



**Università degli Studi di Genova**

**Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche**

**Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia**

**CONTROLLO DI UN OUTBREAK DI CANDIDA  
AURIS NEL REPARTO DI TERAPIA INTENSIVA:  
ESPERIENZA DELL'OSPEDALE POLICLINICO SAN  
MARTINO A GENOVA DAL 2020 AL 2026**

**Anno Accademico 2025/2026**

CANDIDATO:  
Matteo Sasseti

RELATORE:  
Giancarlo Icardi  
CORRELATORE:  
Riccardo Ricci



<b>CAPITOLO 1: LE INFEZIONI CORRELATE ALL'ASSISTENZA (ICA)</b>	<b>5</b>
<b>Definizione e meccanismi di trasmissione</b>	<b>5</b>
Inquadramento clinico e criteri temporali	5
Vie di trasmissione	6
<b>Profilo eziologico e fattori di rischio</b>	<b>8</b>
Determinanti di suscettibilità intrinseci ed estrinseci	8
Patogeni Gram-negativi	9
Patogeni Gram-positivi e miceti	10
<b>Epidemiologia e impatto clinico-economico</b>	<b>11</b>
Dati epidemiologici globali ed economico-sanitari	11
Localizzazione anatomica: le "Big Four"	13
Sorveglianza epidemiologica europea	16
Sorveglianza epidemiologica italiana e impatto pandemico	18
<b>Linee guida e protocolli di prevenzione</b>	<b>19</b>
Programmi IPC e precauzioni assistenziali	19
Igiene delle mani: il modello "Five Moments"	21
<b>Monitoraggio e organizzazione</b>	<b>23</b>
PPS (Point Prevalence Survey)	23
Risk adjustment: lo Score di McCabe	24
Strutture e reti ospedaliere: CIO e GO-CIO	25
<b>CAPITOLO 2: L'ANTIMICROBICO-RESISTENZA (AMR)</b>	<b>27</b>
<b>Definizione di AMR</b>	<b>27</b>
<b>Meccanismi della resistenza antimicrobica</b>	<b>28</b>
Resistenza intrinseca e acquisita	28
Basi genetiche e trasmissione della resistenza	29
Meccanismi biochimici di resistenza	30
Biofilm e persistenza microbica	31
<b>Cause e diffusione dell'antimicrobico-resistenza</b>	<b>32</b>
Abuso e inappropriata della terapia antibiotica	32
Automedicazione e dinamiche territoriali/comunitarie	33
Utilizzo veterinario e zootecnico degli antibiotici	33
Pressione selettiva e diffusione intraospedaliera	34
Paradigma One Health	35
<b>Gli organismi multi-resistenti (MDRO) in ambito ospedaliero</b>	<b>35</b>
Inquadramento generale degli MDRO e impatto epidemiologico	35
Acinetobacter baumannii resistente ai carbapenemi (CRAB)	36
Klebsiella pneumoniae resistente ai carbapenemi (CRKP / CRE)	36
Pseudomonas aeruginosa resistente ai carbapenemi (CRPA)	37
Staphylococcus aureus resistente alla meticillina (MRSA)	37
Enterococchi resistenti alla vancomicina (VRE)	38
<b>Impatto clinico e sanitario dell'AMR</b>	<b>38</b>
Incremento della mortalità e severità prognostica	38
Ricoveri prolungati e dinamiche logistiche	39
Aumento dei costi sanitari	40
Riduzione delle opzioni terapeutiche e complessità nella gestione clinica	40
<b>Il Piano Nazionale di Contrasto dell'Antimicrobico-Resistenza (PNCAR 2022–2025)</b>	<b>41</b>
Inquadramento istituzionale e l'approccio One Health del piano	41
Stewardship antibiotica	42
Sorveglianza epidemiologica integrata	43
Prevenzione e Controllo delle Infezioni (IPC): dati di recepimento in Italia	44
Formazione del personale sanitario e strategie multidisciplinari	44

<b>CAPITOLO 3: CANDIDA AURIS</b>	<b>46</b>
<b>Inquadramento microbiologico e tassonomico</b>	<b>46</b>
Caratteristiche biologiche e distinzione dalle altre <i>Candida</i> spp.	46
I cinque cladi genetici e distribuzione geografica	47
<b>Storia ed emergenza epidemiologica</b>	<b>48</b>
Il primo isolamento ufficiale (2009): Tokyo	48
Le scoperte retrospettive (1996): Corea del Sud	48
La transizione epidemiologica globale (2010-2015)	49
Gli alert internazionali e la priorità sanitaria	49
<b>Epidemiologia di <i>Candida auris</i></b>	<b>50</b>
Epidemiologia globale ed europea	50
Epidemiologia in Italia e impatto del COVID-19	50
Il caso Liguria: dal caso indice all'outbreak	51
<b>Patogenesi e fattori di virulenza</b>	<b>52</b>
Formazione del biofilm e persistenza ambientale	52
Evasione immunitaria e termotolleranza	53
Fenotipi aggreganti e non aggreganti	53
<b>Correlazione clinica e fattori di rischio</b>	<b>54</b>
Determinanti di suscettibilità e profili dei pazienti a rischio	54
Diagnosi differenziale tra colonizzazione e infezione attiva	55
<b>Diagnosi microbiologica in laboratorio</b>	<b>56</b>
Metodiche biochimiche convenzionali e limiti di identificazione	56
Identificazione mediante MALDI-TOF MS	56
Diagnostica molecolare e strategie di screening rapido	57
<b>Terapia antifungina e profili di resistenza</b>	<b>58</b>
Opzioni terapeutiche e linee guida attuali	58
Meccanismi biochimici e genetici di resistenza agli antifungini	59
<b>Strategie di Prevenzione e Controllo delle Infezioni (IPC)</b>	<b>60</b>
Screening microbiologico e sorveglianza attiva dei contatti	60
Misure di isolamento e gestione del paziente colonizzato/infecto	60
Protocolli di decontaminazione ambientale e scelta dei disinfettanti	61

<b>OBIETTIVI DELLO STUDIO</b>	<b>63</b>
<b>MATERIALI E METODI</b>	<b>64</b>
Disegno dello studio e popolazione	64
Criteri di definizione di caso: infezione versus colonizzazione	65
Diagnostica microbiologica e metodiche di identificazione	66
Protocollo di screening e sorveglianza attiva in reparto	67
Misure di Infection Control e profilassi ambientale	68
Orientamenti terapeutici e gestione dei dispositivi invasivi	69
Variabili considerate e raccolta dati	70
Analisi statistica	71
<b>RISULTATI</b>	<b>72</b>
Profilo demografico, modalità di accesso e logistica intra-reparto	72
Profilo clinico, manovre invasive e co-infezioni	76
Analisi dei profili di esposizione ai dispositivi medici invasivi	77
Diagnostica microbiologica e materiali biologici	78
Approccio terapeutico ed esito clinico finale (Outcome)	79
Andamento temporale della densità di incidenza (2020-2026)	83
Analisi statistica inferenziale dei determinanti di mortalità	84
Analisi univariata dell'impatto della co-infezione da SARS-CoV-2	84
Modello di regressione logistica binomiale multivariata	85
<b>DISCUSSIONE DEI RISULTATI</b>	<b>87</b>
Analisi delle caratteristiche demografiche	87
Modalità di ospedalizzazione e distribuzione nei reparti di degenza	87
Prevalenza di intubazione e chirurgia nella coorte in esame	88
Profilo di esposizione ai dispositivi medici invasivi	88
Orientamento terapeutico e tasso di mortalità intra-ospedaliera	89
Analisi dei trend temporali e impatto dello screening molecolare	90
Interpretazione epidemiologica del sinergismo virale-fungino	93
Limiti dello studio	94
<b>CONCLUSIONI</b>	<b>95</b>
Il fenotipo di fragilità e i determinanti di rischio	95
La sinergia pandemica e l'evoluzione diagnostica	95
Efficacia dei protocolli e prospettive future	96
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>97</b>
<b>RINGRAZIAMENTI</b>	<b>99</b>

# Capitolo 1: Le Infezioni Correlate all'Assistenza (ICA)

## Definizione e meccanismi di trasmissione

### Inquadramento clinico e criteri temporali

Il concetto di infezione acquisita in ambito sanitario ha subito un'importante evoluzione. Il termine storico di "infezione nosocomiale" o "ospedaliera" è stato progressivamente superato dalla più ampia definizione di Infezione Correlata all'Assistenza (ICA). Questa transizione rispecchia il cambiamento dei modelli assistenziali: l'erogazione delle prestazioni sanitarie non è più limitata ai reparti per acuti, ma si estende a una rete complessa di contesti quali strutture di lungodegenza, residenze sanitarie assistenziali (RSA), *day-hospital*, unità di dialisi e assistenza domiciliare complessa [1].

Clinicamente, un'ICA è definita come una condizione infettiva, locale o sistemica, che insorge durante il percorso assistenziale (preventivo, diagnostico o terapeutico) e che non era presente in fase di incubazione al momento dell'ammissione in struttura [2]. Epidemiologicamente, lo spettro delle ICA non colpisce soltanto i pazienti ricoverati, ma coinvolge anche gli operatori sanitari, esposti al rischio biologico, e i visitatori [1]. I sintomi possono manifestarsi anche dopo la dimissione, purché sia dimostrato il nesso di causalità con la prestazione ricevuta [1].

La diagnosi differenziale rispetto a un'infezione comunitaria si basa su criteri standardizzati. In conformità con le linee guida dei Centers for Disease Control and Prevention (CDC), del National Healthcare Safety Network (NHSN) e dell'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), si applica il "criterio del terzo giorno" (*Day 3 criterion*), equivalente al cut-off delle 48 ore che devono intercorrere tra l'ingresso del paziente nella struttura sanitaria e la comparsa dei primi sintomi correlabili all'infezione [2,3].

Esistono tuttavia precise eccezioni a questa regola, codificate in base ai diversi periodi di incubazione e alla persistenza dei fattori di rischio. Nei casi di riammissione ospedaliera, un'infezione viene considerata ICA già al Giorno 1 o 2 se il paziente è stato dimesso da una struttura per acuti meno di 48 ore prima del nuovo ingresso. Per le infezioni del sito chirurgico, il nesso di correlazione si estende invece fino a 30 giorni dall'intervento, arrivando a 90 giorni qualora sia previsto il posizionamento di impianti o protesi. Anche per quanto riguarda le infezioni da *Clostridioides difficile* vi sono delle eccezioni temporali, in quanto rientrano in tale classificazione se si manifestano entro 28 giorni dalla dimissione, così come i processi infettivi derivanti da un dispositivo invasivo inserito nei Giorni 1 o 2 del ricovero attuale, indipendentemente dal limite formale delle 48 ore [2].

## Vie di trasmissione

La catena della trasmissione infettiva in ambiente ospedaliero richiede la concomitanza di tre elementi: una sorgente o serbatoio del patogeno, un ospite suscettibile dotato di un'ideale porta d'ingresso anatomica e una modalità di trasferimento dell'agente [4]. Le vie di propagazione si dividono classicamente in trasmissione per contatto e trasmissione attraverso l'aria; quest'ultima è stata recentemente ridefinita dagli standard internazionali per riflettere con maggiore accuratezza la dinamica dei fluidi biologici [4,5].

La trasmissione per contatto rappresenta la modalità di diffusione più comune nelle strutture sanitarie e si articola in forma diretta e indiretta [4]. La trasmissione per contatto diretto comporta un trasferimento fisico immediato di microrganismi tra una superficie corporea infetta o colonizzata e la cute o mucosa di un ospite suscettibile, in assenza di intermediari. Questo meccanismo si verifica tipicamente tramite sangue o fluidi biologici che penetrano in soluzioni di continuità della cute o membrane mucose [4]. Al contrario, la trasmissione per contatto indiretto prevede l'interposizione di un veicolo inanimato contaminato, definito *fomite*, o l'azione vettoriale passiva del personale sanitario. Si tratta del principale driver epidemiologico dei patogeni multiresistenti (MDRO), tra cui lo *Staphylococcus aureus* resistente alla meticillina (MRSA) e gli enterococchi resistenti alla vancomicina (VRE); la contaminazione si genera quando le mani degli operatori, non adeguatamente igienizzate, o i dispositivi medici condivisi fungono da vettore dopo il contatto con superfici ambientali ad alto utilizzo (*high-touch surfaces*), come sponde del letto o comodini [4].

La diffusione per via respiratoria è stata oggetto di una significativa revisione concettuale grazie al rapporto di consenso globale della World Health Organization del 2024, superando la rigida distinzione fisica basata sul diametro di 5 micrometri che separava droplet e aerosol [4,5]. Il nuovo modello introduce la definizione di particelle respiratorie infettive (*Infectious Respiratory Particles*, IRPs) per descrivere l'ampio spettro di particelle saturate di patogeni espulse dalle vie aeree mediante respirazione, fonazione, tosse o starnuto [5]. Sotto il profilo fluidodinamico, le IRPs coesistono lungo un gradiente dimensionale continuo che va dai sub-micron ai millimetri [5]. Al momento dell'espulsione, queste particelle si concentrano in una nube di gas turbolenta (*turbulent puff cloud*), un microambiente dinamico che le protegge finché la naturale riduzione del momento espiratorio non ne favorisce la dispersione nell'aria circostante [5].

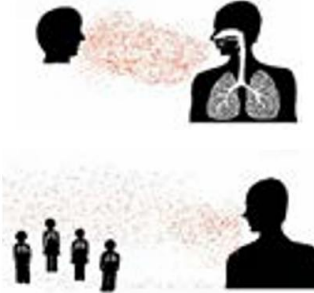


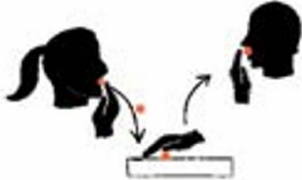
Mode of transmission	Typical distance from the source	Route of transfer to another human	Respiratory tract entry mechanism	Respiratory tract entry portal	Schematic depiction
<b>THROUGH THE AIR</b>					
Airborne transmission/inhalation	Any distance	Through the air (suspended in air or moving via air flows)	Inhalation	Anywhere along the respiratory tract	
Direct deposition	Short	Through the air (semi-ballistic trajectory)	Deposition on the mucosa	Mouth, nose or eyes*	
<b>CONTACT#</b>					
Direct contact	Short	Not through the air	Direct transfer (via touch*, usually with hands)	Mouth, nose or eyes*	
Indirect contact	Any distance	Not through the air, although IRPs may reach an intermediate object through the air	Indirect transfer (via touching an intermediate object)	Mouth, nose or eyes*	

Figura 1. Caratteristiche delle particelle respiratorie infettive e descrittori delle modalità di trasmissione [5]

In base alle traiettorie e ai comportamenti fisici delle particelle, la trasmissione attraverso l'aria si suddivide in due fenomenologie distinte, rappresentate dalla trasmissione per inalazione (*airborne transmission*) e dalla deposizione diretta (*direct deposition*) [5]. La trasmissione per inalazione si verifica quando le IRPs sospese nell'aria penetrano nel tratto respiratorio del ricevente a qualunque livello anatomico, sia a breve sia a lungo raggio, ovvero oltre la soglia dei 2 metri dalla sorgente. In questo caso, le particelle microscopiche eludono la sedimentazione immediata grazie a un rapido processo di evaporazione che ne riduce la massa, permettendone la fluttuazione per periodi prolungati e muovendosi lungo i flussi di ventilazione ospedaliera [4,5]. Al contrario, la deposizione diretta configura un meccanismo di caduta gravitazionale a corto raggio, per cui le IRPs di dimensioni e peso maggiori precipitano rapidamente entro 1-2

metri dalla sorgente, depositandosi direttamente sulle mucose congiuntivali, nasali o orali del soggetto suscettibile, sebbene tosse o starnuti violenti possano proiettarle oltre tale soglia [5].

Questo rischio biologico si amplifica nei reparti ospedalieri durante l'esecuzione di procedure che generano aerosol (*Aerosol Generating Procedures*, AGP), quali l'intubazione endotracheale, la broncoscopia o la rianimazione cardiopolmonare. Tali manovre forzano la produzione massiva di IRPs a basso diametro, aumentando la diffusibilità di agenti infettivi altrimenti a limitata propagazione aerea, come il virus SARS-CoV-2 [4,5].

Oltre alle mani del personale, la persistenza dei patogeni è favorita da serbatoi ambientali intermedi [4]. Patogeni altamente resistenti e tolleranti ai comuni disinfettanti, come *Clostridioides difficile* o *Norovirus*, possono colonizzare a lungo tavoli, maniglie e rubinetti, fungendo da sorgenti continue di contaminazione indiretta [4]. Un rischio analogo è associato a strumentazioni mediche non sottoposte a rigoroso ricondizionamento, come endoscopi, termometri e glucometri, o all'uso promiscuo di terminali informatici mobili e giocattoli in ambito pediatrico [4]. Questa complessa rete epidemiologica ha indotto a rivedere le storiche misure di distanziamento protettivo: il tradizionale raggio di sicurezza di 1 metro è considerato ampiamente insufficiente, e le attuali raccomandazioni suggeriscono l'estensione dei dispositivi di protezione facciale e respiratoria fino a una distanza compresa tra i 2 e i 3 metri dalla sorgente per mitigare sia la deposizione diretta sia l'inalazione a corto raggio [4,5].

## Profilo eziologico e fattori di rischio

### Determinanti di suscettibilità intrinseci ed estrinseci

La suscettibilità del paziente alle ICA e la gravità della prognosi dipendono dall'interazione tra variabili biologiche intrinseche e determinanti procedurali o ambientali estrinseci legati al percorso di cura [1]. I fattori di rischio intrinseci comprendono le caratteristiche fisiologiche e le comorbidità che compromettono le barriere immunitarie dell'ospite [1,6]. I dati globali dello studio EPIC III evidenziano come la broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO), il diabete mellito, l'insufficienza renale cronica e la cirrosi epatica siano indipendentemente associati a un incremento del rischio infettivo [6]. Un peso prognostico severo è legato alle patologie oncologiche: il cancro metastatico è direttamente correlato a una maggiore incidenza di infezioni nosocomiali e a un incremento della mortalità intraospedaliera [6]. Gli stati di immunodepressione, patologica o iatrogena, si confermano tra i più potenti predittori di ICA [1]. Ulteriori determinanti stabili sono l'età e il genere: l'invecchiamento si associa a una fragilità clinica che aumenta il rischio di decesso post-infettivo, mentre l'analisi demografica mostra una prevalenza lievemente superiore nei maschi, con un aOR di 1,1 [3].

