Questo test è stato segnalato per la sua capacità di rilevazione delle carbapenemasi nelle Enterobacteriaceae e Pseudomonas.

Vantaggi è relativamente economico, rapido, riproducibile e dai dati della letteratura risulta essere molto sensibile e specifico. Il test Richiede la pre-incubazione di un carbapenemico con il microrganismo da saggiare, e può essere completata in circa 2 ore. Sono disponibili test commerciali oppure i materiali per i test possono essere preparati *in-house* (un riferimento può essere il documento CLSI, 2016).

Limiti: come tutti i test colorimetrici, ha una valutazione soggettiva, quindi operatore-dipendente, che in alcuni casi può non essere agevole.

#### ***Test di Hodge (variamente modificato)***

Si basa sulla dispersione delle carbapenemasi da parte del microrganismo produttore in esame nel mezzo circostante e sulla sua capacità di proteggere dall'azione dei carbapenemi i ceppi sensibili presenti sulla stessa piastra.

Vantaggi: di esecuzione relativamente facile, economico, non richiede dispositivi o reagenti particolari, consente di riconoscere la produzione di tutti i tipi di carbapenemasi incluse quelle di tipo OXA.

Limiti: è un test relativamente aspecifico, non permettendo, ad esempio la distinzione fra carbapenemasi di classe A e MBL, richiede un certo grado di esperienza per l'interpretazione affidabile dei risultati, può comportare il rischio di risultati di falsa positività (ceppi iperproduttori di AmpC o ESBL) o di falsa negatività (ceppi produttori di MBL)

Vista la maggior accuratezza e standardizzazione dei test di conferma precedentemente elencati, se ne consiglia l'utilizzo routinario, riservando al test di Hodge solo un ruolo di supporto nei casi dubbi.

Ulteriori test sono commercialmente disponibili e vengono elencati per completezza:

**Test di combinazione su striscia a gradiente di diffusione per MBL** (è di facile esecuzione, ma è costoso e permette di rilevare solo le carbapenemasi tipo metallo-beta-lattamasi).

**Terreni cromogeni selettivi**, ad esempio per microrganismi con geni OXA.

#### ***3.1.3 Test di conferma molecolari***

Sono ora utilizzabili diverse tecniche molecolari, commercialmente disponibili o eseguite con metodiche *home-made*, che permettono la conferma nel microrganismo in esame della presenza di carbapenemasi e l'identificazione dei determinanti di resistenza presenti (KPC, VIM, IPM; NDM-1, OXA-48, e/o altri



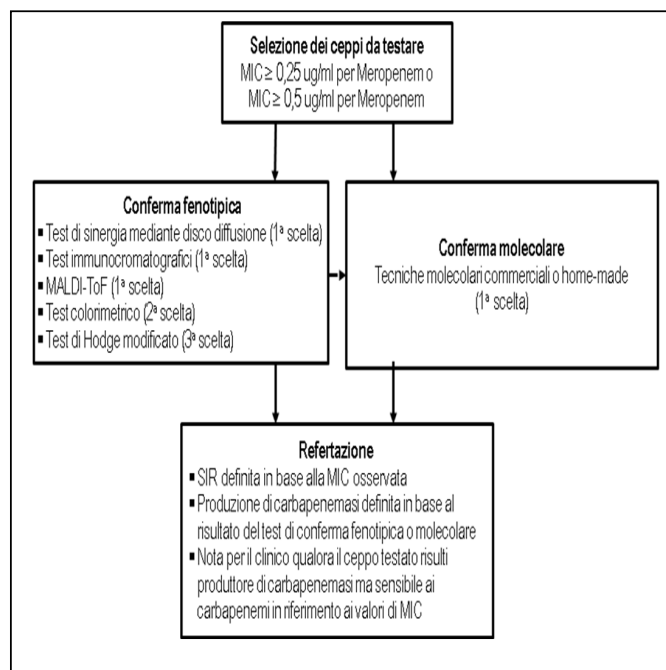


determinanti di resistenza). L'utilizzo di questi test si rende indispensabile soprattutto in caso di sospette condizioni epidemiche, per la mancanza di inibitori specifici per alcune carbapenemasi (es. OXA-58) e le difficoltà nella standardizzazione/ interpretazione dei risultati dei test fenotipici.