I fattori di rischio estrinseci derivano invece dall'intensità delle cure, dall'invasività delle manovre e dalle caratteristiche organizzative del setting assistenziale [1]. La durata della degenza ospedaliera (*Length of Stay* - LOS) antecedente all'esordio infettivo è uno dei principali determinanti indipendenti: un ricovero prolungato tra i 15 e i 29 giorni triplica quasi il rischio di contrarre un'ICA (aOR 2,9) rispetto a degenze limitate a un arco iniziale di 1-3 giorni [3]. Questa correlazione trova la massima espressione nelle terapie intensive (ICU), ambienti caratterizzati da pazienti critici e massiva esposizione a manovre invasive [6].

La violazione delle naturali barriere anatomiche tramite dispositivi medici invasivi causa la maggior parte degli eventi infettivi nosocomiali [1]. I modelli ECDC evidenziano associazioni indipendenti robuste per il cateterismo vescicale a permanenza, associato a un aOR di 2,2 per lo sviluppo di infezioni urinarie, e per l'intubazione endotracheale con ventilazione meccanica, che mostra un aOR di 1,9 per le polmoniti [3]. I cateteri venosi centrali (CVC) permangono il principale fattore eziologico delle infezioni del flusso sanguigno (*Bloodstream Infections* - BSIs), risultando direttamente correlati al 74,4% delle BSIs primarie [3]. Questo scenario è aggravato dall'uso estensivo di antimicrobici, che esercita una forte pressione selettiva distruggendo il microbioma protettivo e favorendo l'emergenza di MDRO [1]. In Europa, il 35,5% dei pazienti riceve almeno un antibiotico in un determinato giorno di degenza, dinamica che accelera la diffusione di patogeni critici quali i ceppi di *Klebsiella* e *Acinetobacter* resistenti ai carbapenemi [3].

### Patogeni Gram-negativi

Il panorama eziologico delle ICA è caratterizzato dall'ascesa di patogeni resistenti ai farmaci di "ultima istanza". L'aggiornamento della *Bacterial Priority Pathogens List* (BPPL) pubblicato dall'OMS nel 2024 classifica i batteri Gram-negativi resistenti ai carbapenemi nel gruppo a priorità critica, a causa della severità delle infezioni, della capacità di trasmettere geni di resistenza per via orizzontale e della limitatezza delle opzioni terapeutiche residue [7].

Tra queste minacce, l'*Acinetobacter baumannii* resistente ai carbapenemi (CRAB) è associato a tassi di mortalità elevati, specialmente in terapia intensiva [7]. Nei dati europei, una quota molto alta degli isolati di *Acinetobacter baumannii* risulta resistente ai carbapenemi, con valori che in alcuni contesti superano l'80% [3], mentre in Italia i dati ISS mostrano una resistenza del 39,02% nei pazienti non COVID-19 [8], sebbene alcuni Paesi europei riportino percentuali superiori al 90% [3].

Al vertice delle priorità globali si colloca la *Klebsiella pneumoniae* resistente ai carbapenemi (CRKP) [7]. In Europa, questo microrganismo esibisce un tasso di resistenza alle cefalosporine

di terza generazione del 58,1% e un tasso medio di resistenza ai carbapenemi del 25,1% [3], parametro rispetto al quale l'Italia manifesta un dato marcatamente superiore, attestandosi al 32,8% [8].

L'*Escherichia coli* si conferma come il microrganismo più frequentemente isolato in assoluto nelle ICA europee, rappresentando il 12,7% del totale [3]. Sebbene la sua resistenza ai carbapenemi sia biologicamente bassa (1,4%), la resistenza alle cefalosporine di terza generazione — legata alla produzione di beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL) — interessa il 22,1% degli isolati in Europa [3], con valori sensibilmente superiori nel contesto italiano [8].

Completa lo scenario dei Gram-negativi lo *Pseudomonas aeruginosa* resistente ai carbapenemi (CRPA), riclassificato dall'OMS nel 2024 nella fascia a priorità alta in virtù di trend localmente decrescenti [7], ma comunque associato a un forte impatto nei reparti per acuti. La sua resistenza ai carbapenemi è del 29,7% su scala europea [3], mentre le rilevazioni nazionali lo identificano come responsabile dell'8,22% degli isolati totali in Italia [8].

#### Patogeni Gram-positivi e miceti

Tra i Gram-positivi, la pressione epidemiologica è guidata dallo *Staphylococcus aureus* resistente alla meticillina (MRSA) e dagli Enterococchi vancomicina-resistenti (VRE). Lo *Staphylococcus aureus* (MRSA) è una delle principali cause di mortalità attribuibile all'AMR nei paesi ad alto reddito [9]; in Europa, la prevalenza di isolati resistenti alla meticillina è del 23,7% [3], valore ampiamente superato in Italia, dove l'ISS documenta una prevalenza critica del 33,55% [8]. Allarmante è anche il profilo dell'*Enterococcus faecium* resistente alla vancomicina (VRE), caratterizzato da una spiccata capacità di trasmettere elementi di resistenza genica nell'ottica "One Health" [7]. In Europa, la resistenza alla vancomicina colpisce il 28,7% degli isolati di *E. faecium*, contro il 4,9% in *Enterococcus faecalis* [3], mentre l'indice italiano di resistenza ai glicopeptidi negli enterococchi si attesta complessivamente al 16,56% [8]. Il principale responsabile delle infezioni intestinali nosocomiali è il *Clostridioides difficile*, che costituisce l'8,0% di tutti i microrganismi isolati nelle ICA europee, con un'ampia variabilità interstatale che va dai picchi del 26,0% in Romania [3] al 6,9% rilevato nelle strutture sanitarie italiane [8].

Le infezioni da miceti rappresentano una quota minoritaria ma crescente delle ICA europee, pari al 5,3% degli isolamenti. La diffusione del genere *Candida* spp. copre il 4,7% dei microrganismi totali, con una prevalenza sostenuta da *Candida albicans* (2,5%) e *Candida glabrata* (0,8%) [3]. Uno scenario di massima allerta microbiologica è legato a *Candida auris*, specie emergente multi-resistente (con casi di pan-resistenza o resistenza selettiva alle

echinocandine) e incline a causare focolai epidemici ospedalieri clonali difficili da eradicare dalle superfici [7]. Nelle rilevazioni ECDC i casi segnalati sono ancora numericamente limitati, sebbene il patogeno sia considerato ad alto rischio [3].

La progressione della multi-resistenza è alimentata dall'uso intensivo di antibiotici ad ampio spettro, che in Europa rappresenta il 47,7% di tutte le prescrizioni ospedaliere [3]. Sotto il profilo prognostico, i fenotipi di multi-resistenza (MDR), resistenza estesa (XDR) e pan-resistenza (PDR) condizionano pesantemente gli esiti: la resistenza combinata a farmaci di prima linea (fluorochinoloni e beta-lattamici) è responsabile di oltre il 70% dei decessi attribuibili all'AMR su scala globale, determinando tassi di mortalità da due a tre volte superiori rispetto alle varianti sensibili [9]. Per raggruppare i patogeni a maggiore impatto clinico ed economico è stato coniato l'acronimo ESKAPE, che racchiude sei microrganismi cardine: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ed *Enterobacter* spp. [7]. In Italia, questi microrganismi costituiscono il target prioritario dei programmi di Antimicrobial Stewardship e delle macro-strategie di prevenzione e controllo delle infezioni (IPC) [1,8].

## Epidemiologia e impatto clinico-economico

### Dati epidemiologici globali ed economico-sanitari

Le ICA colpiscono su scala mondiale circa 43 milioni di ospedalizzazioni all'anno, configurandosi come l'evento avverso più frequente e severo associato alle cure sanitarie [1]. La prevalenza puntuale condotta dall'OMS evidenzia un quadro polarizzato, all'interno del quale si registrano mediamente 7 eventi infettivi su 100 pazienti ricoverati per acuti nei Paesi ad alto reddito (HICs), contro i 15 nei contesti a basso e medio reddito (LMICs) [1]. Questa asimmetria è confermata dalla revisione sistematica di Allegranzi e collaboratori, che definisce una prevalenza globale combinata del 15,5% focalizzandosi sulle indagini condotte in scenari a risorse limitate [10]. Il rischio biologico accelera nelle aree di cura intensiva, dove fino al 30% dei ricoverati sviluppa un episodio infettivo nosocomiale [1]. Nelle ICU dell'adulto, i modelli epidemiologici calcolano una densità di incidenza di 47,9 episodi per 1.000 giorni-paziente (95% CI: 36,7–59,1), un parametro triplicato rispetto agli standard del network statunitense [1,10].

Nei paesi in via di sviluppo il rischio generale risulta quantomeno raddoppiato rispetto ai Paesi industrializzati, manifestando la massima divergenza proprio nei setting intensivologici, dove l'incidenza delle ICA nei LMICs supera quella degli HICs con fattori compresi tra 2 e 20 volte [10]. Entrando nel dettaglio delle infezioni associate a dispositivi invasivi (*Device-Associated*

*Infections* - DAIs), le realtà a risorse limitate mostrano densità di incidenza da 2 a 8 volte superiori rispetto ai parametri del sistema nordamericano NNIS/NHSN [10]. Si registrano inoltre picchi fino a 19 volte superiori per le batteriemie associate a catetere vascolare (CR-BSIs) e fino a 16 volte superiori per le polmoniti associate a ventilazione meccanica (VAP) [10].

Mentre nei Paesi occidentali la topografia delle infezioni è dominata dalle forme respiratorie e urinarie, nei paesi LMICs le infezioni del sito chirurgico (SSI) sono l'evento più frequente in assoluto, con un'incidenza cumulativa pooled del 5,6% per 100 procedure [10]. Questo scenario colpisce gravemente la popolazione neonatale delle ICU dei paesi LMICs, dove il rischio infettivo è da 3 a 20 volte più elevato rispetto ai paesi industrializzati, con densità d'infezione che oscillano da 6,9 nei centri statunitensi fino a 62,0 eventi per 1000 giorni-paziente nelle aree a minor disponibilità di risorse preventive [1,10].

L'impatto in termini di mortalità e anni di vita persi assume proporzioni critiche quando la sovrainfezione è sostenuta da microrganismi resistenti (*Antimicrobial Resistance* - AMR) [1,9]. I dati globali dello studio GRAM (*Global Burden of Bacterial AMR*) stimano che nel 2019 si siano verificati 4,95 milioni di decessi associati a resistenza batterica, di cui 1,27 milioni direttamente causati dall'antibiotico-resistenza [9]. Cinque dei sei principali patogeni isolati in questo cluster, tra cui *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*, sono specie strettamente correlate all'ambiente e alle procedure sanitarie [9]. Lo studio GRAM evidenzia come il carico letale dell'AMR e delle ICA si concentri sulle macro-regioni più vulnerabili: l'Africa sub-sahariana occidentale registra il tasso di mortalità più elevato al mondo, con 27,3 decessi per 100.000 abitanti direttamente attribuibili alla resistenza e 114,8 associati ad essa, seguita dall'Asia meridionale, dove l'eccesso di mortalità è alimentato dalla carenza di laboratori di microbiologia clinica per guidare la terapia mirata [9]. Al contrario, l'Australasia registra l'indice d'impatto più basso mondiale, pari a 6,5 decessi per 100.000 abitanti attribuibili [9].

Le ICA determinano un rilevante impatto economico sui sistemi sanitari. Secondo le analisi economiche di OCSE e OMS, la gestione di un singolo paziente ospedalizzato con infezione da patogeni resistenti comporta un sovraccosto diretto stimato tra i 10.000 e i 40.000 USD [1,11]. L'aumento è guidato dalla necessità di antibiotici di linea successiva; nei protocolli complessi, come per la tubercolosi, i regimi di seconda e terza linea costano rispettivamente 3 e 18 volte di più rispetto ai farmaci di prima scelta [1]. A livello macroeconomico si sommano i costi indiretti legati alla perdita di produttività e all'assistenza informale, quantificati in circa 38.000 USD per paziente nei paesi ad alto reddito [1]. In assenza di programmi strutturati di controllo,

le sole complicanze da resistenza antimicrobica costerebbero ai sistemi sanitari globali fino a 3,5 miliardi di USD all'anno [1,11]. Al contrario, la letteratura documenta l'elevata costo-efficacia della prevenzione. Il solo miglioramento dell'aderenza all'igiene delle mani genera un ritorno sull'investimento stimato in 16,50 USD risparmiati per ogni dollaro speso [1]. In generale, ogni investimento nelle pratiche di controllo produce un ritorno economico pari a 7 volte la spesa iniziale [1].

#### Localizzazione anatomica: le "Big Four"

La mappatura epidemiologica dei siti anatomici colpiti orienta i protocolli di sorveglianza e ottimizza l'allocazione delle risorse di sanità pubblica. Nel contesto ospedaliero europeo (UE/SEE), i dati della sorveglianza indicano che circa 4,3 milioni di pazienti acquisiscono annualmente almeno un'ICA durante la degenza per acuti, con una prevalenza corretta dell'8% [3]. La prevalenza delle ICA evidenzia la costante predominanza di quattro quadri clinici principali, definiti le "Big Four" [3]. L'analisi comparativa dei dati rivela che le polmoniti e le infezioni delle basse vie respiratorie si attestano al primo posto per frequenza, rappresentando il 29,3% del totale delle infezioni segnalate; seguono le infezioni del tratto urinario con il 19,2%, le infezioni del sito chirurgico con il 16,1% e, infine, le infezioni del flusso sanguigno, che costituiscono l'11,9% della casistica complessiva [3]. Questo panorama impone un approccio preventivo mirato alle specifiche peculiarità patogenetiche di ciascun distretto [1,3].

*Tabella 1: Siti epidemiologici più frequenti di ICA con indicazione dei "Big Four"*

<b>Tipo di ICA</b>	<b>Frequenza relativa %</b>
Tutti i tipi di ICA	100
Polmonite e infezioni delle basse vie respiratorie (incl. COVID-19)	29,3
Polmonite	19
COVID-19	7
Altre infezioni delle basse vie respiratorie	3,3
Infezione del sito chirurgico	16,1
Infezione del tratto urinario	19,2
Infezione del flusso sanguigno	11,9
Infezione del sistema gastrointestinale	9,5
Infezione da Clostridioides difficile	5,9
Altre infezioni del sistema gastrointestinale	4,6
Infezione sistemica	4,2
Infezione grave trattata non identificata in adulti e bambini	2,7
Sepsi clinica nei neonati	0,5
Altra infezione sistemica	1
Infezione della cute e dei tessuti molli	3,7
Altri tipi di ICA	6,1
Infezione ossea e articolare	1,3
Infezione correlata a catetere senza infezione del flusso sanguigno	0,9
Infezione del sistema cardiovascolare	0,8
Infezione del sistema nervoso centrale	0,6
Infezione di occhio, orecchio, naso, gola o bocca (EENT)	1,9
Infezione del tratto riproduttivo	0,4
Altra ICA o non specificata	0,2

*Fonte: Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals, 2022-2023 [3]*

Le polmoniti e le infezioni delle basse vie respiratorie comprendono le affezioni del parenchima polmonare e i processi infiammatori dell'albero tracheobronchiale, incluse le forme di COVID-19 di origine nosocomiale [3]. Nelle aree di cura critica, la genesi di queste patologie è strettamente connessa alle manovre invasive; nello specifico, il 31,5% risponde ai criteri di polmonite associata a ventilazione meccanica (*Ventilator-Associated Pneumonia* - VAP), insorgendo in pazienti sottoposti a intubazione endotracheale nelle 48 ore precedenti l'esordio dei sintomi [3]. L'impatto prognostico è severo: l'instabilità emodinamica che richiede l'infusione di vasopressori — indicatore di progressione verso lo shock settico — si riscontra nel 14,3% dei casi generali e nel 23,4% delle forme microbiologicamente documentate [3]. La mortalità grezza in eccesso per le sole forme di VAP in terapia intensiva è stimata al 29,3% [3]. Sotto il profilo del carico epidemiologico globale, lo studio di Cassini e collaboratori rileva che il peso biologico espresso in anni di vita persi per disabilità o morte prematura (*Disability-Adjusted Life Years* - DALYs) per le sei principali ICA è pari al doppio rispetto a quello generato da altre 32 malattie infettive combinate, con un'incidenza annuale stimata nell'area UE/SEE di circa 639.674 casi di polmonite nosocomiale [12].

Le infezioni del tratto urinario (UTI) colpiscono ogni anno circa l'1,15% dei pazienti ospedalizzati, per un totale stimato di 769.336 casi annui nell'area UE/SEE [3]. La patogenesi mostra una correlazione stringente con i dispositivi invasivi: il 61,9% viene infatti classificato come infezione associata a catetere (*Catheter-Associated Urinary Tract Infection* - CAUTI), manifestandosi in soggetti che hanno mantenuto un catetere vescicale nei 7 giorni antecedenti l'esordio clinico [3]. Il catetere rappresenta il principale fattore di rischio indipendente a causa della rapida formazione di biofilm batterici lungo la superficie interna ed esterna del presidio, minando le difese locali dell'ospite e favorendo la risalita dei microrganismi verso le alte vie urinarie [1,3].

Al terzo posto si collocano le infezioni del sito chirurgico (SSI), definite cronologicamente come gli eventi che insorgono entro 30 giorni dall'intervento, o entro 90 giorni in caso di impianto di dispositivi protesici o biomateriali [3]. Sotto l'aspetto anatomico-patologico, si dividono in forme superficiali (23,9% della casistica), incisionali profonde e d'organo o di spazio [3]. L'incidenza risente della classe di contaminazione dell'intervento, attestandosi attorno al 2,9% nel parto cesareo e oscillando tra lo 0,7% e l'1,0% nella chirurgia protesica elettiva dell'anca o del ginocchio [3]. Un dato di rilievo indica che le SSI costituiscono la tipologia di ICA più frequentemente riscontrata già al momento dell'ammissione in struttura, rappresentando il 25,7% delle infezioni preesistenti al ricovero; tale fenomeno descrive una

dinamica in cui l'infezione si manifesta nel post-dimissione a seguito di una procedura eseguita durante una precedente ospedalizzazione [3].

Le infezioni del flusso sanguigno (BSI) costituiscono l'ultima macro-categoria delle "Big Four", ma presentano il profilo di maggiore gravità clinica e il peggior impatto prognostico per via del rischio di disseminazione sistemica e shock settico [3,12]. Sotto il profilo eziopatogenetico, si distinguono in primarie e secondarie [3]. Le forme primarie includono le infezioni correlate a catetere vascolare centrale (*Central Line-Associated Bloodstream Infections* - CLABSI), associate all'uso di un dispositivo endovascolare nel 74,4% dei casi; estendendo l'analisi, il 36,7% di tutte le BSI ospedaliere è riconducibile a un catetere, suddiviso tra un 28,4% causato da cateteri venosi centrali e un 8,3% derivante da linee periferiche [3]. Al contrario, le BSI secondarie rappresentano il 32,4% del totale e si sviluppano a partire da un focolaio infettivo preesistente, identificabile principalmente nel tratto urinario (10,9%), digerente (5,4%), polmonare (4,6%) o nel sito chirurgico (4,1%) [3]. La severità delle BSI è documentata dalla necessità di supporto vasopressorio nel 14,9% dei pazienti [3]. Lo studio di Cassini e collaboratori stima per le BSI correlate a catetere venoso nei pazienti adulti in ICU una mortalità grezza in eccesso del 23,6%, a fronte di un'incidenza annuale complessiva di circa 357.531 casi nell'area UE/SEE [3,12].

### Sorveglianza epidemiologica europea

I dati raccolti nel terzo Point Prevalence Survey (PPS) coordinato dall'ECDC rivelano che la prevalenza grezza di pazienti con almeno un'infezione nosocomiale nell'Unione Europea e nello Spazio Economico Europeo (UE/SEE) si attesta al 7,1% [3]. La ponderazione statistica basata sul numero medio giornaliero di letti occupati riduce la prevalenza pesata delle ICA al 6,3% (95% CI: 5,3%–7,4%) [3]. Introducendo modelli di correzione basati sugli studi di validazione nazionali per compensare falsi positivi e negativi, la prevalenza reale stimata sale all'8,0% (95% CI: 6,6%–9,6%) [3]. Questo carico determina una presenza giornaliera costante di circa 93.305 pazienti (95% CI: 76.427–111.899) affetti da complicanze infettive negli ospedali per acuti dell'area UE/SEE [3]. Su base annua, il fenomeno coinvolge circa 4,3 milioni di singoli pazienti (95% CI: 3,1–5,8 milioni), generando un volume complessivo stimato in 4,8 milioni di episodi infettivi distinti [3].

Questo scenario si inserisce in un contesto assistenziale caratterizzato da un utilizzo diffuso di antimicrobici, che alimenta la pressione selettiva [3]. La prevalenza di pazienti che ricevono almeno un farmaco antimicrobico in un determinato giorno di degenza è del 35,5% [3]. Il dato, ricalcolato tramite la ponderazione per i posti letto occupati e corretto per gli studi di validazione, si attesta al 33,7% (95% CI: 29,7%–37,7%), evidenziando che in un qualsiasi

giorno dell'anno vi sono circa 390.957 pazienti sottoposti a terapia antibiotica nelle strutture per acuti europee [3]. La sorveglianza ECDC mostra una correlazione statistica diretta tra l'estensione dell'uso di antimicrobici e l'indice composito di resistenza, confermando che le nazioni con politiche di stewardship più restrittive presentano tassi inferiori di patogeni resistenti [3]. Preoccupa la deriva qualitativa delle prescrizioni: la percentuale di antibiotici ad ampio spettro sul totale dei farmaci somministrati è passata dal 41,3% del PPS 2016-2017 al 47,7% del periodo 2022-2023 [3].

L'impatto clinico si traduce in elevati tassi di mortalità e disabilità [12]. I modelli basati sulla rete EARS-Net stimano che le infezioni da batteri resistenti causino annualmente 33.110 decessi (95% UI: 28.480–38.430) direttamente attribuibili all'insuccesso terapeutico o alle complicanze sistemiche [12]. Il carico globale di malattia è quantificato in 874.541 anni di vita persi per disabilità o mortalità prematura (DALYs), pari a un tasso standardizzato di 170 DALYs per 100.000 abitanti (95% UI: 150–192) [12]. Circa il 75% di questo carico biologico è associato al setting ospedaliero, con una distribuzione geografica asimmetrica che penalizza l'Europa meridionale: Italia e Grecia registrano i tassi di DALYs e di mortalità più elevati del continente, a causa della vasta prevalenza endemica di enterobatteriacee resistenti ai carbapenemi o alla colistina [12].

La prevalenza delle ICA varia in funzione della complessità strutturale dell'istituto e della collocazione geografica [3]. Si osserva un incremento lineare della prevalenza mediana in concomitanza con l'innalzamento del livello di specializzazione della struttura: gli ospedali terziari registrano l'indice più elevato (7,7%; IQR: 5,2%–10,6%), seguiti dai secondari (5,9%; IQR: 3,4%–9,5%), dalle strutture primarie (4,4%; IQR: 1,9%–8,0%) e dagli istituti monospécialistici (4,1%; IQR: 1,3%–7,9%) [3]. Il dato è confermato dal volume dei posti letto: la prevalenza mediana sale dal 4,6% nei centri con meno di 200 letti al 7,1% nelle macrostrutture con 650 o più letti, casistica clinica più complessa [3]. A livello geografico, i valori oscillano dal minimo del 3,0% (95% CI: 1,5%–6,1%) in Lettonia al massimo del 13,8% (95% CI: 8,3%–22,1%) a Cipro [3]. L'ECDC sottolinea tuttavia un bias metodologico: quasi la metà di questa variabilità è spiegata dalla differente propensione all'esecuzione di test microbiologici tra i diversi paesi [3]. I sistemi sanitari con minor ricorso alla diagnostica mostrano tassi artificialmente inferiori di ICA per difetto di rilevazione, celando parzialmente un carico epidemiologico che permane elevato soprattutto nei quadranti meridionali ed orientali del continente [3].

## Sorveglianza epidemiologica italiana e impatto pandemico

I risultati del PPS3 del 2022 delineano un quadro di spiccata gravità per l'Italia, con una penetrazione del fenomeno superiore alla media europea [3,8]. La prevalenza media ponderata di soggetti con almeno un'infezione nosocomiale all'interno dei singoli istituti si attesta all'8,80% (95% CI: 8,78%–8,82%), mentre l'indice di prevalenza media calcolato sul volume complessivo dei pazienti inclusi raggiunge il 10,20% [8]. Nel confronto transnazionale, questo posizionamento colloca l'Italia nettamente al di sopra della linea mediana europea, ferma al 6,3% (pesata) e all'8,0% dopo i modelli di correzione [8].

L'analisi delle 6.340 singole infezioni registrate in Italia nel 2022 mostra una gerarchia condizionata dagli strascichi della pandemia: le infezioni del basso tratto respiratorio occupano il primo posto (19,18% del totale), seguite dalle infezioni del flusso sanguigno (BSI) con il 18,83%, dalle infezioni delle vie urinarie (UTI) con il 17,09%, dai quadri di COVID-19 nosocomiale con il 16,23% e dalle infezioni del sito chirurgico (SSI) con il 10,53% [8].

L'esposizione a presidi medici si conferma il principale fattore di rischio per l'insorgenza di ICA in Italia [8]. I dati dell'ISS documentano che il 60,30% della popolazione esaminata era portatrice di almeno un dispositivo medico invasivo nel giorno della rilevazione [8]. La stratificazione del rischio mostra un incremento esponenziale dei tassi di prevalenza all'aumentare dell'invasività della manovra: i pazienti non esposti presentano un tasso di infezione basale del 5,19% [8]. Nei soggetti con catetere urinario (34,60% della popolazione totale), la prevalenza delle ICA sale al 16,60% [8]. Nei portatori di catetere vascolare centrale (CVC, 15,20% dei casi), l'indice raggiunge il 23,98%, mentre nei soggetti sottoposti a ventilazione meccanica (4,00% dei pazienti), la prevalenza di complicanze infettive schizza al 33,43% [8].

Il vertice della criticità epidemiologica viene raggiunto nelle unità di terapia intensiva (ICU), come documentato dai dati longitudinali del network SPIN-UTI [13]. Esaminando l'andamento delle ICA nelle rianimazioni italiane tra il 2006 e il 2021 su una casistica di 21.523 pazienti, emerge che il 16,2% dei soggetti ammessi (3.485 pazienti) ha sviluppato almeno un episodio infettivo correlato all'assistenza, con un trend di crescita statistica significativo sia per quota di pazienti infetti sia per densità di incidenza cumulativa ( $p$ -trend < 0,001) [13]. In questo trend storico, il biennio pandemico 2020-2021 ha fatto registrare un picco: la densità di incidenza generale delle ICA in ICU è aumentata del 14,8% rispetto al valore medio del periodo pre-pandemico 2006-2019 [13]. Le polmoniti nosocomiali hanno mostrato un incremento della densità d'incidenza del 18,2%, mentre le infezioni correlate a catetere vascolare (CRI) hanno registrato un aumento del 76,3% [13].

La mortalità generale in rianimazione è più che raddoppiata, passando dal 17,7% del biennio 2006-2007 al picco del 42,3% nel 2020-2021 ( $p$ -trend < 0,001) [13]. La sinergia biologica tra l'insulto virale da SARS-CoV-2 e le sovrainfezioni batteriche opportunistiche ha generato esiti infausti: la mortalità tra i pazienti con co-infezione (COVID-19 + ICA) ha raggiunto il 75,2%, contro il 66,2% dei soggetti con solo COVID-19, il 39,9% dei pazienti con singola ICA e il 23,2% della coorte di controllo [13]. I modelli evidenziano che i pazienti affetti da COVID-19 in ICU hanno mostrato un rischio di sviluppare un'infezione nosocomiale 1,6 volte superiore e un rischio relativo di decesso 2,6 volte maggiore rispetto alla popolazione non COVID-19 ospedalizzata nei medesimi contesti [13]. Questo quadro clinico generale è associato ad un significativo peggioramento della prognosi: nei casi di sepsi correlata all'assistenza, la mortalità attribuibile raggiunge il 24,4%, con un picco del 52,3% nei reparti di terapia intensiva [1]. L'antibiotico-resistenza amplifica la letalità, che aumenta da due a tre volte nei ceppi multi-resistenti rispetto a quelli sensibili [1]. L'insorgenza di un'ICA prolunga inoltre la degenza ospedaliera, portandola da una mediana pre-infezione di 12 giorni a una media complessiva di 27,2 giorni, riducendo l'efficienza organizzativa dei posti letto [1].

## Linee guida e protocolli di prevenzione

### Programmi IPC e precauzioni assistenziali

I programmi di *Infection Prevention and Control* (IPC) si configurano come una disciplina clinico-assistenziale basata sulle evidenze scientifiche, il cui obiettivo risiede nella tutela di pazienti e operatori nei confronti delle infezioni prevenibili, incluse quelle sostenute da ceppi resistenti [1]. Per strutturare un'efficace governance del rischio infettivo all'interno degli ospedali per acuti, l'OMS ha codificato otto componenti core (*Core Components*) imprescindibili. Questa architettura prevede la costituzione di team dedicati alla sorveglianza epidemiologica, l'emanazione di linee guida adattate al contesto clinico locale e l'erogazione di programmi di formazione continua per l'intero corpo professionale [1]. Sotto il profilo operativo, l'applicazione delle strategie multimodali (*Multimodal Infection Prevention and Control Improvement Strategies* - MMIS) rappresenta il gold standard metodologico per modificare stabilmente i comportamenti individuali, integrando la sorveglianza attiva delle ICA con sistemi di monitoraggio e audit regolari finalizzati alla restituzione di feedback al personale [1]. Una corretta prevenzione include inoltre la gestione ottimale delle risorse strutturali, focalizzandosi sul controllo del carico di lavoro e dell'occupazione dei posti letto per prevenire il sovraffollamento, unitamente al mantenimento di idonee infrastrutture igienico-sanitarie (Water, Sanitation and Hygiene - WASH) e alla costante disponibilità di dispositivi di protezione [1].

La gestione e il contenimento dei focolai epidemici ospedalieri (*outbreak*) richiedono l'attivazione di un quadro operativo articolato dall'OMS in quattro fasi distinte [1]. La prima fase è la *preparedness* (preparazione), collocata da 6 a 24 mesi prima di una potenziale minaccia biologica, periodo in cui si pongono le basi strutturali dell'IPC e si identifica il comitato di crisi [1]. Nei 6 mesi immediatamente precedenti la minaccia si attiva la fase di *readiness* (prontezza), mirata all'adattamento dinamico degli strumenti di controllo e all'addestramento del personale [1]. L'insorgenza vera e propria dell'*outbreak* determina l'avvio della fase di *response* (risposta), caratterizzata da misure emergenziali basate sul contesto specifico e da un monitoraggio serrato per intercettare i nuovi casi [1]. Il ciclo si conclude con la fase di revisione, incentrata sulla conduzione di analisi post-azione (*after-action reviews*) per l'ottimizzazione continua dei protocolli aziendali [1].

Le precauzioni standard costituiscono il livello basale delle misure di controllo, obbligatorio nell'assistenza di ogni paziente a prescindere dallo stato infettivo presunto o confermato [1]. I pilastri comprendono l'igiene delle mani e l'impiego appropriato dei Dispositivi di Protezione Individuale (DPI) come barriere fisiche, quali guanti, camici, mascherine chirurgiche, schermi oculari e respiratori facciali [1]. A queste si associano i protocolli di decontaminazione e sterilizzazione dei dispositivi medici, la sanificazione sistematica delle superfici ambientali, la sicurezza delle procedure iniettive e la corretta gestione dei rifiuti sanitari infetti [1].

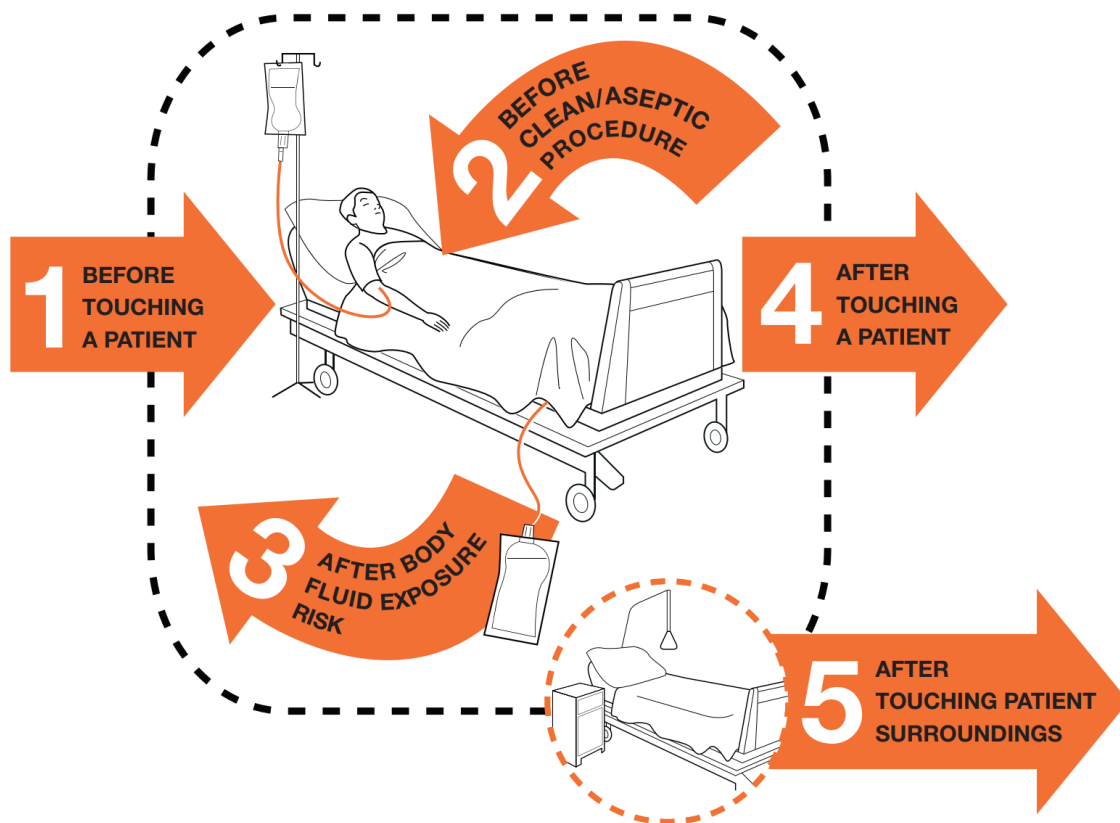
Le precauzioni basate sulla trasmissione sono interventi addizionali da implementare tempestivamente in caso di sospetto o conferma di infezioni sostenute da patogeni con specifiche vie di diffusione [1]. Le precauzioni da contatto, indicate per microrganismi a trasmissione diretta o indiretta come gli MDRO, prevedono l'allocazione prioritaria del paziente in stanza singola con servizi dedicati e l'obbligo di indossare guanti e camice monouso prima dell'accesso all'unità del paziente [1]. Le precauzioni da goccioline (*droplet precautions*) si applicano per patogeni veicolati da secrezioni respiratorie di macro-dimensioni, incapaci di fluttuare a lungo e confinate entro distanze inferiori al metro; questo regime impone il distanziamento fisico, il triage con isolamento temporaneo e l'utilizzo della mascherina chirurgica entro un raggio di 1-2 metri dal soggetto infetto [1]. Infine, le precauzioni per via aerea (*airborne precautions*) sono necessarie per patogeni microscopici che rimangono sospesi nel flusso aereo e coprono lunghe distanze; esse esigono il ricovero in Stanze di Isolamento per Infezioni Trasmesse per Via Aerea (AIIR) con ventilazione a pressione negativa e l'obbligo per gli operatori di indossare respiratori ad alta efficienza (N95, FFP2 o FFP3) ben aderenti al volto [1].

La disponibilità di stanze singole rappresenta un indicatore fondamentale della capacità di risposta strutturale. In Europa (UE/SEE), la percentuale mediana di posti letto in stanza singola si attesta all'11,3% [3], valore che condiziona l'applicazione routinaria di questa misura, fortemente raccomandata dalle linee guida internazionali soprattutto per il confinamento di pazienti con Enterobacterales resistenti ai carbapenemi [3]. Se l'isolamento singolo non è strutturalmente possibile, si ricorre all'isolamento per coorte (*cohorting*), raggruppando i pazienti affetti dal medesimo patogeno in un'area clinica rigorosamente perimetrata; questa opzione richiede la destinazione esclusiva di personale dedicato e l'impiego di attrezzature separate per azzerare il rischio di trasmissione crociata verso altri settori [1].

### Igiene delle mani: il modello "Five Moments"

L'igiene delle mani è la singola misura preventiva più efficace ed economica per abbattere la trasmissione crociata di microrganismi in ambito nosocomiale, costituendo il pilastro per il contenimento delle ICA e il contrasto all'AMR [1]. Le evidenze indicano che un'applicazione rigorosa della pratica, associata a un'efficace sanificazione ambientale, riduce di oltre la metà il rischio di decesso secondario a infezioni da patogeni resistenti, determinando una contrazione del 40% del carico sanitario complessivo [1].