La conferma molecolare è auspicabile sia per il management della terapia antimicrobica (alcune nuove molecole sono attive solo su particolari determinanti), sia per fini epidemiologici (tracing), sia in ambito di valutazione del rischio (la diffusibilità della metallo-beta-lattamasi NDM è ad esempio maggiore rispetto ad altri geni), sia per l'implementazione delle necessarie misure di *infection control*.

Gli enterobatteri con ridotta sensibilità ai carbapenemi per cause diverse dalla produzione di carbapenemasi, come l'iperproduzione di  $\beta$ -Lattamasi a spettro esteso (ESBL) o di enzimi AmpC associata a ridotta permeabilità alle porine (test di conferma fenotipica e/o molecolare negativo), non sono inclusi nella sorveglianza regionale perché ritenuti meno problematici da un punto di vista clinico ed epidemiologico. Tali microrganismi possono rientrare nella lista dei microrganismi alert a livello locale, in base alle disposizioni delle singole aziende.

**Figura 1 - Algoritmo per l'identificazione fenotipica e/o molecolare e la refertazione degli Enterobatteri produttori di carbapenemasi isolati da campioni clinici**







### 3.2 Standard per la refertazione (antibiogramma, interpretazione risultati)

Per l'antibiogramma è raccomandato utilizzare una metodica in grado di saggiare le MIC (Minima Concentrazione Inibente) in microdiluizione in brodo, in caso d'infezioni invasive (sepsi, meningiti) e polmonari accertate (da campione profondo).

#### 3.2.1 Tempo di refertazione delle colture: risultati intermedi o preliminari

I risultati intermedi o preliminari devono essere rilasciati per l'isolamento degli isolati clinici potenzialmente significativi, non appena si rileva una crescita, tranne che siano state concordate soluzioni alternative specifiche con i richiedenti.

I risultati urgenti devono essere comunicati in conformità alle politiche aziendali inserendo la nota *“Resistenza ai carbapenemici / isolato microrganismo non-sensibile. Può essere produttore di una carbapenemasi; sono in corso successivi accertamenti”*.

Al fine di ridurre il rischio di trasmissione, si raccomanda di adottare subito le precauzioni da contatto in attesa del risultato del test di conferma. L'applicazione delle precauzioni da contatto potrà essere interrotta in caso di negatività del test.

#### 3.2.2 Tempo di refertazione colture: risultati definitivi

I referti finali dovrebbero seguire quelli preliminari nel più breve tempo possibile.

Nel caso di isolamento di un ceppo di *K. pneumoniae* produttore di carbapenemasi o di CRE (confermato con test fenotipico o molecolare) da campioni biologici inviati per indagini microbiologiche, poiché le MIC di alcuni carbapenemi possono rientrare nel range di sensibilità, si raccomanda di aggiungere al referto dell'antibiogramma la nota: *“Ceppo produttore di carbapenemasi; la terapia con carbapenemi potrebbe risultare scarsamente efficace o inefficace anche se “in vitro” il ceppo appare sensibile a questi farmaci. Nel caso in cui si intendano utilizzare tali farmaci si raccomanda una preventiva consulenza con un esperto di terapia antibiotica”*.

L'esecuzione dell'antibiogramma può essere utile anche negli isolati da **test di screening/culture di sorveglianza**, per definire se si tratti di *Klebsiella pneumoniae* KPC o CRE, ed a scopo epidemiologico. La presenza dell'antibiogramma nel referto tuttavia potrebbe indurre a terapie antibiotiche inappropriate: viene pertanto raccomandato di inserire una nota esplicativa al referto riportante: *“Colonizzazione da ceppo di Klebsiella pneumoniae produttore di carbapenemasi o CRE: non è indicato un trattamento antibiotico in assenza di infezione. Si raccomanda di utilizzare le precauzioni standard e da contatto per prevenire la diffusione del microrganismo”*.