Per ottimizzare l'aderenza del personale, l'OMS ha codificato il modello dei "Cinque Momenti" (*Five Moments for Hand Hygiene*), un'architettura che identifica i punti critici del flusso assistenziale in cui l'esecuzione dell'igiene delle mani è tassativa [1]. Il primo momento prevede il lavaggio prima del contatto con il paziente, per proteggere il soggetto dalle coorti microbiche transitorie ospitate sulle mani dell'operatore. Il secondo momento si colloca prima di una manovra asettica, intervento cruciale per prevenire l'introduzione di patogeni in siti anatomici normalmente sterili, come nella gestione di cateteri vascolari, urinari o medicazioni chirurgiche. Il terzo momento scatta dopo il rischio di esposizione a un liquido biologico, a tutela della sicurezza dell'operatore e dell'ambiente, rimanendo obbligatorio anche dopo la rimozione dei guanti. Il quarto momento è previsto dopo il contatto con il paziente, per bonificare la cute dell'operatore prima di passare ad attività cliniche successive. Il quinto e ultimo momento impone l'igiene dopo il contatto con ciò che circonda il paziente, precauzione estesa a tutti gli oggetti inanimati nelle immediate vicinanze assistenziali, quali lenzuola, sponde e comodini, a prescindere dal contatto diretto con il paziente [1].



<b>1</b>	<b>BEFORE TOUCHING A PATIENT</b>	<b>WHEN?</b>	Clean your hands before touching a patient when approaching him/her.
		<b>WHY?</b>	To protect the patient against harmful germs carried on your hands.
<b>2</b>	<b>BEFORE CLEAN/ASEPTIC PROCEDURE</b>	<b>WHEN?</b>	Clean your hands immediately before performing a clean/aseptic procedure.
		<b>WHY?</b>	To protect the patient against harmful germs, including the patient's own, from entering his/her body.
<b>3</b>	<b>AFTER BODY FLUID EXPOSURE RISK</b>	<b>WHEN?</b>	Clean your hands immediately after an exposure risk to body fluids (and after glove removal).
		<b>WHY?</b>	To protect yourself and the health-care environment from harmful patient germs.
<b>4</b>	<b>AFTER TOUCHING A PATIENT</b>	<b>WHEN?</b>	Clean your hands after touching a patient and her/his immediate surroundings, when leaving the patient's side.
		<b>WHY?</b>	To protect yourself and the health-care environment from harmful patient germs.
<b>5</b>	<b>AFTER TOUCHING PATIENT SURROUNDINGS</b>	<b>WHEN?</b>	Clean your hands after touching any object or furniture in the patient's immediate surroundings, when leaving – even if the patient has not been touched.
		<b>WHY?</b>	To protect yourself and the health-care environment from harmful patient germs.

Figura 2: I cinque momenti dell'igiene delle mani secondo l'OMS [14]

I dati della terza indagine di prevalenza (PPS3) dell'ISS forniscono uno spaccato sulle risorse strutturali e sull'aderenza negli ospedali italiani per acuti [8]. Su 325 presidi e oltre 60.000 pazienti, la disponibilità media di dispenser di soluzione idroalcolica posizionati direttamente al punto di cura (*point of care*) si attesta al 37,19%, con un valore mediano del 27,33% e un ampio intervallo interquartile compreso tra il 2,30% e il 53,94% [8]. Questo indicatore evidenzia una marcata eterogeneità su base regionale, con coperture inferiori al 10% in alcuni territori a fronte di realtà regionali virtuose che superano il 90% [8].

L'analisi mostra comunque un forte orientamento formale verso le direttive internazionali: il 94,00% delle strutture ospedaliere italiane adotta strategie multimodali strutturate per promuovere i programmi IPC, e le attività di formazione del personale sono implementate nel 97,92% degli ospedali partecipanti [8]. Questo sforzo si integra in una pianificazione aziendale

che vede il 79,93% dei presidi dotato di un piano annuale IPC ratificato dalla Direzione Sanitaria o Generale, e il 75,27% impegnato nella redazione di un rapporto consuntivo annuale [8]. L'inclusione dell'igiene delle mani tra i principali indicatori chiave di performance (KPI) rispecchia un trend europeo: nei 14 paesi monitorati che includono l'Italia, la percentuale di nazioni che hanno elevato il monitoraggio dell'aderenza a indicatore prioritario e vincolante nelle politiche sanitarie nazionali è passata dal 28,6% nel 2017 al 64,3% nel 2022 [8]. Nonostante la solidità del quadro programmatico, la reale disponibilità dei prodotti a base alcolica al letto del paziente rimane l'area di maggiore criticità strutturale [1,8].

## Monitoraggio e organizzazione

### PPS (Point Prevalence Survey)

L'indagine di prevalenza puntuale rappresenta lo standard epidemiologico europeo per il monitoraggio delle infezioni correlate all'assistenza (ICA) e del consumo di molecole antimicrobiche negli ospedali per acuti. Questo strumento, standardizzato e coordinato a livello continentale dall'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), viene recepito e implementato periodicamente sul territorio nazionale sotto la guida dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) [3,8]. La sorveglianza epidemiologica istituzionale delle ICA in Italia è coordinata dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) tramite il Dipartimento di Malattie Infettive, in collaborazione con l'Università degli Studi di Torino [8]. Il monitoraggio nazionale ha trovato espressione nella terza indagine nazionale di prevalenza puntuale (PPS3), condotta a novembre 2022 su un network di 325 strutture ospedaliere in 19 Regioni e Province Autonome, raccogliendo i dati di 60.404 pazienti [8]. Per garantire l'armonizzazione con i requisiti ECDC, l'Italia ha estrapolato un sotto-campione rappresentativo di 59 istituti comprendente 25.890 pazienti destinato al confronto europeo [3,8].

L'indagine stima il carico totale espresso dalla prevalenza delle ICA e dell'utilizzo di antimicrobici, mappando i siti anatomici di infezione, i microrganismi isolati con i relativi marker di resistenza fenotipica e le indicazioni prescrittive per tipologia di paziente e specialità medica [8]. Il disegno dello studio si configura come un'indagine trasversale di tipo *cross-sectional*, condotta entro una definita finestra temporale, come avvenuto nel mese di novembre 2022 in occasione della rilevazione nazionale denominata PPS3 [8]. La raccolta dei dati avviene a campione sul singolo reparto in un'unica giornata, prevedendo il completamento del monitoraggio dell'intera struttura ospedaliera entro un arco massimo di tre settimane [8].

I criteri di inclusione prevedono il censimento di tutti i pazienti ammessi nel reparto prima delle ore 8:00 del giorno stabilito per la sorveglianza e non ancora dimessi al momento della

rilevazione [8]. Sono esclusi dal computo statistico i pazienti in regime di day-hospital o sottoposti a chirurgia ambulatoriale, i soggetti presenti in pronto soccorso e i pazienti esterni che afferiscono alla struttura esclusivamente per il servizio di dialisi [8]. Al fine di rilevare la prevalenza reale, lo strumento identifica come caso di ICA qualsiasi processo infettivo che non si manifestava clinicamente e non si trovava in fase di incubazione al momento dell'ammissione, applicando gli algoritmi diagnostici standardizzati dell'ECDC [3,8]. Nel protocollo PPS3 è stata inoltre introdotta la registrazione specifica per il virus SARS-CoV-2, eseguita anche in assenza di sintomi clinici manifesti qualora la positività sia documentata nel giorno esatto dello studio [8].

Parallelamente, il monitoraggio dell'uso di antibiotici rileva ogni trattamento in corso al momento della sorveglianza. Il protocollo impone di specificare la molecola somministrata mediante la codifica internazionale ATC, la via di somministrazione — che nella casistica del PPS3 si è dimostrata prevalentemente parenterale nell'86,77% dei casi —, l'indicazione d'uso tra terapia e profilassi, e la motivazione clinica del trattamento, che deve risultare esplicitamente documentata nella cartella clinica del paziente [8]. Infine, lo studio permette l'identificazione e la pesatura dei fattori di rischio individuali attraverso la rilevazione dell'esposizione del soggetto a dispositivi medici invasivi nelle 48 ore precedenti l'esordio infettivo, focalizzandosi su catetere urinario, cateteri vascolari centrali e intubazione endotracheale [3,8].

#### Risk adjustment: lo Score di McCabe

Per standardizzare la valutazione della gravità clinica e pesare l'impatto prognostico delle patologie concomitanti in modo indipendente dall'infezione acuta, i protocolli di sorveglianza descritti integrano i parametri individuali mediante lo Score di McCabe [3,8]. Questo strumento stratifica i pazienti in tre distinte categorie prognostiche regolate da precisi criteri temporali [3].

La classe delle patologie non fatali (*non-fatal*) comprende i pazienti con aspettativa di vita normale o alterata da affezioni che non conducono al decesso nel breve o medio termine, mostrando una sopravvivenza attesa superiore ai 5 anni [3]. La categoria delle patologie ultimamente fatali (*ultimately fatal*) definisce invece malattie croniche o degenerative avanzate e neoplasie non in fase terminale, per le quali l'esito infausto è prevedibile entro un arco temporale compreso tra i 4 giorni e i 5 anni [3]. Infine, la classe delle patologie rapidamente fatali (*rapidly fatal*) individua i pazienti in imminente pericolo di vita, affetti da condizioni critiche acute o terminali — come lo shock settico non rispondente o il coma profondo con Glasgow Coma Scale pari a 3 — il cui decesso è atteso entro un limite di 4 giorni [3].

L'applicazione dello Score di McCabe è fondamentale per l'aggiustamento del rischio (*risk adjustment*) nelle indagini epidemiologiche, consentendo di discernere se la mortalità osservata sia imputabile direttamente all'evento infettivo o alla gravità della patologia preesistente [3]. Questo punteggio permette di standardizzare i dati grezzi raccolti nei Point Prevalence Survey, ad esempio tramite il computo del Rapporto di Infezione Standardizzato (*Standardised Infection Ratio - SIR*), neutralizzando in questo modo le distorsioni causate dalle disomogeneità cliniche dei pazienti valutati nei diversi centri territoriali [3].

#### Strutture e reti ospedaliere: CIO e GO-CIO

L'organizzazione ospedaliera deputata alla prevenzione delle complicanze infettive si fonda su una struttura multidisciplinare finalizzata a integrare le decisioni strategiche di direzione con l'esecuzione operativa sul campo assistenziale [1,15]. Il monitoraggio clinico dei reparti a massima intensità di cura è affidato a reti specialistiche come il network SPIN-UTI (*Italian Nosocomial Infections Surveillance in Intensive Care Units*), attivo dal 2006 e promosso dal GISIO della Società Italiana di Igiene (SIItI) [13]. Questo sistema opera in aderenza con il protocollo europeo ECDC HAIICU; i dati del report PPS3 evidenziano che il 39,07% degli ospedali per acuti italiani partecipa attivamente a reti di monitoraggio dedicate alle complicanze nelle terapie intensive [8].

Il vertice di questo sistema organizzativo interno è rappresentato dal Comitato Infezioni Ospedaliere (CIO), un gruppo con funzioni di consulenza, indirizzo e programmazione strategica, la cui composizione prevede la partecipazione della Direzione Sanitaria, di clinici strutturati delle diverse specialità, di farmacisti ospedalieri, di microbiologi clinici e di professionisti referenti per i servizi di igiene e di gestione della qualità [15]. Tra le funzioni istituzionali affidate al CIO si configurano la definizione formale del piano annuale di *Infection Prevention and Control* (IPC) e la successiva redazione del rapporto consuntivo finale relativo ai programmi implementati, documenti che necessitano entrambi della ratifica da parte del Direttore Sanitario o del Direttore Generale dell'azienda [1,15]. Inoltre, il CIO è incaricato dello sviluppo e del costante aggiornamento di linee guida e protocolli operativi locali basati sulle evidenze scientifiche, uno strumento indispensabile per garantire la standardizzazione e l'appropriatezza di tutte le procedure assistenziali erogate nei reparti [1,15].

Il braccio esecutivo e tecnico del comitato è costituito dal Gruppo Operativo (GO-CIO), una struttura specificamente incaricata di tradurre le strategie programmatiche in interventi pratici quotidiani [15]. Le mansioni del GO-CIO si articolano innanzitutto attraverso le attività di sorveglianza attiva, che prevedono la raccolta e l'analisi dei dati epidemiologici aziendali; questo processo si realizza integrando i flussi informativi provenienti dai laboratori di

microbiologia, dai registri della farmacia ospedaliera e dalle schede di dimissione ospedaliera (SDO), consentendo l'identificazione precoce di trend epidemiologici anomali o variazioni nei profili di resistenza [15].

Nell'ambito del contenimento dei focolai epidemici, il GO-CIO ha la responsabilità della segnalazione rapida dell'isolamento di microrganismi sentinella definiti "ALERT", caratterizzati da profili di multi-resistenza estrema, procedendo alla notifica immediata degli outbreak e all'attivazione delle misure di isolamento spaziale e di controllo necessarie per circoscrivere la trasmissione del focolaio [1,15]. A queste funzioni si affianca la conduzione di percorsi di formazione continua obbligatori rivolti al personale sanitario e socio-sanitario, incentrati sulla corretta applicazione delle precauzioni standard e sul potenziamento dell'aderenza all'igiene delle mani [1,15].

Sotto il profilo clinico, il GO-CIO vigila sull'implementazione sistematica dei *care bundles* e delle checklist dedicate alle procedure invasive ad alto rischio biologico, quali il posizionamento e la manutenzione dei cateteri vascolari e urinari o la gestione dei circuiti per la ventilazione meccanica, riducendo l'incidenza di errori procedurali [8,15]. Questo ruolo si estende al supporto operativo dei programmi di *Antimicrobial Stewardship* (AMS), finalizzati all'ottimizzazione dell'appropriatezza prescrittiva dei farmaci attraverso audit clinici periodici e la restituzione di feedback ai medici di reparto [8,15]. Nello specifico, il gruppo monitora la durata della profilassi antibiotica in chirurgia, intervenendo per contrastare la sua inappropriata estensione oltre il giorno dell'intervento e promuovendo le strategie di *de-escalation* terapeutica e il passaggio precoce (*switch*) dalla somministrazione endovenosa a quella orale [8,15]. In ultima analisi, il GO-CIO agisce direttamente all'interno delle unità operative nelle emergenze infettive intraospedaliere per la gestione di casi clinici complessi e per garantire la tenuta delle misure preventive durante le crisi sanitarie collettive, una funzione la cui rilevanza è emersa in tutta la sua criticità durante l'esperienza della pandemia da COVID-19 [15].

## Capitolo 2: L'Antimicrobico-Resistenza (AMR)

### Definizione di AMR

L'antimicrobico-resistenza (AMR) si definisce come la modificazione fenotipica e genotipica dei microrganismi, come batteri, virus, funghi e parassiti, i quali, in risposta a pressioni ambientali o selettive, perdono la sensibilità a presidi terapeutici precedentemente efficaci [1,7]. Questo fenomeno altera l'interazione farmacodinamica tra lo xenobiotico e il patogeno, determinando la persistenza dell'agente infettivo nell'organismo ospite, ostacolandone l'eradicazione e aumentando il rischio di diffusione interumana, la severità del decorso clinico e la letalità [1].

La microbiologia medica distingue le popolazioni *wild-type*, che presentano il profilo di suscettibilità naturale della specie e sono sensibili ai dosaggi standard dei farmaci, dalle varianti resistenti. Queste ultime, tramite mutazioni genetiche spontanee o l'acquisizione orizzontale di determinanti di resistenza spesso plasmidici, sopravvivono all'esposizione a dosaggi normalmente letali, estendendo la tolleranza anche ai farmaci di ultima istanza come i carbapenemi [7]. La valutazione di questa refrattarietà si basa sui criteri di non-suscettibilità fenotipica codificati da comitati internazionali quali l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) e il Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), che stabiliscono i breakpoint clinici integrando nei sistemi di sorveglianza sia gli isolati propriamente resistenti sia quelli a suscettibilità ridotta o intermedia [7].

L'AMR rappresenta una delle principali minacce per la salute pubblica globale del XXI secolo, definita dalle autorità internazionali come una pandemia o emergenza silenziosa [1]. A differenza dei focolai epidemici acuti, l'antimicrobico-resistenza si configura come un carico endemico costante in grado di compromettere la sicurezza dei sistemi sanitari e la sostenibilità clinica delle procedure chirurgiche e internistiche [1,9]. Il rischio di mortalità per i pazienti colpiti da microrganismi non suscettibili risulta da due a tre volte superiore rispetto a quello delle coorti infettate da ceppi sensibili [1]. Per tale motivo, la World Health Organization ha inserito l'AMR tra le prime dieci minacce globali alla salute pubblica mondiale [1,7].

La dimensione epidemiologica del fenomeno è documentata dai dati dello studio GRAM (Global Burden of Bacterial AMR) [9]. I modelli statistici stimano che, nel solo 2019, l'infezione da patogeni resistenti sia associata a 4,95 milioni di decessi su scala globale, mentre i decessi direttamente attribuibili all'AMR si attestano a 1,27 milioni [9]. Qualora considerata come causa primaria di morte, l'AMR si posizionerebbe come il terzo driver di mortalità

mondiale, preceduto solo da cardiopatie ischemiche e ictus, superando patologie infettive di comunità come HIV e malaria [9].

La distribuzione geografica mostra un'asimmetria che penalizza i contesti a basse risorse: il tasso di mortalità più elevato è registrato nell'Africa sub-sahariana occidentale, con 27,3 decessi attribuibili per 100.000 abitanti [9]. L'analisi eziologica evidenzia che la quasi totalità di questo carico letale è riconducibile a sei patogeni guida: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*, responsabili di 929.000 decessi attribuibili e di 3,57 milioni di decessi associati [9]. Poiché cinque di queste sei specie appartengono al nucleo delle infezioni correlate all'assistenza (HAIs), il contrasto all'AMR risulta strettamente connesso al potenziamento dei protocolli di sicurezza e sorveglianza all'interno delle strutture ospedaliere [9].

## Meccanismi della resistenza antimicrobica

### Resistenza intrinseca e acquisita

La refrattarietà dei microrganismi agli antibiotici si articola in resistenza intrinseca e resistenza acquisita. La resistenza intrinseca definisce la capacità naturale ed ereditaria di una determinata specie o genere batterico di resistere a una classe di farmaci attraverso caratteristiche strutturali o funzionali proprie, indipendentemente dall'esposizione precedente allo xenobiotico [16]. Questo fenomeno si esprime principalmente attraverso tre pathways biologici.