#### 4. SORVEGLIANZA E CONTROLLO

##### 4.1 Test di screening all'ingresso

I Programmi di sorveglianza attiva hanno lo scopo di identificare soggetti colonizzati (portatori) in assenza di segni e sintomi di infezione.

Lo screening dei pazienti colonizzati può essere efficacemente effettuato mediante esame colturale di un campione prelevato con tampone in sede rettale, pur essendovi la possibilità di colonizzazione anche a livello orale, respiratorio, urinario. Quando viene isolato un primo caso in

un ospedale o in una Unità Operativa, considerare l'opportunità di eseguire una sorveglianza retrospettiva per valutare la presenza di eventuali casi precedenti non riconosciuti, attraverso i dati del laboratorio di Microbiologia.

Le categorie di pazienti a cui effettuare lo screening sono:

- contatti di pazienti con infezione o colonizzazione da batteri CPE, ovvero “ciascun paziente assistito dalla stessa equipe di un paziente infetto o colonizzato da CPE”, adattabile alle singole realtà assistenziali in base alla frequenza osservata di CPE e in base alle caratteristiche strutturali/organizzative della struttura;
- pazienti precedentemente identificati come colonizzati o infetti che vengano nuovamente ricoverati in ospedale;
- pazienti provenienti da altri Paesi ove la diffusione di CPE è endemica (es. Grecia, Cipro, India, Pakistan, Colombia, Israele, Stati Uniti d’America);
- i pazienti che vengono ricoverati o trasferiti in reparti a rischio, quali Terapia Intensiva, Oncologia, Ematologia, Neuro-Riabilitazione/Unità spinale e Chirurgia dei trapianti;
- i pazienti provenienti da altro ospedale o recentemente ricoverati in ospedale (negli ultimi tre mesi) o provenienti da strutture territoriali per anziani.

Lo screening potrebbe inoltre essere esteso ad altre categorie di pazienti, in base alle esigenze della struttura Sanitaria. Nei reparti considerati a rischio i pazienti risultati negativi, vanno testati comunque ogni 7 giorni.

##### 4.2 Sorveglianza attiva dei contatti

Il piano di sorveglianza attiva deve essere predisposto qualora emerga un caso di infezione o colonizzazione da CRE (Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae), specialmente se il ceppo risulta produttore di carbapenemasi (Carbapenemase Producing *Enterobacteriaceae*-CPE),, definito caso indice. Sono definiti casi secondari, tutti i casi di infezione o colonizzazione epidemiologicamente correlati al caso indice. Si definiscono contatti, del caso indice o dei casi secondari, TUTTI i pazienti gestiti dalla stessa equipe assistenziale (personale medico, infermieristico, fisioterapista, o altri operatori che hanno contatti stretti e ripetuti con i pazienti).

Negli ospedali dove sono presenti molti casi potrebbe essere necessario ottimizzare la selezione dei contatti da sottoporre a screening includendo solo quelli a più alto rischio di colonizzazione. In queste situazioni, con





l'obiettivo di rendere fattibile la sorveglianza attiva, si può adattare la strategia di screening alle caratteristiche del caso:

- se il caso è autosufficiente, dovranno essere sottoposti a screening solo i pazienti che siano stati degenti nella stessa stanza del caso;
- se il caso è allettato lo screening, oltre che ai compagni di stanza, dovrà esser esteso anche a tutti i soggetti allettati del reparto. I compagni di stanza sono, infatti, a maggior rischio di contatto diretto con il caso e con le superfici a questo prossime; gli allettati sono, invece, a maggior rischio di trasmissione veicolata dal personale assistenziale, che ha in carico il caso, attraverso le mani o i vestiti.

La sorveglianza attiva su tutti i pazienti identificati come contatti a seconda della strategia utilizzata, deve essere eseguita sino a quando non vi sia sufficiente evidenza che nel reparto la trasmissione sia stata interrotta. Dovranno quindi essere rispettati ambedue i seguenti criteri:

- nessun nuovo caso di colonizzazione/infezione da 3 settimane;
- adeguato isolamento di tutti i casi che sono stati degenti nel reparto durante le ultime 3 settimane.

Potrà altresì essere considerata la possibilità di proseguire la sorveglianza attiva fino a quando nel reparto non siano più presenti casi di colonizzazione o infezione da almeno 3 settimane.

Per quanto riguarda le misure di carattere generale vedere l'appendice 1.

#### *4.2.1 Tempistica di esecuzione/refertazione dei test di screening e di implementazione delle relative misure di controllo*

- Il prelievo per il test nelle categorie dei pazienti in cui è indicato deve essere eseguito tempestivamente per consentire l'applicazione corretta delle misure di controllo.
- Il laboratorio deve eseguire il test e notificare al reparto la negatività o la sospetta positività entro 48 ore lavorative dal prelievo. I test di screening devono pertanto essere disponibili in tutti gli ospedali per acuti pubblici e privati della regione. L'effettuazione del test dovrà essere garantita dal laboratorio della stessa azienda o in convenzione con altra azienda.
- Si raccomanda, ove ciò sia fattibile, di applicare le precauzioni da contatto ai pazienti con risultato di sospetta positività del test screening (quindi prima delle successive fasi di tipizzazione/conferma).
- Le precauzioni da contatto potranno essere interrotte in caso di negatività dei test di conferma (disponibile entro le successive 24-48 ore).

#### *4.2.2 Follow-up dei casi di colonizzazione/infezione*

In base ai dati disponibili sulla durata della colonizzazione in ospedale e al fine di garantire la corretta applicazione delle precauzioni da contatto nei pazienti colonizzati o infetti, si raccomandano i seguenti criteri di follow-up:





1. per ciascun paziente colonizzato o infetto con prima positività identificata in corso del ricovero, al fine di limitare il numero di tamponi rettali, si raccomanda di interrompere lo screening dopo un test positivo e di mantenere le precauzioni da contatto fino alla dimissione;
2. in caso di nuovo ricovero di paziente con almeno una positività accertata in passato:
  - se l'ultima positività è stata osservata nei 90 giorni precedenti, si raccomanda di non effettuare ulteriori test di screening e di applicare le precauzioni da contatto per tutta la durata del ricovero;
  - se l'ultima positività è stata osservata più di 90 giorni prima, si raccomanda di effettuare lo screening all'ingresso. Il paziente sarà considerato negativo dopo **tre test** consecutivi negativi, eseguiti a una settimana di intervallo uno dall'altro (qualora la gestione dei pazienti lo richieda e l'organizzazione dell'ospedale lo consenta, è possibile ridurre l'intervallo tra un test e il successivo a 3-4 giorni). Alla presenza di tre test consecutivi negativi, eseguire comunque una valutazione del rischio prima di rimuovere le precauzioni da contatto<sup>1</sup>. Qualora lo stesso paziente (risultato negativo a tre test consecutivi e non ha successive positività) sia nuovamente ricoverato in ospedale, si raccomanda di implementare le precauzioni da contatto e di eseguire almeno un test di screening (ottimali, tre campioni); solo dopo la conferma della negatività sarà possibile rimuovere le precauzioni da contatto.

#### 4.2.3 Metodiche microbiologiche fenotipiche di screening.

Esistono diversi protocolli per la rilevazione dei soggetti colonizzati.

##### a. Semina diretta su terreno selettivo (McConkey) con dischetto di meropenem

Il tampone viene direttamente strisciato sulla superficie del terreno agarizzato selettivo, posizionando subito dopo nell'area di semina più densa un dischetto di meropenem (10 µg). Devono essere considerate sospette e quindi sottoposte a test di conferma le colonie con morfologia tipica per *Enterobacteriaceae* (ora *Enterobacterales*) che risultino crescere all'interno dell'alone di inibizione della crescita batterica, ovvero nell'area corrispondente ad un alone di inibizione con diametro  $\leq 30$  mm.