Il primo consiste nell'assenza del target molecolare, di cui è un esempio il genere *Pseudomonas*, che manifesta una naturale insensibilità al triclosan dovuta alla presenza costitutiva dell'allele *fabI*, codificante per un enzima enoil-ACP riduttasi strutturalmente modificato [16]. La seconda modalità risiede nelle barriere di permeabilità naturali: l'architettura cellulare dei batteri Gram-negativi, dotata di una membrana esterna asimmetrica ricca di lipopolisaccaridi, funge da barriera idrofobica selettiva che impedisce il transito di molecole idrofobe o ad elevato ingombro sterico, determinando ad esempio l'inefficacia intrinseca della vancomicina [16]. Infine, la composizione lipidica delle membrane gioca un ruolo cruciale, come dimostrato dalla resistenza naturale alla daptomicina esibita dai batteri Gram-negativi, la cui membrana citoplasmatica presenta una proporzione ridotta di fosfolipidi anionici, attenuando l'efficienza dei processi di inserimento del farmaco nel doppio strato fosfolipidico mediati dagli ioni calcio [16].

Al contrario, la resistenza acquisita si configura come un evento evolutivo in cui un ceppo originariamente sensibile ottiene la capacità di tollerare l'azione di un farmaco attraverso modificazioni genomiche repentine, derivanti da mutazioni spontanee del DNA cromosomico

o dall'incorporazione di determinanti genetici esogeni provenienti da altri ecosistemi microbici [16].

### Basi genetiche e trasmissione della resistenza

La plasticità genomica dei patogeni rappresenta il motore primario per l'emergenza dei fenotipi resistenti, un processo regolato da mutazioni cromosomiche spontanee e da sistemi di Trasferimento Orizzontale Genico (HGT) [16]. Le mutazioni cromosomiche si configurano come errori stocastici della polimerasi durante la replicazione del DNA, in grado di colpire i geni deputati alla codifica dei target terapeutici — come le mutazioni puntiformi nei geni delle topoisomerasi e della DNA girasi che annullano l'affinità per i fluorochinoloni — oppure di localizzarsi all'interno di loci regolatori; mutazioni a carico dei geni repressori o attivatori come *marR* o *ramR* possono infatti indurre un'iperespressione costitutiva delle pompe di efflusso specifiche [16].

Parallelamente, il Trasferimento Orizzontale Genico costituisce il driver epidemiologico più rapido per la diffusione dei geni di resistenza in ambito nosocomiale, dividendosi in tre principali modalità cinetiche. La prima è la coniugazione, che prevede il trasferimento unidirezionale di materiale genetico extracromosomico, principalmente plasmidi appartenenti a specifiche famiglie di incompatibilità quali IncFII, IncK, IncH1 e IncL/M, mediante un contatto fisico cellula-cellula stabilito dai pili sessuali; questo è il vettore principale per la diffusione globale di determinanti ad alto allarme quali i geni codificanti per le carbapenemasi o le metallo-beta-lattamasi, espressi rispettivamente dai loci *blaKPC* e *blaNDM* [7,16]. Il secondo meccanismo è la trasformazione, consistente nella captazione attiva e nell'integrazione ricombinante di frammenti di DNA nudo dispersi nell'ambiente a seguito della lisi di cellule donatrici, un processo che consente la genesi di geni mosaico, critici per l'evoluzione della resistenza alla penicillina in patogeni quali *Streptococcus pneumoniae* e *Neisseria gonorrhoeae*, i cui geni *pbp* incorporano segmenti esogeni provenienti da specie saprofiti correlate [16]. La terza modalità è la trasduzione, ovvero il trasferimento accidentale di cassette geniche di resistenza mediato dall'azione vettoriale di virus batterici noti come batteriofagi [16].

L'efficienza di questi pathways di scambio è supportata dalla presenza di Elementi Genetici Mobili, tra cui si distinguono i trasposoni, capaci di muoversi attivamente tra posizioni distinte del genoma favorendo la traslocazione di geni resistenti dal cromosoma ai plasmidi mobilizzabili, e gli integroni, che agiscono come sistemi biologici di cattura genica avvalendosi dell'enzima integrasi per organizzare operoni complessi di resistenza la cui espressione viene potenziata in risposta a stimoli ambientali stressogeni [16,17].

## Meccanismi biochimici di resistenza

La traduzione fenotipica delle modificazioni genetiche si esprime attraverso meccanismi biochimici atti a prevenire l'interazione tra la molecola antibiotica e il suo bersaglio, trovando nell'inattivazione enzimatica uno dei pathways più rilevanti [16]. I pilastri di questa strategia sono le beta-lattamasi, enzimi idrolitici capaci di scindere l'anello ammidico del nucleo beta-lattamico neutralizzandone l'azione acilante. Tra queste si distinguono le beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL), come le varianti filogenetiche CTX-M-14 e CTX-M-15 che inattivano le cefalosporine di terza generazione, e le carbapenemasi, enzimi a priorità critica globale quali KPC, NDM, VIM, IMP e OXA-48, in grado di degradare quasi la totalità dei beta-lattamici inclusi i carbapenemi [7,16]. Accanto a esse operano gli enzimi modificanti gli aminoglicosidi (AME), un complesso pool comprendente acetiltrasferasi, fosfotrasferasi e nucleotidiltrasferasi che modificano covalentemente l'antibiotico aggiungendo gruppi chimici specifici, inducendo un'alterazione strutturale che ne impedisce il legame con il ribosoma batterico per via dell'ingombro sterico [16].

Un ulteriore meccanismo biochimico è rappresentato dalla modificazione del target molecolare, attraverso cui i batteri alterano la conformazione sterica delle macromolecole bersaglio per ridurre l'affinità di legame [16]. Questa strategia si declina mediante sostituzioni amminoacidiche e alterazioni di carica, come le mutazioni a carico del gene *mprF* in *Staphylococcus aureus* che invertono le proprietà bioelettriche della cellula modificando la carica netta della membrana citoplasmatica e respingendo elettrostaticamente il complesso della daptomicina mediato dal calcio [16]. Altre modalità comprendono la protezione del target tramite l'espressione di proteine della famiglia Qnr, che si legano reversibilmente alla DNA girasi e alla topoisomerasi IV schermandole dai fluorochinoloni, e la metilazione del target operata da enzimi di trasferimento come Erm (eritromicina ribosoma metilasi) o il determinante Cfr, che catalizzano la metilazione specifica dell'RNA ribosomiale bloccando l'interazione di macrolidi, lincosamidi e linezolid [16]. Questa categoria include anche l'acquisizione di target alternativi, meccanismo cardine dei ceppi di *Staphylococcus aureus* resistenti alla meticillina (MRSA) nei quali l'acquisizione dei geni *mecA* o *mecC* codifica per la proteina PBP2a, una transpeptidasi alternativa dotata di un'affinità bassissima per i beta-lattamici e in grado di vicariare le funzioni di sintesi della parete cellulare quando le PBP native risultano inibite [16].

Infine, il controllo cinetico della concentrazione intracellulare del farmaco viene attuato mediante il bilanciamento tra i flussi di ingresso e di estrusione attiva, coordinato dai sistemi di efflusso multi-farmaco e dalle alterazioni della permeabilità di membrana [16]. I sistemi di efflusso sono complessi macromolecolari transmembrana specializzati nel pompare gli

xenobiotici al di fuori del citoplasma o del periplasma; la famiglia RND, prevalente nei Gram-negativi, si organizza in strutture tripartite stabili che attraversano l'intero involucro cellulare, come i complessi AcrAB-TolC in *Escherichia coli* e MexAB-OprM in *Pseudomonas aeruginosa*, estrudendo simultaneamente classi antibiotiche strutturalmente eterogenee, coadiuvati nei Gram-positivi dalle pompe della superfamiglia MFS quali LmrS o KexD [16]. Questo dinamismo è accoppiato alle alterazioni della permeabilità di membrana, caratterizzate dal silenziamento trascrizionale, dalla *down-regulation* o dalla mutazione strutturale delle porine aspecifiche come OmpF, OmpC e OmpK36, la cui perdita limita l'influsso passivo di molecole idrofile, sbarrando l'accesso a carbapenemi e cefalosporine [16].

### Biofilm e persistenza microbica

Il biofilm si configura come una modalità di crescita comunitaria in cui le cellule batteriche sono incluse all'interno di una matrice di sostanze polimeriche extracellulari (EPS) autoprodotta, una condizione protettiva all'interno della quale è fondamentale distinguere tra tolleranza fenotipica e resistenza genetica [17]. La tolleranza fenotipica identifica una capacità di sopravvivenza transitoria e collettiva all'azione dell'antibiotico legata a uno stato fisiologico reversibile e non ereditario, determinato dalle barriere fisiche della matrice e dal rallentamento metabolico, per cui una volta disaggregato il biofilm i batteri riacquistano il profilo di sensibilità originario; la resistenza genetica descrive invece la capacità stabile ed ereditaria, codificata nel genoma, di moltiplicarsi a concentrazioni di farmaco superiori alla Minima Concentrazione Inibente (MIC) standard della specie [17].

La matrice extracellulare agisce come uno scudo chimico-fisiologico i cui costituenti anionici, tra cui l'alginato, il DNA extracellulare (eDNA) e specifici batteriofagi filamentosi come i fagi Pf, stabiliscono legami elettrostatici con le molecole antibiotiche di natura cationica quali la tobramicina e le polimixine, sequestrandole meccanicamente e rallentandone la penetrazione. Agiscono inoltre da serbatoio per accumulare enzimi inattivanti secreti come le beta-lattamasi [17]. Inoltre, la progressiva stratificazione del biofilm genera gradienti metabolici e ipossia: mentre le cellule poste sulla superficie esterna godono di un elevato apporto di ossigeno e nutrienti rimanendo metabolicamente attive, i batteri allocati negli strati profondi subiscono una drastica deprivazione nutrizionale ed entrano in uno stato di dormienza metabolica, transizione fisiologica che li rende refrattari a tutte le classi antibiotiche (come beta-lattamici e fluorochinoloni) il cui meccanismo d'azione è subordinato al blocco di processi cellulari attivi [17].

Da questo gradiente origina la selezione delle cellule persistenti (*persistenter cells*), una sottopopolazione fenotipica ristretta di cellule non in divisione caratterizzata da un arresto

replicativo spontaneo e da livelli intracellulari minimi di ATP che tollerano dosi massicce di antibiotici. Pur rimanendo geneticamente sensibili, esse costituiscono il serbatoio biologico responsabile delle recidive cliniche nosocomiali; una volta interrotto il ciclo terapeutico, queste cellule si riattivano metabolicamente, guidando la ricolonizzazione del sito d'infezione o del dispositivo biomedico invasivo [17].

In ultima analisi, il biofilm si comporta come un ambiente ideale per il Trasferimento Orizzontale Genico, poiché l'estrema densità cellulare, l'immobilità spaziale imposta dalla matrice e l'abbondanza di eDNA circolante innalzano la frequenza dei fenomeni di coniugazione plasmidica e trasformazione naturale rispetto allo stato planctonico [17]. Le condizioni di stress strutturale e deprivazione nutrizionale tipiche del biofilm attivano infatti pathways di segnalazione intracellulare noti come *SOS response* e *stringent response*, quest'ultima regolata dall'allarmonone ppGpp, stimolando la mutagenesi adattativa e accelerando l'espressione dell'integrasi, favorendo così l'integrazione di nuove cassette geniche di resistenza all'interno del patrimonio ereditario della comunità batterica [17].

## Cause e diffusione dell'antimicrobico-resistenza

La diffusione dell'antimicrobico-resistenza (AMR) si configura come un fenomeno biologico naturale di adattamento e selezione microbica, accelerato e trasformato in emergenza sanitaria globale da una convergenza di determinanti antropici, clinici ed ecologici.

### Abuso e inappropriately della terapia antibiotica

L'utilizzo eccessivo e improprio di antibiotici nei diversi setting assistenziali costituisce il principale driver antropico del fenomeno. A livello continentale, i dati epidemiologici europei raccolti nel terzo report Point Prevalence Survey (PPS) dell'ECDC evidenziano che la prevalenza di pazienti che ricevono almeno un farmaco antimicrobico all'interno degli ospedali per acuti dell'area UE/SEE raggiunge il 35,5% [3]. Questo volume prescrittivo è esacerbato da una deriva qualitativa legata all'incremento nell'impiego di antibiotici ad ampio spettro, passati dal 41,3% del consumo totale registrato nel biennio 2016-2017 al 47,7% rilevato nel periodo 2022-2023 [3]. In questo panorama, l'Italia manifesta livelli di consumo e profili di inappropriately terapeutica significativamente superiori rispetto alla media degli altri paesi europei, sia nel contesto dell'assistenza territoriale sia in quello ospedaliero [8].

Le rilevazioni condotte dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) documentano che nel territorio nazionale il consumo comunitario si attesta a 16,5 Dose Definita Giornaliera (DDD) per 1.000 abitanti al giorno, evidenziando uno scarto in eccesso del 10% rispetto al valore medio europeo di 15,0 DDD [8]. Un divario analogo si riscontra nei setting ospedalieri per acuti, dove il

consumo raggiunge 1,92 DDD per 1.000 abitanti al giorno, superando del 22% il parametro continentale di 1,57 DDD [8]. Sotto il profilo della selettività ecologica, la penisola italiana fa registrare la percentuale più elevata in Europa per l'utilizzo di antibiotici ad ampio spettro, che coprono il 59,2% del totale delle prescrizioni ospedaliere [8]. Questa pressione farmacologica si riflette sulla popolazione generale, all'interno della quale circa tre persone su dieci ricevono annualmente almeno una prescrizione di antibiotici, con picchi di massima criticità concentrati nella popolazione pediatrica compresa tra zero e quattro anni e nella coorte dei pazienti di età superiore ai settantacinque anni [8].

#### Automedicazione e dinamiche territoriali/comunitarie

L'inappropriatezza d'uso riscontrata sul territorio è alimentata da variabili socio-comportamentali e da criticità gestionali diffuse a livello della medicina di comunità. Le analisi sanitarie condotte dall'Organizzazione per la Cooperazione e lo Sviluppo Economico (OCSE) stimano che circa il 60% delle terapie antibiotiche prescritte nell'ambito della medicina generale risponda a criteri di inappropriatezza clinica o posologica [11]. Questo scenario è aggravato dal fenomeno dell'automedicazione e da comportamenti scorretti dei pazienti, dinamiche correlate a un deficit generalizzato di informazione sanitaria corretta [11,15].

Nel contesto territoriale si osservano condotte deleterie quali l'accesso incontrollato ai farmaci antimicrobici senza una prescrizione medica formale, il ricorso improprio a rimanenze domestiche stoccate a seguito di precedenti cicli e l'interruzione precoce della terapia non appena si assiste alla remissione dei sintomi acuti [15]. Quest'ultima abitudine impedisce l'eradicazione completa delle sottopopolazioni batteriche, lasciando in vita varianti a suscettibilità ridotta e favorendo la selezione e la successiva stabilizzazione di ceppi resistenti sul territorio [15]. A livello di comunità, l'assenza di idonee pratiche di igiene respiratoria, la scarsa frequenza del lavaggio delle mani e tassi di copertura insufficienti all'interno delle campagne vaccinali agiscono sinergicamente, incrementando la circolazione di processi infettivi e determinando un aumento indiretto ma massivo della pressione selettiva antibiotica globale [15].

#### Utilizzo veterinario e zootecnico degli antibiotici

Il settore veterinario e zootecnico rappresenta un serbatoio epidemiologico di proporzioni imponenti, essendo responsabile del consumo di circa l'80% degli antibiotici clinicamente rilevanti su scala globale [11]. Nel contesto italiano, sebbene si registri un trend progressivo di contrazione prescrittiva, i volumi di vendita di antimicrobici destinati agli animali da produzione rimangono elevati, attestandosi a 181,9 milligrammi per unità di correzione della

popolazione (mg/PCU), un valore che supera di oltre il doppio la media dei paesi europei, stabilizzata a 88,9 mg/PCU [15]. La criticità biologica di tale esposizione risiede nelle modalità di somministrazione, dal momento che oltre il 90% di queste dosi viene erogato attraverso formulazioni orali di massa, destinate a interventi collettivi di metafilassi e profilassi all'interno degli allevamenti intensivi [15].

L'esposizione continuativa a dosaggi sub-efficaci esercita una pressione selettiva costante che favorisce l'emergenza di ceppi batterici resistenti e multi-resistenti (MDR) all'interno del microbiota degli animali da produzione, tra i quali spiccano le varianti di *Escherichia coli* produttrici di beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL) o di tipo AmpC [7,15]. Questi patogeni zoonotici e i relativi determinanti genetici penetrano all'interno della popolazione umana attraverso molteplici canali ecologici, a partire dalla catena alimentare mediante il consumo di carni contaminate o alimenti non sottoposti a idonei processi di abbattimento termico [15]. A questo vettore si sommano il contatto diretto tra gli operatori professionali del settore zootecnico o i proprietari di animali da compagnia e i vettori animali colonizzati, nonché la contaminazione ambientale indotta dalla dispersione di reflui zootecnici e deiezioni all'interno dei terreni agricoli e dei corpi idrici superficiali [15].

#### Pressione selettiva e diffusione intraospedaliera

Le strutture ospedaliere agiscono come amplificatori ecologici della trasmissione e della persistenza dei patogeni resistenti. All'interno di questi microambienti, l'uso massivo di molecole ad ampio spettro esercita una pressione selettiva radicale, determinando l'annichilimento della flora batterica commensale del paziente e lasciando uno spazio ecologico libero che viene prontamente occupato dalla proliferazione clonale delle varianti resistenti [1]. La successiva diffusione di questi ceppi è agevolata dalla presenza di lacune strutturali e operative nell'applicazione dei protocolli di Infection Prevention and Control (IPC) [1,8].

Sotto il profilo organizzativo, il sovraffollamento dei reparti e l'occupazione sistematica dei posti letto oltre le capacità standard impediscono l'adozione tempestiva delle misure di isolamento, dinamica che si associa a carenze nei rapporti numerici tra personale infermieristico e pazienti, compromettendo l'aderenza alle precauzioni standard [8]. In questo contesto, la mancanza dell'esecuzione delle corrette manovre di igiene delle mani da parte degli operatori e le lacune nei processi di sanificazione delle superfici ad alto contatto trasformano l'ambiente di degenza in un incubatore di trasmissione crociata interumana [8]. L'impatto complessivo di questa amplificazione intraospedaliera è descritto dal fatto che, all'interno dell'area UE/SEE, circa il 70% del burden totale associato all'antimicrobico-resistenza, calcolato in termini di anni

di vita persi per disabilità e mortalità prematura, è causato specificamente da processi infettivi sostenuti da microrganismi acquisiti all'interno dei contesti di assistenza sanitaria [3].

### Paradigma One Health

Il carattere ubiquitario dell'antimicrobico-resistenza ha indotto la comunità scientifica internazionale a riconoscerla come una problematica intrinsecamente circolare ed ecologica, la cui *governance* richiede l'implementazione del paradigma transdisciplinare denominato One Health [18]. Questo modello si definisce come un approccio integrato e sistemico volto a bilanciare in modo sostenibile e a ottimizzare la salute delle persone, degli animali e degli ecosistemi, riconoscendo come questi tre ambiti siano biologicamente interdipendenti [18].