Vantaggi: lettura dei risultati dopo 24 ore in caso di esito positivo, o qualora l'esito sia negativo è opportuno effettuare una seconda lettura a 48 ore. Facile riconoscimento delle colonie sospette. Costi contenuti. L'aggiunta di un secondo dischetto di meropenem addizionato di acido boronico, se ritenuta conveniente, potrebbe consentire il contestuale riconoscimento della produzione di enzimi del tipo KPC, ed evitare dunque la necessità di test di conferma in caso di risultato positivo.

Limiti: l'aggiunta di dischetti al terreno deve essere eseguita con modalità tecniche ottimali e richiede pertanto un leggero aumento del tempo di esecuzione. Nei pazienti colonizzati in bassa carica potrebbero verificarsi risultati falsamente negativi.

<sup>1</sup> In questi casi, può essere utile una nota al referto microbiologico che specifichi: "La negatività di tre campioni per la ricerca di enterobatteri produttori di carbapenemasi non è indicativa di clearance microbiologica. In opportune condizioni, può rilevarsi una nuova positività, ad esempio a seguito di terapie antibiotiche."



**b. Semina diretta su terreni cromogeni selettivi per la rilevazione di CPE**

Devono essere utilizzati terreni cromogeni selettivi, specifici per la ricerca di Enterobatteri con scarsa sensibilità ai carbapenemi.

Vantaggi: questi terreni consentono un facile riconoscimento delle colonie sospette ed una identificazione presuntiva di specie. La lettura dei risultati richiede 18-24 ore.

Limiti: tale approccio è sicuramente economicamente più costoso, la specificità deve essere valutata in base al terreno utilizzato.

**c. Semina su McConkey previo arricchimento in terreno liquido addizionato di carbapenemico**

E' la metodica consigliata dal CDC, e prevede la semina del tampone rettale in 5 ml di Tryptic Soy Broth addizionato con un dischetto di ertapenem o meropenem 10 µg (concentrazione finale 2 µg/ml), seguita da incubazione a 35°C per 18 ore, successiva semina di 100 µl della brodo coltura su agar McConkey (incubato anch'esso a 35°C per 24-48 ore), con o senza aggiunta di dischetto di meropenem nell'area di semina.

Vantaggi: facile riconoscimento delle colonie sospette e costi contenuti

Limiti: lettura dei risultati dopo 48-72 ore ed un maggiore carico di lavoro per il laboratorio. Inoltre, l'eventuale sviluppo prevalente nel brodo di arricchimento di altri generi di bacilli Gram – resistenti ai carbapenemi (*Acinetobacter*, *Pseudomonas*) potrebbe impedire il rilevamento di eventuali enterobatteri presenti e comportare risultati falsamente negativi.

**Caratterizzazione degli isolati sospetti**

Le colonie evidenziate come "sospette", utilizzando una delle metodiche sopra descritte, dovranno essere caratterizzate con identificazione, antibiogramma ed eventuali test fenotipici o molecolari.

Ovviamente nel caso in cui per il paziente fosse già nota la colonizzazione da parte di un ceppo produttore di carbapenemasi, ulteriori caratterizzazioni dello stesso ceppo potranno risultare opzionali.

Le evidenze della letteratura non stabiliscono ancora in modo convincente la migliore efficacia di un approccio piuttosto che di un altro. E' consigliabile che il centro che esegue la sorveglianza attiva dei contatti si affidi a uno dei protocolli sopra descritti, valutando anche la fattibilità/disponibilità dei diversi test nello specifico contesto.

**4.2.4 Metodiche microbiologiche molecolari di screening.****Test di screening/conferma molecolare direttamente su tampone rettale**

Sono commercialmente disponibili sistemi molecolari che permettono di rilevare la presenza, direttamente dal tampone rettale, di microrganismi produttori di carbapenemasi, individuando i principali determinanti di resistenza eventualmente presenti (KPC, VIM, NDM, IMP, OXA-48, e/o altri determinanti di resistenza).





Questo approccio rappresenta contemporaneamente uno screening ed un test di conferma molecolare, con risultati disponibili nella stessa giornata o dopo 24 ore, sulla base dell'organizzazione e dei flussi di lavoro del laboratorio.

Vantaggi: costi contenuti e i pazienti colonizzati sono rapidamente individuati, con interventi più tempestivi dell'*infection control*.

Limiti: i campioni risultati positivi devono essere coltivati, preferibilmente su un terreno cromogeno selettivo per la rilevazione di CPE, per una corretta identificazione di specie e l'eventuale esecuzione di un antibiogramma, utile sia a fini epidemiologici sia di *antimicrobial stewardship*.

#### 4.3 Cosa non è necessario fare di routine

Lo screening dello staff può essere eseguito nel caso di presenza di un evento epidemico non risolto nonostante l'applicazione di tutte le misure di controllo previste.

#### 4.4 Dimissione dei pazienti

Nel caso in cui un paziente ricoverato e identificato come **contatto** sia già stato dimesso, per ragioni legate ai tempi di risposta della Microbiologia, individuare tra le seguenti opzioni:

- dimesso a domicilio: comunicazione al MMG per indicazioni pratiche;
- dimesso in altra struttura sanitaria o casa di riposo: comunicazione al personale medico di riferimento e, tramite la Commissione Ospedaliera per il controllo delle infezioni correlate all'assistenza, al referente del rischio infettivo dell'ULSS di riferimento.

Analogamente, nel caso di paziente identificato come contatto dopo il trasferimento ad altra Unità Operativa, dare immediata comunicazione all'Unità Operativa di trasferimento per l'adozione immediata delle precauzioni da contatto ed esecuzione dello screening microbiologico; in caso di positività considerare il paziente caso indice per quella Unità Operativa.





## APPENDICE 1

### Prevenzione e controllo della trasmissione di enterobatteri produttori di carbapenemasi nelle strutture sanitarie e socio-sanitarie

Le politiche della prevenzione e controllo della trasmissione di CPE si basano su tre momenti fondamentali che prevedono l'applicazione di:

1. Misure di carattere generale
2. Misure di carattere organizzativo
3. Misure di carattere assistenziale e gestione del paziente

#### 1. Misure di carattere generale

- La prevenzione della diffusione di Enterobatteri resistenti ai carbapenemi, specialmente se produttori di carbapenemasi, deve essere una priorità assoluta per l'intera organizzazione aziendale, ospedaliera e di singolo reparto.
- Tutti gli Enterobatteri resistenti ai carbapenemi devono essere presenti nella lista del sistema di segnalazione rapida dei microrganismi sentinella/alert.
- Le Precauzioni Standard e le Precauzioni da Contatto sono alla base dei provvedimenti di prevenzione e controllo della diffusione dei CRE. La principale modalità di trasmissione è rappresentata dalle mani del personale. È essenziale sensibilizzare e addestrare gli operatori sanitari a una meticolosa adozione delle misure di prevenzione e controllo.
- Si raccomanda, in ogni ospedale, una ricognizione delle stanze singole e delle stanze adattabili a stanza singola per rendere possibile una pianificazione dell'utilizzo delle stesse in un'ottica dipartimentale in caso di *outbreak* diffusi.
- È prioritario promuovere politiche aziendali di *Antimicrobial Stewardship*.