In questa prospettiva, la salute ambientale emerge come un serbatoio critico e un mediatore per l'accumulo e la ricombinazione di geni di resistenza (ARGs) [18]. La contaminazione degli ecosistemi è alimentata dal rilascio continuo di residui antibiotici attivi; fino all'80% delle molecole somministrate nei contesti dell'acquacoltura viene escreto direttamente nelle acque circostanti, scenario aggravato dagli scarichi delle industrie farmaceutiche e dallo smaltimento inappropriato di farmaci scaduti nel suolo e nei bacini idrici [18]. Le reti fognarie urbane e le acque reflue ospedaliere veicolano carichi massivi di batteri resistenti selezionati e residui chimici sub-letali, trasformando i sistemi idrici in siti ad altissima densità biologica che catalizzano i processi di trasferimento orizzontale genico tra specie microbiche distanti [18].

Il ciclo ecologico di trasmissione si chiude attraverso l'utilizzo di discariche di rifiuti solidi e l'impiego agronomico di fanghi di depurazione e reflui zootecnici; queste matrici ambientali agiscono come depositi permanenti di geni di resistenza e si configurano come contaminanti emergenti capaci di infiltrare le falde acquifere, determinando la re-immissione dei determinanti di resistenza e dei patogeni MDR all'interno delle catene trofiche umane e animali [7,15,18].

### Gli organismi multi-resistenti (MDRO) in ambito ospedaliero

#### Inquadramento generale degli MDRO e impatto epidemiologico

La resistenza antimicrobica (AMR) si attesta come una delle più severe minacce alla salute pubblica globale, avendo fatto registrare nel 2019 una mortalità stimata di 4,95 milioni di decessi associati e 1,27 milioni di decessi direttamente attribuibili all'insuccesso terapeutico causato dalla resistenza batterica [9]. Nel contesto specifico delle infezioni correlate all'assistenza (ICA), l'impatto clinico subisce un peggioramento drastico, con tassi di letalità che aumentano di due o tre volte qualora i processi infettivi siano sostenuti da organismi multi-resistenti (MDRO) rispetto a quanto osservato per i ceppi batterici sensibili [9].

La dimensione epidemiologica del fenomeno è delineata dall'analisi dei sei patogeni guida dello studio GRAM (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*), responsabili da soli di 929.000 decessi direttamente attribuibili all'AMR e di 3,57 milioni di decessi associati su scala mondiale [9]. La ricaduta di questa pressione infettiva si manifesta in modo preponderante all'interno dei sistemi sanitari avanzati; nei paesi dell'Unione Europea e dello Spazio Economico Europeo (UE/SEE), il 75% degli anni di vita persi per disabilità o morte prematura (DALYs) attribuibili alla resistenza agli antibiotici è causato da infezioni contratte specificamente all'interno dei contesti ospedalieri e assistenziali [3,9].

#### *Acinetobacter baumannii* resistente ai carbapenemi (CRAB)

Il fenotipo di *Acinetobacter baumannii* resistente ai carbapenemi (CRAB) rappresenta un elemento di massima criticità clinica, confermato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità all'interno della categoria di Priorità Critica nella lista globale dei patogeni prioritari, a causa della sua elevata virulenza e della drammatica carenza di opzioni terapeutiche residue [7]. Sotto il profilo microbiologico ed epidemiologico, i dati raccolti dall'ECDC nell'area UE/SEE indicano che, tra gli isolati microbiologicamente documentati, la resistenza ai carbapenemi in *A. baumannii* ha raggiunto la quota straordinariamente elevata dell'82,9% [3].

All'interno del panorama italiano, le rilevazioni nazionali condotte dall'Istituto Superiore di Sanità tramite lo studio PPS3 documentano una prevalenza di resistenza ai carbapenemi per *Acinetobacter* spp. pari al 39,02% tra i pazienti non affetti da COVID-19 e al 35,00% nella coorte dei pazienti ospedalizzati per COVID-19 [8]. Questa distribuzione si traduce in una rilevanza clinica sfavorevole, che colloca il CRAB tra i primi cinque patogeni mondiali per mortalità attribuibile, evidenziando una letalità particolarmente allarmante nei setting intensivi e nelle unità di rianimazione, dove aggredisce sistematicamente i pazienti caratterizzati da profili di estrema fragilità o sottoposti a ventilazione meccanica invasiva [8,9].

#### *Klebsiella pneumoniae* resistente ai carbapenemi (CRKP / CRE)

L'emergenza delle enterobatteriacee resistenti ai carbapenemi (CRE), e nello specifico del ceppo *Klebsiella pneumoniae* resistente ai carbapenemi (CRKP), mantiene lo status di Priorità Critica secondo i parametri di monitoraggio dell'OMS [7]. Su scala europea, i report epidemiologici istituzionali stimano che la resistenza alle cefalosporine di terza generazione in *K. pneumoniae* si attesti al 58,1%, mentre la resistenza specifica ai carbapenemi raggiunge una media del 25,1% all'interno dell'area UE/SEE [3].

La situazione italiana esibisce un profilo di spiccata endemicità nosocomiale; *K. pneumoniae* si configura infatti come il secondo microrganismo in assoluto più frequentemente isolato nelle ICA in Italia, coprendo l'11,58% del totale degli isolati diagnostici [8]. La resistenza media complessiva delle *Enterobacteriaceae* ai carbapenemi nella penisola si attesta al 13,30% nei soggetti non COVID-19 e al 13,64% nei pazienti COVID-19, ma il dato disaggregato relativo all'isolamento specifico di *K. pneumoniae* resistente ai carbapenemi rivela un quadro di eccezionale gravità clinica, fissando la quota di resistenza nazionale all'allarmante valore del 32,8% [8].

#### *Pseudomonas aeruginosa* resistente ai carbapenemi (CRPA)

Un importante elemento di novità scientifica è costituito dalla riclassificazione di *Pseudomonas aeruginosa* resistente ai carbapenemi (CRPA) operata dall'OMS, all'interno della quale il patogeno è stato ricollocato dall'inquadramento critico a quello di Priorità Alta [7]. Questa determinazione epidemiologica è scaturita dall'osservazione di una progressiva tendenza globale alla stabilizzazione o alla lieve diminuzione dei tassi di resistenza, associata a una capacità di trasmissione ed espansione clonale intraospedaliera biologicamente inferiore rispetto a quanto manifestato dalle enterobatteriacee resistenti ai carbapenemi [7].

Nonostante questa fluttuazione tassonomica, la pressione fenotipica nei contesti di cura europei rimane significativa, con una percentuale media di resistenza ai carbapenemi negli isolati UE/SEE di *P. aeruginosa* pari al 29,7% [3]. Sul territorio italiano, la sorveglianza dell'ISS PPS3 posiziona questo patogeno opportunisto come il terzo microrganismo più frequente nei reparti per acuti, rappresentando l'8,22% degli isolati nei pazienti non-COVID e il 10,78% nei soggetti COVID-19, mantenendo un tasso di resistenza ai carbapenemi estremamente elevato e stabilmente oscillante tra il 40% e il 60% della casistica clinica [8].

#### *Staphylococcus aureus* resistente alla meticillina (MRSA)

Sul fronte dei batteri Gram-positivi, lo *Staphylococcus aureus* resistente alla meticillina (MRSA) continua a esercitare un impatto epidemiologico massivo, configurandosi come la singola combinazione patogeno-farmaco responsabile del maggior numero di decessi attribuibili all'AMR su scala globale, con una stima che a livello globale ha superato le 100.000 morti nel 2019 [9]. Nei paesi ad alto reddito, l'azione sinergica di MRSA ed *Escherichia coli* è responsabile di circa il 50% dell'intero burden di mortalità correlato alla resistenza antimicrobica [9].

A livello continentale, i programmi di prevenzione hanno indotto una contrazione della prevalenza di isolati MRSA nell'area UE/SEE, attestata al 23,7% rispetto al 31,0% documentato

nel precedente periodo biennale 2016-2017 [3]. Ciononostante, il quadro epidemiologico italiano riflette una persistenza critica del patogeno; i dati ISS PPS3 evidenziano che la resistenza alla oxacillina negli isolati di *S. aureus* in Italia permane su livelli elevati, posizionandosi al 33,55% nei pazienti non affetti da infezione da SARS-CoV-2 e al 25,00% all'interno dei reparti COVID-19 [8].

### Enterococchi resistenti alla vancomicina (VRE)

L'emergenza clinica di *Enterococcus faecium* resistente alla vancomicina è classificata dall'OMS come un obiettivo di Priorità Alta, in virtù della spiccata attitudine biologica del microrganismo a fungere da vettore per il trasferimento orizzontale di elementi genetici mobili lungo l'intero spettro ecologico del paradigma One Health [7]. La caratterizzazione epidemiologica condotta dall'ECDC mette in luce una profonda differenza biologica nei tassi di resistenza alla vancomicina all'interno dello stesso genere, evidenziando una prevalenza del 28,7% in *E. faecium* a fronte di un esiguo 4,9% rilevato in *Enterococcus faecalis* [3].

In Italia, i dati aggregati della sorveglianza nazionale indicano che la resistenza ai glicopeptidi per *Enterococcus* spp. si attesta al 16,56% nei pazienti non COVID-19 e al 9,09% nei pazienti COVID-19, ma l'analisi focalizzata esclusivamente sull'isolamento specifico di *E. faecium* resistente alla vancomicina rivela una situazione di severo allarme nosocomiale, con percentuali che si stabilizzano intorno al 40% degli isolati clinici complessivi [1].

### Impatto clinico e sanitario dell'AMR

#### Incremento della mortalità e severità prognostica

L'insorgenza di processi infettivi sostenuti da microrganismi resistenti determina un drastico peggioramento degli outcome clinici dei pazienti ospedalizzati, configurandosi come un moltiplicatore di letalità che incrementa il rischio di decesso da due a tre volte rispetto a quanto registrato per le infezioni causate da ceppi batterici sensibili [1]. Questo impatto prognostico si manifesta nei quadri epidemiologici più critici, come nel caso della sepsi contratta in ambito assistenziale (HAI), all'interno della quale la mortalità media si attesta al 24,4% [1]. Il quadro clinico assume contorni ancor più complessi all'interno dei reparti di rianimazione e nelle unità di terapia intensiva, dove il tasso di letalità per i pazienti affetti da sepsi correlata all'assistenza raggiunge la quota del 52,3% [1].

Sotto il profilo eziologico, l'incremento del rischio di mortalità specifica è strettamente vincolato alle singole combinazioni patogeno-farmaco; i soggetti colpiti da batteriemia causata da ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* resistente ai carbapenemi esibiscono una probabilità di decesso 3,07 volte superiore rispetto a coloro che contraggono la medesima infezione da

varianti sensibili, mentre per i processi infettivi indotti da *Acinetobacter baumannii* resistente ai carbapenemi (CRAB) si registra un odds ratio aggiustato per la mortalità pari a 2,49 [1].

La refrattarietà ai trattamenti standard determina esiti sfavorevoli soprattutto nel corso delle infezioni del flusso sanguigno (BSI) sostenute da *Enterobacteriaceae* resistenti ai carbapenemi, all'interno delle quali i tassi di mortalità documentati oscillano in una forchetta compresa tra il 30% e il 70% [7]. Su scala macro-epidemiologica, il burden globale associato alla resistenza antimicrobica batterica ha fatto registrare una stima imponente pari a 4,95 milioni di decessi associati, dei quali 1,27 milioni sono risultati direttamente attribuibili all'azione dei determinanti di resistenza, evidenziando come la perdita di efficacia terapeutica rappresenti un fattore primario di mortalità prematura a livello mondiale [9].

### Ricoveri prolungati e dinamiche logistiche

Le complicanze infettive resistenti esercitano un impatto profondo sulle dinamiche logistiche e sulla disponibilità di risorse dei sistemi ospedalieri, inducendo un grave allungamento della durata mediana della degenza (LOS) [1,3]. All'interno delle strutture di cura per acuti, il tempo mediano che intercorre tra il momento dell'ammissione del paziente in ospedale e la prima manifestazione clinica di un'infezione correlata all'assistenza è quantificabile in 12 giorni, sebbene si registri un valore medio di 27,2 giorni prima dell'esordio della patologia infettiva [3]. L'instaurarsi dell'infezione resistente prolunga la permanenza del soggetto nei reparti di degenza, determinando una media complessiva della permanenza in ospedale pari a 28,2 giorni per i pazienti con diagnosi di HAI, un dato che contrasta in modo netto con la degenza media generale ospedaliera standard, fissata a 8,1 giorni [3].

Questa estensione dei tempi assistenziali genera un effetto di immobilizzazione logistica dei posti letto, come dimostrato dal fatto che la degenza media calcolata fino al giorno della rilevazione Point Prevalence Survey (PPS) è risultata ben 3,4 volte superiore rispetto alla durata standard di un normale ricovero ospedaliero [3]. Tale immobilizzazione si inserisce in contesti strutturali caratterizzati da una pressione logistica già elevata, all'interno dei quali il tasso mediano di occupazione dei posti letto si attesta al 73,3%, misurato alla mezzanotte, ma fa registrare picchi di saturazione stabilmente superiori al 90% in nazioni europee quali la Finlandia, la Spagna e la Svezia [3]. Il conseguente sovraffollamento dei reparti e l'occupazione eccedente le capacità recettive standard delle strutture sono formalmente identificati dagli organi internazionali come i driver organizzativi più critici per il fallimento delle misure di isolamento e per la successiva diffusione interumana dei patogeni resistenti [1,3].

## Aumento dei costi sanitari

La gestione dell'antimicrobico-resistenza comporta una imponente spesa di risorse economiche, articolata in costi diretti per le strutture sanitarie e in costi indiretti per il tessuto sociale [1,11]. Sotto il profilo della spesa ospedaliera diretta, il ricovero di un singolo paziente affetto da una complicanza infettiva resistente ai farmaci determina un sovraccosto finanziario aggiuntivo stimato tra i 10.000 e i 40.000 USD rispetto a quanto stanziato per il trattamento di un'infezione sostenuta da ceppi sensibili [11]. Questa impennata della spesa è guidata dal costo elevato delle terapie farmacologiche di linea avanzata, rese necessarie a causa del fallimento delle prime scelte terapeutiche; l'implementazione di regimi terapeutici di seconda linea comporta infatti un incremento dei costi pari a 3 volte rispetto ai farmaci standard di prima scelta, mentre il ricorso a regimi di terza linea, rappresentati dalle terapie di ultima istanza, determina un esborso economico fino a 18 volte superiore rispetto alla terapia iniziale [1].

A queste dinamiche interne ai bilanci ospedalieri si sommano le perdite macroeconomiche indirette che colpiscono i paesi ad alto reddito (HIC), all'interno dei quali il burden economico derivante dalla sola perdita di produttività di un singolo individuo colpito da infezione resistente è calcolato in 38.000 USD, una cifra stimata integrando il computo delle ore lavorative perse dal paziente e il valore economico dell'assistenza informale che deve essere erogata dai familiari conviventi [11]. In un'ottica di programmazione sanitaria globale, viene evidenziato che, in assenza di adeguati investimenti finanziari e di programmi strutturati di prevenzione, le complicanze indotte dall'AMR comporteranno per i sistemi sanitari un costo fisso pari a 3,5 miliardi di USD all'anno [11].

Al contrario, l'adozione sistematica di un pacchetto coordinato di interventi preventivi incentrato sul potenziamento dell'igiene delle mani, sui programmi di *antimicrobial stewardship* e sulla sanificazione avanzata dell'ambiente ospedaliero risulterebbe altamente costo-efficace, generando nei paesi OCSE un risparmio netto pari a 0,7 euro pro capite all'anno, a fronte di un impatto economico globale che attualmente penalizza l'output economico mondiale con una contrazione dello 0,14% del PIL annuo [11].

## Riduzione delle opzioni terapeutiche e complessità nella gestione clinica

L'orizzonte terapeutico a disposizione dei clinici si trova in una fase di progressivo restringimento, causato dalla costante erosione dell'efficacia delle principali molecole salvavita a causa dei meccanismi di resistenza sviluppati dai patogeni [1,7]. Il fenomeno colpisce in modo sistematico classi antibiotiche storicamente fondamentali come i beta-lattamici, tra cui si annoverano penicilline, cefalosporine e carbapenemi, e i fluorochinoloni, farmaci che

complessivamente rappresentano oltre il 70% delle opzioni terapeutiche standard utilizzate nei casi clinici che oggi esitano in decessi attribuibili all'AMR [9]. La totale perdita di efficacia clinica delle molecole somministrate in monoterapia impone l'obbligo di ricorrere alla strutturazione di regimi combinati empirici estremamente complessi, i quali risultano spesso gravati da livelli di evidenza scientifica limitati o basati sul recupero terapeutico di vecchi principi attivi precedentemente abbandonati nella pratica clinica comune [1].

La gestione farmacologica quotidiana del paziente è pertanto costretta a muoversi all'interno di uno spettro ristretto di opzioni, caratterizzate da un profilo di tossicità sistemica particolarmente elevato — come nel caso dei severi effetti di nefrotossicità e neurotossicità indotti dalle polimixine e dagli aminoglicosidi — o da una spiccata scarsità di maneggevolezza clinica [1]. Questo scenario si rivela drammatico per i patogeni inseriti nella classe di priorità critica dall'OMS, come l'*Acinetobacter baumannii* resistente ai carbapenemi, nei cui confronti la ricerca e lo sviluppo di nuove molecole efficaci fa registrare un ritardo cronico, lasciando i clinici e i pazienti in condizioni di opzioni terapeutiche estremamente limitate o nulle [7].

Questa cinetica evolutiva di adattamento batterico non risparmia nemmeno i farmaci recentemente introdotti nei mercati internazionali, come dimostrato dall'insorgenza di fenomeni di resistenza emergente nei confronti della bedaquilina per il trattamento della tubercolosi resistente ai farmaci (RR-TB), una dinamica che compromette le probabilità complessive di guarigione, le quali permangono basse a causa dell'impossibilità di portare a compimento i protocolli terapeutici prestabiliti [7].

## Il Piano Nazionale di Contrasto dell'Antimicrobico-Resistenza (PNCAR 2022–2025)

### Inquadramento istituzionale e l'approccio One Health del piano

Il Piano Nazionale di Contrasto dell'Antimicrobico-Resistenza (PNCAR 2022-2025) si configura come lo strumento programmatico, normativo e strategico fondamentale per il contenimento dell'emergenza legata alla diffusione dei microrganismi resistenti sul territorio italiano [15]. Sviluppato in piena continuità con il precedente impianto strategico e integrato con le lezioni gestionali apprese nel corso della pandemia da COVID-19, il documento si caratterizza per l'adozione strategica della visione transdisciplinare One Health [15]. Questo paradigma riconosce in modo esplicito che la salute umana, la salute animale e la tutela dell'ecosistema ambientale sono indissolubilmente legate all'interno di un unico ciclo biologico, per cui le alterazioni e la pressione selettiva esercitate in un singolo dominio influenzano la stabilità e la sicurezza degli altri comparti [15,18].

L'allineamento internazionale del piano è garantito dalla sua sinergia con gli indirizzi dell'Alleanza Quadripartita, che unisce l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), l'Organizzazione delle Nazioni Unite per l'Alimentazione e l'Agricoltura (FAO), l'Organizzazione Mondiale per la Salute Animale (WOAH) e il Programma delle Nazioni Unite per l'Ambiente (UNEP), riflettendo il quadro d'azione globale per la mitigazione delle minacce biologiche all'interfaccia uomo-animale-pianta-ambiente [15,18].

Sotto il profilo strutturale, il PNCAR si articola in quattro aree orizzontali di supporto strategico, dedicate rispettivamente alla formazione continua, all'informazione e comunicazione istituzionale, alla ricerca scientifica associata all'innovazione e alla bioetica, e al potenziamento della cooperazione a livello nazionale e internazionale [15]. A questo reticolo orizzontale si innestano tre pilastri verticali specialistici, deputati alla declinazione e all'implementazione degli interventi operativi all'interno del settore umano, di quello animale e di quello ambientale [15]. La *governance* complessiva e il monitoraggio dei progressi del piano sono affidati a una Cabina di Regia nazionale, la quale coordina l'operato delle istituzioni centrali con le amministrazioni delle Regioni e delle Province Autonome, garantendo un recepimento omogeneo delle direttive sull'intero territorio nazionale attraverso l'applicazione di indicatori standardizzati e progetti di rete come il Progetto SPiNCAR [15].

### Stewardship antibiotica

I programmi di Antimicrobial Stewardship (AMS) sono identificati all'interno del piano nazionale come il pilastro metodologico preminente per ottimizzare l'utilizzo clinico dei farmaci antimicrobici, migliorare la prognosi dei pazienti infetti e abbattere la pressione selettiva ambientale che guida l'emergenza dell'AMR [15]. Gli obiettivi strategici fissati dal Ministero della Salute mirano a una contrazione decisa dei consumi inappropriati, partendo dal presupposto epidemiologico che vede l'Italia stabilmente posizionata su parametri superiori rispetto alle medie europee sia nei setting territoriali sia in quelli ospedalieri per acuti [8,15].

Al fine di invertire questa tendenza, il PNCAR stabilisce precisi target di riduzione quantitativa da raggiungere entro il 2025 assumendo come baseline i dati raccolti nel 2022 [15]. Nell'ambito della medicina del territorio, il piano impone una riduzione pari o superiore al 10% del consumo complessivo di antibiotici per uso sistemico, associata a un decremento di almeno il 20% del rapporto relativo tra l'impiego di molecole ad ampio spettro e quelle a spettro ristretto [15]. Per quanto concerne il contesto assistenziale ospedaliero, viene richiesto un taglio superiore al 5% dei consumi complessivi di antimicrobici, con riduzioni mirate pari o superiori al 10% per classi strategiche e ad alto impatto selettivo quali i carbapenemi e i fluorochinoloni [15].

Una particolare attenzione programmatoria è rivolta alla popolazione pediatrica, per la quale viene decretato un incremento pari o superiore al 30% del rapporto tra le prescrizioni di amoxicillina semplice e quelle di amoxicillina associata ad acido clavulanico, contrastando l'abuso di combinazioni protette laddove non clinicamente giustificate [15]. Le strategie operative di stewardship includono inoltre il monitoraggio dei protocolli di profilassi peri-operatoria in ambito chirurgico, al fine di azzerarne il prolungamento oltre il tempo legato all'atto operatorio, supportando le decisioni cliniche attraverso l'implementazione di sistemi informatici in grado di generare alert automatici per limitare e tracciare l'utilizzo delle molecole di ultima istanza [8,15].

### Sorveglianza epidemiologica integrata

Il potenziamento dei network di monitoraggio costituisce un obiettivo del PNCAR, attraverso l'integrazione dei flussi informativi tra il settore della clinica umana, il comparto veterinario e le matrici ambientali, assicurando la tracciabilità dei dati epidemiologici [15]. I cardini di questa infrastruttura di sorveglianza nazionale sono rappresentati dalla rete AR-ISS, focalizzata sul monitoraggio delle resistenze batteriche isolate da siti sterili, e dalla sorveglianza speciale dedicata alle batteriemie causate da Enterobatteri resistenti ai carbapenemi (CRE), entrambe poste sotto il coordinamento dell'Istituto Superiore di Sanità e connesse con il network di sorveglianza europeo EARS-Net [3,8,15].

La modernizzazione del sistema si fonda sulla promozione dell'invio automatico dei dati da parte dei laboratori di microbiologia clinica distribuiti sul territorio e sull'adozione della tecnologia di sequenziamento dell'intero genoma (*Whole Genome Sequencing* - WGS) per la tipizzazione molecolare avanzata dei patogeni, un approccio indispensabile per consentire la rilevazione tempestiva di microrganismi "ALERT" e l'identificazione precoce di focolai epidemici e outbreak intraospedalieri [8,15]. Sul piano assistenziale, viene prevista la messa a regime del sistema informativo PREMAL per la notifica obbligatoria delle infezioni correlate all'assistenza, consentendo di associare i dati di isolamento microbiologico con i profili clinici e demografici dei pazienti ricoverati [15].

Sotto il profilo ecologico e ambientale, infine, il piano introduce l'espansione del monitoraggio sistematico dei residui antibiotici e dei relativi geni di resistenza (ARGs) all'interno dei bacini idrici e delle acque reflue urbane ed ospedaliere attraverso l'approccio epidemiologico basato sulle acque di scarico (*Wastewater-based epidemiology* - WBE), valorizzando e riconvertendo le reti analitiche già attivate nel corso della sorveglianza ambientale del virus SARS-CoV-2 [15].

## Prevenzione e Controllo delle Infezioni (IPC): dati di recepimento in Italia

La riduzione della trasmissione crociata e della disseminazione clonale dei patogeni resistenti all'interno dei luoghi di cura rappresenta il fulcro operativo delle strategie di Infection Prevention and Control (IPC) promosse dal piano attraverso programmi standardizzati [1,15]. L'effettivo stato di recepimento e l'applicazione di queste direttive all'interno del panorama ospedaliero italiano per acuti sono documentati dai dati epidemiologici di processo e di struttura rilevati dall'Istituto Superiore di Sanità nell'ambito dello studio nazionale PPS3 [8].

Gli indicatori statistici evidenziano che il 94,00% delle strutture ospedaliere censite ha adottato strategie multimodali strutturate per l'implementazione e la diffusione degli interventi e delle buone pratiche di IPC [8]. Sotto il profilo della pianificazione aziendale, il 79,93% degli ospedali dispone di un piano annuale IPC formalmente ratificato dalla Direzione Generale o dalla Direzione Sanitaria, mentre il 75,27% dei nodi assistenziali produce rapporti consuntivi annuali dedicati all'analisi dei programmi di controllo e all'andamento delle infezioni interne [8]. La stabilità organizzativa è testimoniata dal fatto che il 90,04% delle strutture applica le proprie strategie preventive avvalendosi del contributo continuo di un team multidisciplinare stabile dedito al rischio infettivo [8].

L'igiene delle mani si consolida come un indicatore chiave di performance (KPI) per la sicurezza delle cure; nei monitoraggi istituzionali condotti all'interno della Regione Europea dell'OMS, la disponibilità di sistemi strutturati per la verifica della *compliance* degli operatori a questa pratica ha fatto registrare un incremento, passando dal 28,6% al 64,3% delle strutture e stabilizzandosi come uno standard minimo sul territorio italiano [8,15]. Infine, sotto l'aspetto delle risorse umane specialistiche dedicate, i dati del PPS3 documentano una dotazione mediana nazionale pari a 1,37 infermieri specialisti nel rischio infettivo espressi in equivalente a tempo pieno (FTE) ogni 250 posti letto attivi, affiancati da una quota mediana di 2,16 dirigenti medici (FTE) ogni 1.000 posti letto dedicati alle funzioni di IPC [8].

## Formazione del personale sanitario e strategie multidisciplinari

L'area della formazione e dell'addestramento continuo si configura nel PNCAR come un intervento trasversale obbligatorio, finalizzato ad accrescere le competenze e la consapevolezza dei professionisti sanitari rispetto alla gestione del rischio biologico, in sintonia con gli obiettivi del Piano Nazionale della Prevenzione (PNP) [15]. Questo sforzo educativo beneficia del supporto finanziario e strutturale della Missione 6 del Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza (PNRR), la quale ha permesso l'attivazione di un piano straordinario di formazione sulle infezioni ospedaliere finalizzato al coinvolgimento di circa 150.000 operatori, prevedendo

un'ulteriore estensione per altri 140.000 professionisti entro la metà del 2026 [8,15]. L'obbligatorietà di questi percorsi è vincolata all'acquisizione di crediti formativi ECM specifici focalizzati sulle tematiche del contrasto all'antibiotico-resistenza, sull'uso razionale degli antimicrobici e sull'applicazione delle precauzioni standard di isolamento nei setting di cura [15].

A livello delle singole aziende sanitarie e ospedaliere, il PNCAR prescrive la costituzione obbligatoria di Gruppi Operativi (GO-CIO) e comitati multidisciplinari stabili, concepiti come lo strumento primario per garantire una *governance* integrata del rischio clinico infettivo; queste strutture hanno il compito di unire e far cooperare in modo sinergico specialistici in igiene e sanità pubblica, infettivologi, microbiologi e farmacisti ospedalieri per l'allineamento dei programmi di IPC e delle azioni di stewardship antibiotica [8,15].

In un'ottica di medio e lungo periodo, il piano prevede l'integrazione strutturale dei principi del paradigma One Health all'interno dei curricula formativi universitari dei corsi di laurea delle professioni sanitarie, affiancando a tale misura l'erogazione di monografie informative e corsi obbligatori sull'uso corretto e sulla gestione prescrittiva dei farmaci antibiotici dedicati specificamente ai Medici di Medicina Generale (MMG) e ai Pediatri di Libera Scelta (PLS) operanti sul territorio [15].

## Capitolo 3: *Candida auris*

### Inquadramento microbiologico e tassonomico

#### Caratteristiche biologiche e distinzione dalle altre *Candida* spp.

Dal punto di vista morfologico e strutturale, *Candida auris* si presenta microscopicamente come un lievito gemmante di forma ovoidale, con dimensioni cellulari comprese tra 2,5 e 5  $\mu\text{m}$  [19]. Il comportamento fenotipico si caratterizza per l'incapacità di formare tubi germinativi, determinando una costante negatività al relativo test differenziale rapido [19]. A differenza della maggior parte delle specie dello stesso genere, questo microrganismo non produce vere ife o pseudoife; tuttavia, in condizioni di stress biochimico o in determinati profili genetici di clade, può manifestare forme rudimentali di pseudofilamentizzazione [19].

Una delle peculiarità biologiche più rilevanti di *Candida auris* è la sua elevata termotolleranza, che le consente una crescita ottimale a temperature oscillanti tra 40°C e 42°C [18]. Questa proprietà termofila ne agevola la persistenza all'interno degli ecosistemi nosocomiali, aumentandone la trasmissione, e si configura come un marker differenziale cruciale in sede di diagnostica colturale rispetto alla quasi totalità delle altre specie di *Candida* filogeneticamente correlate [19].

Sui terreni di isolamento tradizionali, come il Sabouraud Dextrose Agar, il lievito sviluppa colonie lisce dal colore bianco-crema del tutto aspecifico, mentre su terreni cromogenici differenziali, come il CHROMagar Candida, assume colorazioni variabili tra il viola pallido, il beige e il rosa chiaro [19]. Risulta quindi evidente come *Candida auris* non possa essere identificata con certezza mediante il solo esame morfologico o l'osservazione microscopica diretta [19].

I sistemi biochimici e fenotipici automatizzati convenzionali comunemente impiegati nei laboratori di microbiologia, quali Vitek-2, BD Phoenix, MicroScan e le gallerie API, presentano gravi limiti di accuratezza che conducono a frequenti errori di classificazione [19]. Nello specifico, il patogeno viene spesso scambiato per specie appartenenti al complesso *Candida haemulonii*, o confuso con entità tassonomiche quali *Candida famata*, *Candida sake*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Rhodotorula* spp. [19]. Attualmente, lo standard diagnostico per una corretta attribuzione di specie richiede l'applicazione della spettrometria di massa MALDI-TOF, a patto che il profilo specifico di *Candida auris* sia aggiornato nel database dello strumento, oppure il sequenziamento genetico mirato di regioni altamente conservate del DNA, come i geni 18S e 28S del rDNA o le regioni degli spaziatori trascritti interni ITS1 e ITS2 [19].

## I cinque cladi genetici e distribuzione geografica

Le indagini filogenetiche condotte tramite il sequenziamento dell'intero genoma hanno dimostrato l'emergenza quasi simultanea e indipendente di cinque cladi genetici distinti in aree geografiche ben definite [19]. Questa divergenza genomica attesta che il microrganismo non si è propagato a livello globale a partire da un unico focolaio epidemico, bensì è emerso autonomamente in contesti continentali diversi mediante fenomeni di evoluzione parallela [19].

La mappatura internazionale permette di caratterizzare cinque linee filogenetiche principali, a partire dal Clade I, definito Sudasiatico, che è il principale responsabile dei vasti focolai registrati in India e Pakistan. Questa linea manifesta una stretta associazione epidemiologica con elevati tassi di resistenza intrinseca ai triazoli, in particolare verso il fluconazolo, mostrando una marcata propensione allo sviluppo di profili di multi-resistenza [19]. Il Clade II, o Estasiatico, identificato per la prima volta nel condotto uditivo esterno di un paziente in Giappone, si differenzia nettamente per una minore attitudine a causare infezioni sistemiche o invasive e per il mantenimento di un profilo fenotipico generalmente più sensibile ai farmaci antifungini [19]. Il Clade III, denominato Sudafricano, si distingue per una spiccata tendenza all'aggregazione cellulare, nota come fenotipo aggregante, una caratteristica strutturale che ne aumenta la persistenza sulle superfici inerti e ne influenza i meccanismi di virulenza, a fronte di profili di suscettibilità ai farmaci ampiamente variabili [19]. Il Clade IV, o Sudamericano, isolato prevalentemente in Colombia e Venezuela, risulta fortemente correlato a gravi epidemie nosocomiali ed è gravato da una diffusa resistenza al fluconazolo [19]. Infine, il Clade V, corrispondente alla linea filogenetica Iraniana, rappresenta l'identificazione più recente, essendo stato isolato in pazienti residenti in Iran privi di storia di viaggi internazionali o contatti transfrontalieri, fornendo la prova definitiva dell'emergenza geografica autoctona del patogeno [19].

Su scala globale, l'impatto clinico e terapeutico di questo lievito è amplificato dal fatto che circa il 90% degli isolati complessivi esprime una resistenza costitutiva al fluconazolo [19]. Il fenomeno della multi-resistenza farmacologica è estremamente comune ed è guidato dall'isolamento frequente di ceppi capaci di manifestare una resistenza simultanea e combinata alle tre principali classi di antifungini oggi disponibili, ovvero azoli, echinocandine e amfotericina B, riducendo o azzerando le opzioni terapeutiche praticabili al letto del paziente [19].

In ambito continentale, i dati del report di prevalenza puntuale dell'ECDC evidenziano che la frequenza relativa di *Candida auris* nei setting ospedalieri per acuti europei si mantiene su livelli contenuti, rappresentando lo 0,02% del totale dei microrganismi isolati nel contesto delle

infezioni correlate all'assistenza [3]. Ciononostante, lo straordinario potenziale epidemico del fungo, unito alla complessità delle manovre di eradicazione e decontaminazione ambientale nei reparti di cura, impone un livello di allerta massimo, qualificando questo patogeno come un bersaglio a priorità assoluta per le reti di sorveglianza epidemiologica sia internazionali sia nazionali, in perfetto accordo con le direttive strategiche del Piano Nazionale di Contrasto dell'Antimicrobico-Resistenza [7,15].

## Storia ed emergenza epidemiologica

L'analisi della parabola evolutiva di *Candida auris* rivela un passaggio rapido da una dimensione di latenza biologica a una colonizzazione pervasiva e multi-resistente degli ambienti nosocomiali su scala globale.

### Il primo isolamento ufficiale (2009): Tokyo

La specie è stata descritta ufficialmente per la prima volta nel 2009, a seguito dell'isolamento di un singolo ceppo dal condotto uditivo esterno di una paziente di 70 anni ricoverata presso il Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital [20]. L'isolato originario è stato successivamente catalogato presso le collezioni biologiche internazionali con la sigla CBS 10913T, noto anche nei circuiti di ricerca come JCM 15448T o DSM 21092T [20].

In questa fase iniziale, il patogeno è stato considerato un isolato raro e privo di una reale rilevanza clinica sistemica [20]. Sebbene fosse già stata documentata la sua capacità di sostenere la crescita a una temperatura di 40°C — proprietà condivisa con specie spiccatamente patogene come *Candida albicans* —, l'effettivo potenziale invasivo del microrganismo rimaneva da chiarire, poiché le evidenze immediate lo associavano esclusivamente a campioni di secrezione auricolare non invasiva [20].

### Le scoperte retrospettive (1996): Corea del Sud

Nonostante la formalizzazione tassonomica sia avvenuta alla fine del primo decennio degli anni Duemila, successivi studi di sorveglianza retrospettiva hanno retrodatato la presenza epidemiologica del fungo [19]. L'isolato più antico oggi documentato è stato identificato in Corea del Sud all'interno di una collezione storica di emocolture congelate risalenti al 1996 [19].

Queste evidenze dimostrano che *Candida auris* circolava nel panorama assistenziale in modo silente ben prima della sua identificazione ufficiale [19]. Tale fenomeno di latenza epidemiologica è stato favorito da sistematici disallineamenti diagnostici, all'interno dei quali

il patogeno veniva misconosciuto o erroneamente identificato a causa delle limitazioni tecnologiche e biochimiche che caratterizzavano i laboratori di microbiologia dell'epoca [19].

### La transizione epidemiologica globale (2010-2015)

Negli anni compresi tra il 2010 e il 2015 si è assistito a una rapidissima escalation internazionale, contrassegnata dalla comparsa simultanea di cluster nosocomiali in cinque diversi continenti [19]. I flussi epidemiologici di questo periodo documentano l'insorgenza di isolamenti e focolai complessi in Asia (India, Pakistan, Kuwait e Oman), in Africa (Sudafrica e Kenya) e in America Latina (Colombia e Venezuela) [19].