#### 2. Misure di carattere organizzativo

- Implementare immediatamente il piano di contenimento, con aderenza meticolosa alle precauzioni per il controllo delle infezioni, che prevedono la collocazione del paziente colonizzato infetto in stanze singole con bagno in camera o comoda dedicata. Garantire la collocazione del paziente in stanze singole anche attraverso una forte collaborazione tra unità operative e reparti al fine di superare potenziali limiti strutturali nell'ottica di permettere la miglior collocazione del paziente. Tale intervento deve essere fortemente supportato dalle Direzioni Aziendali.
- Qualora non sia disponibile una stanza singola, identificare un luogo per un efficace isolamento, un'area delimitata all'interno di una stanza oppure adottare l'isolamento per coorte. (L'efficacia dell'isolamento è strettamente legata all'osservazione di stringenti precauzioni da contatto).
- Impiegare, personale dedicato (referente di caso o *staff cohorting*). Alla presenza di un solo caso, individuare un infermiere referente del caso che garantisca, all'interno di ogni turno di lavoro,





l'assistenza al paziente e l'adesione alle precauzioni da contatto da parte di tutti gli operatori e visitatori a contatto con il caso. Alla presenza di più casi, raccomandare uno

- staff cohorting oppure, ove ciò non sia fattibile, individuare un infermiere referente dei casi che provveda anche solo parzialmente all'assistenza dei pazienti in isolamento ma che garantisca l'adesione alle precauzioni da contatto da parte di tutti gli operatori e visitatori a contatto con i casi.
- Valutare la possibilità di implementare misure di isolamento precoce. Ove ciò sia possibile, adottare precocemente le precauzioni da contatto per gruppi selezionati di pazienti a elevato rischio di colonizzazione (provenienti da strutture in cui è in corso un'epidemia) e/o a elevato rischio di infezioni invasive (ricoverati in chirurgia trapianti) da protrarre fino ad aver escluso la colonizzazione.

### 3. Misure di carattere assistenziale

- Rinforzare e potenziare l'igiene delle mani (ove possibile eseguire l'osservazione dell'adesione alle pratiche e restituire i dati agli operatori).
- Utilizzare guanti monouso e sovra camice.
- Privilegiare l'utilizzo di materiale monouso quando disponibile. Quando ciò non fosse possibile attenersi scrupolosamente alle procedure aziendali per il ricondizionamento/*reprocessing* dei presidi medici chirurgici, in particolare del materiale endoscopico, di dialisi, di tutte le attrezzature di supporto e superfici coinvolte. Le relative procedure operative devono essere standardizzate e presenti in ogni Azienda.
- Utilizzare strumenti ad uso dedicato (padelle, pappagalli, lacci emostatici, fonendoscopio, materiale occorrente per il posizionamento di accessi venosi ecc.).
- Eseguire un trattamento efficace di disinfezione di padelle e pappagalli (qualora non monouso e non dedicati).
- Assicurarsi dell'effettiva decontaminazione dell'attrezzatura.
- Per i pazienti senza drenaggi, diarrea o secrezioni non controllabili, disciplinare gli spostamenti autonomi, la socializzazione e l'uso di aree comuni (CDC, 2006).
- Considerare misure supplementari di igiene dei pazienti per limitare la circolazione dei microrganismi multiresistenti in particolari contesti a rischio o in corso di epidemie.
- Eseguire l'igiene del paziente con clorexidina al 2% (bagno o utilizzo di panni imbevuti) evitando le aree al di sopra della mandibola e le ferite aperte. Questa procedura è stata più frequentemente utilizzata in terapia intensiva ricorrendo ai lavaggi con clorexidina giornalmente e includendo tutti i ricoverati nel reparto anche se non colonizzati. In contesti diversi come le lungodegenze è possibile implementare la procedura solo sui pazienti a maggior rischio (es. pazienti totalmente dipendenti) e non necessariamente su base giornaliera.
- Ridurre la diffusione con un efficace potenziamento dell'igiene ambientale (considerare l'aumento della frequenza e l'utilizzo di un disinfettante appropriato).







- Prestare particolare attenzione alle aree di frequente contatto e ai servizi igienici.
- Codificare la pulizia dell'unità del malato e/o delle superfici toccate al termine di ogni intervento assistenziale sul paziente (ad esempio, utilizzare panno monouso e disinfettante preferibilmente con cloro derivati 5000 ppm).
- Ottimizzare i bundle per la gestione e la pratica clinica dei *devices* a permanenza, ad esempio il bundle per la prevenzione delle infezioni intravascolari associate a dispositivo.