Questo schema di insorgenza sincrona ha superato i modelli epidemiologici tradizionali basati sulla diffusione clonale da un singolo punto di origine [19]. Le analisi genomiche condotte sugli isolati hanno infatti confermato la presenza di quattro macro-cladi filogeografici nettamente distinti, dimostrando un fenomeno di emergenza parallela, indipendente e spontanea in differenti regioni del mondo, piuttosto che una singola introduzione capostipite seguita da diffusione transfrontaliera [19]. In questo arco temporale si è assistito a un radicale cambio di paradigma clinico: *Candida auris* ha cessato di manifestarsi come mero isolato auricolare superficiale per configurarsi come agente eziologico di gravi infezioni ematiche invasive (candidemie) gravate da spiccata multi-resistenza [19].

### Gli alert internazionali e la priorità sanitaria

La presa di coscienza delle principali agenzie di sanità pubblica si è consolidata a partire dalla metà degli anni 2010 [19]. Nel dicembre del 2016, l'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) ha pubblicato la sua prima valutazione rapida del rischio (*Rapid Risk Assessment*), emanando un aggiornamento formale nell'aprile del 2018 in risposta a un incremento esponenziale dei casi nel territorio europeo, trainato da focolai prolungati e di difficile controllo all'interno di strutture sanitarie nel Regno Unito e in Spagna [19].

Il patogeno è stato elevato al rango di priorità sanitaria critica in virtù di una capacità biologica pressoché unica rispetto alle altre specie del genere *Candida*: l'attitudine a trasmettersi per via orizzontale, sia da paziente a paziente sia tramite la mediazione degli operatori sanitari, e a persistere tenacemente sulle superfici inerti dell'ambiente ospedaliero [19]. Questa combinazione di fattori rende i cluster nosocomiali estremamente refrattari alle misure standard di igienizzazione e biocontenimento [19]. Entro il 2017, le reti ufficiali di sorveglianza continentale hanno censito un totale di 620 casi distribuiti in sei paesi dell'area UE/SEE, sancendo la definitiva transizione di *Candida auris* da eccezione medica a minaccia endemica strutturata per i sistemi sanitari moderni [19].

## Epidemiologia di *Candida auris*

### Epidemiologia globale ed europea

*Candida auris* si configura come un patogeno fungino emergente la cui prima identificazione ufficiale risale al 2009 in Giappone [20]. Dalla sua descrizione tassonomica, il microrganismo ha fatto registrare una rapida espansione epidemiologica internazionale, arrivando a interessare oltre 40 paesi distribuiti in sei continenti [20].

In ambito europeo, i flussi della rete di sorveglianza coordinati dall'ECDC evidenziano una marcata asimmetria geografica nell'incidenza dei casi [19]. Nella finestra temporale tra il 2013 e il 2017, sono stati censiti complessivamente 620 casi all'interno di 6 paesi dell'Unione Europea (UE), mostrando tuttavia una concentrazione massiva in Spagna (388 casi) e nel Regno Unito (221 casi), a fronte di segnalazioni puramente sporadiche nel resto degli Stati membri [19].

Secondo i dati dell'ultimo report di prevalenza puntuale (PPS) dell'ECDC relativo al periodo 2022-2023, il valore espresso da *C. auris* sul totale delle infezioni correlate all'assistenza (ICA) documentate per via microbiologica si attesta sullo 0,02% [3]. Sebbene la frequenza relativa globale dei ceppi appartenenti al genere *Candida* spp. abbia fatto registrare una lieve flessione — passando dal 5,2% del biennio 2016-2017 al 4,7% nel periodo 2022-2023, sotto la costante dominanza di *Candida albicans* (2,5%) e *Candida glabrata* (0,8%) —, l'emergenza specifica di *C. auris* desta il massimo livello di allerta [3]. Tale urgenza non è legata alla sua prevalenza assoluta, bensì al profilo di multi-resistenza farmacologica e alla capacità di persistenza biologica sulle superfici inanimate e nei setting assistenziali, fattori che ne determinano l'attitudine a generare epidemie nosocomiali prolungate e di difficile eradicazione [3].

### Epidemiologia in Italia e impatto del COVID-19

Nel contesto italiano, l'emergenza pandemica da SARS-CoV-2 ha esercitato il ruolo di potente catalizzatore biologico e logistico per la diffusione e il consolidamento di *Candida auris* [15,21]. Il Piano Nazionale di Contrasto dell'Antimicrobico-Resistenza (PNCAR 2022-2025) evidenzia come la pressione straordinaria sui servizi sanitari durante le fasi critiche della pandemia abbia parzialmente compromesso l'efficacia dei programmi standard di prevenzione e sorveglianza delle ICA [15]. Questo fenomeno è stato esacerbato da un incremento dell'utilizzo intensivo di terapie antibiotiche ad ampio spettro, unito a oggettive difficoltà operative nella gestione dei flussi di isolamento all'interno dei reparti di degenza [15].

Le indagini cliniche condotte a Genova da Briano et al. hanno permesso di quantificare l'impatto di questa sovrapposizione sindemica, dimostrando che il 59% dei pazienti ospedalizzati in terapia intensiva (ICU) e risultati colonizzati da *C. auris* presentava una coinfezione

concomitante da COVID-19 [21]. L'analisi dettagliata dei fattori di rischio e delle determinanti cliniche che hanno guidato l'esplosione epidemica del patogeno include la saturazione dei reparti e l'elevato carico assistenziale: l'iper-afflusso e il superamento costante delle capacità nominali di occupazione delle ICU hanno ridotto i tassi di aderenza ai protocolli routinari di *infection control* [21].

Ha contribuito inoltre l'alterazione dei protocolli di *Infection Prevention and Control* (IPC), poiché la necessità di dare priorità assoluta ai dispositivi di protezione individuale (DPI) per via aerea ha indotto un rilassamento involontario dell'attenzione verso le precauzioni da contatto e l'igiene delle mani [21]. Infine, si sommano i fattori clinici e iatrogeni predisponenti: l'impiego sistematico di terapie immunomodulatrici e corticosteroidi per il trattamento delle polmoniti severe da SARS-CoV-2, associato a un'elevata esposizione a manovre invasive — con l'applicazione della ventilazione meccanica nel 96% dei soggetti e la presenza di un catetere venoso centrale (CVC) nel 100% della coorte analizzata —, ha ridotto le barriere immunitarie e anatomiche dei pazienti critici [21]. In questo specifico subset di pazienti, lo studio ha identificato la colonizzazione multisito come l'unico predittore clinico indipendente per la transizione verso lo stato di candidemia invasiva, evento occorso nel 50% dei soggetti precedentemente colonizzati [21].

#### Il caso Liguria: dal caso indice all'outbreak

La ricostruzione epidemiologica del più vasto cluster epidemico documentato nel Nord Italia ha inizio nel luglio del 2019, mese in cui è stato identificato il caso indice presso l'Ospedale Policlinico San Martino IRCCS di Genova, in un paziente privo di elementi anamnestici rilevanti legati a viaggi all'estero [22,23]. Le indagini di epidemiologia molecolare hanno stabilito la stretta affiliazione del ceppo con la linea filogenetica del Clade I (lineaggio Sudasiatico) [23]. A seguito di una iniziale fase caratterizzata esclusivamente da segnalazioni sporadiche, nel febbraio del 2020 è stata documentata la circolazione attiva di *C. auris* all'interno di una ICU interamente dedicata a pazienti affetti da forme severe di COVID-19, evento che ha segnato l'innesco di una catena di trasmissione orizzontale accelerata [23].

I dati epidemiologici definitivi pubblicati nello studio di Sticchi et al. indicano che, nel periodo compreso tra luglio 2019 e dicembre 2022, il network di sorveglianza ha registrato un totale cumulativo di 361 casi distribuiti all'interno di 17 strutture sanitarie appartenenti alla rete assistenziale interregionale [23]. La mappatura analitica evidenzia precisi indicatori epidemiologici e clinici, a partire dalla distribuzione geografica regionale, che vede la Regione Liguria come epicentro dell'outbreak con 297 casi accertati (82,3% del totale), seguita dal

Piemonte con 48 casi (13,3%), dall'Emilia-Romagna con 15 casi (4,2%) e dal Veneto con un singolo caso segnalato [23].

Sotto il profilo dello stato clinico e del fenotipo di presentazione, è emersa una netta prevalenza dei soggetti unicamente colonizzati (91,8%) rispetto ai pazienti che hanno sviluppato un'infezione ematica o tissutale invasiva, pur a fronte di un rischio di progressione verso la candidemia sistemica elevato nei pazienti critici [23]. Per quanto riguarda la mortalità e i profili di suscettibilità microbiologica, il tasso di letalità grezza registrato nel corso dell'epidemia è stato elevato, facendo registrare 146 decessi, corrispondenti al 40,4% della coorte complessiva dei pazienti infetti o colonizzati [23]. Sotto il profilo della suscettibilità *in vitro*, le verifiche hanno confermato che l'85,7% dei ceppi testati esprimeva una resistenza conclamata al fluconazolo [23].

Le dinamiche evolutive di questo macro-outbreak sono state condizionate dall'estrema complessità delle manovre di biocontenimento e bonifica ambientale, all'interno delle quali il trasferimento programmato o d'urgenza di pazienti colonizzati tra diverse istituzioni sanitarie ha agito da vettore epidemiologico primario per la dispersione inter-struttura e interregionale del patogeno [23].

## Patogenesi e fattori di virulenza

### Formazione del biofilm e persistenza ambientale

*Candida auris* manifesta una spiccata propensione biologica alla colonizzazione stabile di superfici abiotiche e dispositivi medici invasivi, con un tropismo elettivo per i cateteri venosi centrali, i cateteri urinari e le apparecchiature sanitarie condivise all'interno dei reparti, quali termometri, sfigmomanometri e pulsossimetri [19]. La capacità di strutturare una contaminazione ambientale diffusa e refrattaria rappresenta un tratto distintivo del patogeno: il fungo è in grado di sopravvivere inalterato sulle superfici inerti dei setting ospedalieri per diverse settimane, agendo da serbatoio permanente e alimentando outbreak nosocomiali complessi che possono prolungarsi per oltre un anno [19].

Per quanto concerne l'interazione con le superfici biotiche, *C. auris* dimostra l'attitudine a colonizzare in modo tenace la cute dei pazienti ospedalizzati, prediligendo i distretti corporei caratterizzati da maggiore umidità, quali l'incavo ascellare e la regione inguinale [19]. Questa persistenza è strettamente connessa a una resistenza intrinseca del microrganismo nei confronti dei protocolli standard di igienizzazione ospedaliera [19]. È ampiamente documentato come il fungo sia tollerante all'azione biocida dei disinfettanti comunemente impiegati a base di composti di ammonio quaternario; tale evidenza impone l'adozione di protocolli di eradicazione

ambientale basati su agenti chimici significativamente più aggressivi, quali le soluzioni a base di cloro alla concentrazione di 1000 ppm o il perossido di idrogeno [19]. Questa combinazione sinergica tra resilienza ai biocidi e capacità di aderenza ai dispositivi medici costituisce il driver epidemiologico primario per i fenomeni di trasmissione orizzontale inter-paziente [19].

### Evasione immunitaria e termotolleranza

Tra le determinanti patogenetiche e i fattori di virulenza più critici espressi da *Candida auris*, la termotolleranza straordinaria occupa una posizione di primo piano nel differenziare questo micete da altri lieviti correlati [19,20]. Il patogeno esibisce un profilo di crescita ottimale in un range di temperatura compreso tra 37°C e 40°C, preservando la piena capacità di replicazione cellulare attiva anche a 42°C, mentre il blocco definitivo della vitalità e della cinetica replicativa si registra esclusivamente al raggiungimento dei 45°C [20]. Sotto il profilo clinico, questa flessibilità termica non solo favorisce la colonizzazione e la persistenza sulla cute umana, ma garantisce al fungo un vantaggio selettivo cruciale, permettendogli di proliferare senza subire l'effetto inibitorio dei quadri febbrili sistemici scatenati dall'ospite [20].

In merito alle dinamiche di interazione con l'ospite e di evasione immunitaria, le evidenze dimostrano come *C. auris* colpisca in via elettiva e prevalente soggetti defedati, caratterizzati da severe patologie croniche sottostanti o da stati di marcata immunosoppressione, con particolare incidenza in pazienti affetti da HIV, neoplasie ematologiche o diabete mellito scompensato [19]. Tale distribuzione suggerisce un'elevata capacità del patogeno di sfruttare selettivamente le breccie e le disfunzioni del sistema immunitario cellulare e umorale dell'ospite per innescare quadri invasivi fungini, la cui virulenza complessiva e letalità — nei modelli di infezione sistemica — si sono dimostrate sperimentalmente sovrapponibili e paragonabili a quelle storicamente espresse da *Candida albicans* [19].

### Fenotipi aggreganti e non aggreganti

Dal punto di vista morfologico e microscopico, le cellule vegetative di *Candida auris* si presentano con una struttura tipicamente ovoidale, ellissoidale o moderatamente allungata, con dimensioni cellulari medie stabili di  $2,0-3,0 \times 2,5-5,0 \mu\text{m}$  [20]. Un elemento di fondamentale rilevanza sul piano tassonomico e diagnostico differenziale è rappresentato dalla totale incapacità del fungo di produrre pseudoife o strutture filamentose stabili, anche a seguito di protocolli di incubazione microbiologica estremamente prolungati, fino a 59 giorni consecutivi [20]. Questo criterio morfologico consente di distinguere nettamente *C. auris* da altre specie fungine filogeneticamente e fenotipicamente vicine, quali quelle appartenenti al complesso *Candida haemulonii* [20].

Al microscopio, le cellule del patogeno possono disporsi in forma singola, in coppie gemmanti o organizzarsi in ammassi e gruppi cellulari tridimensionali compatti [20]. Questa tendenza nativa alla formazione di macro-aggregati cellulari descritta in sede di isolamento costituisce la base biologica del fenotipo aggregante [20]. Sebbene i ceppi isolati possano variare nella tendenza a separarsi o meno dopo la divisione mitotica, la coesistenza e la transizione tra queste diverse modalità organizzative cellulari rappresentano un fattore chiave nella biologia del patogeno, la cui capacità di strutturarsi in cluster cellulari compatti concorre a potenziarne la persistenza e la stabilità complessiva nei setting assistenziali [19,20].

## Correlazione clinica e fattori di rischio

### Determinanti di suscettibilità e profili dei pazienti a rischio

L'identikit clinico del paziente esposto a *Candida auris* è quello di un soggetto criticamente compromesso, caratterizzato da quadri complessi e degenze prolungate in setting ad alta intensità di cure [15,21]. L'analisi dei determinanti di suscettibilità evidenzia una convergenza di fattori iatrogeni, assistenziali e intrinseci che favoriscono l'acquisizione e la successiva invasività del patogeno [19,21].

L'esposizione a presidi invasivi e procedure mediche rappresenta il principale fattore di rischio assistenziale [19]. I dati dello studio clinico condotto presso l'Ospedale Policlinico San Martino IRCCS di Genova da Briano et al. mostrano una prevalenza del 100% (157/157) di cateteri venosi centrali (CVC) e del 96% (150/157) di ventilazione meccanica invasiva nella popolazione colonizzata [21]. Altri presidi includono cateteri urinari, alimentazione parenterale totale (47%) e terapie sostitutive renali continue (CRRT, 40%) [21].

A questo si somma la pressione selettiva farmacologica: la pregressa o concomitante terapia con antibiotici ad ampio spettro, rilevata nel 97% dei casi, facilita l'emergenza di lieviti multiresistenti come *C. auris* [15,21]. Altrettanto rilevante è l'uso di corticosteroidi, presente nel 74% dei pazienti analizzati, e di altri immunomodulatori che, specialmente nel contesto della pandemia da COVID-19, hanno agito da catalizzatore per la diffusione del fungo [15,21].

Il profilo del paziente a rischio comprende inoltre precise comorbidità principali, tra cui spiccano il diabete mellito (23%), l'insufficienza renale cronica, le malattie cardiache (7,6%) e le neoplasie sia solide che ematologiche [19,21]. Anche i disturbi neurologici si sono dimostrati una comorbidità frequente, interessando il 19% della casistica nel Nord Italia [23]. Sotto il profilo demografico, si osserva una netta prevalenza del genere maschile, che rappresenta tra il 66,3% e il 71% dei casi analizzati, con un'età mediana dei soggetti colpiti di circa 64 anni [21,23].

## Diagnosi differenziale tra colonizzazione e infezione attiva

La distinzione tra lo stato di colonizzazione e quello di infezione attiva costituisce un pilastro della gestione clinica, data la peculiare biologia di *Candida auris* e la sua attitudine a persistere nei setting assistenziali [19].

Lo stato di colonizzazione si definisce come l'isolamento del fungo da siti anatomici non sterili, quali cute, ascella, inguine, retto, urine o aspirati tracheali, in totale assenza di segni clinici sistemici di malattia o risposta infiammatoria correlata [19]. Questo stato è estremamente comune e rappresenta il principale serbatoio per la trasmissione orizzontale all'interno dell'ambiente ospedaliero [19]. Secondo lo studio epidemiologico di Sticchi et al., la colonizzazione è nettamente prevalente, riguardando il 91,8% del totale dei casi rilevati nel macro-outbreak settentrionale [23]. La persistenza ambientale e la documentata resistenza ai disinfettanti comuni rendono questa condizione difficile da eradicare, portandola a perdurare talvolta per mesi [19].

L'infezione attiva è caratterizzata invece dall'isolamento di *C. auris* da siti normalmente sterili, principalmente tramite emocolture (candidemia), con associata risposta infiammatoria sistemica o quadro di sepsi conclamata [19]. La candidemia da *C. auris* comporta una mortalità intra-ospedaliera elevata, stimata dalla letteratura e dai report internazionali in un range compreso tra il 30% e il 60% [19].

In merito ai predittori di progressione clinica, lo studio clinico genovese ha monitorato l'evoluzione dei pazienti critici in ICU, rilevando che il 17% dei soggetti inizialmente colonizzati ha successivamente sviluppato almeno un episodio di candidemia, con un rischio cumulativo di progressione biologica che supera il 25% a 60 giorni dalla prima rilevazione di screening [21].

Un dato clinico di cruciale importanza emerso dall'analisi multivariata riguarda il ruolo della colonizzazione multisito, definita come la presenza del fungo in più di un sito non sterile e riscontrata nel 50% dei pazienti. Essa rappresenta l'unico predittore indipendente per lo sviluppo di candidemia invasiva, con un Adjusted Hazard Ratio (aHR) pari a 9,67 [21]. Questo parametro dimostra che un elevato carico fungino e la diffusione della colonizzazione sulla superficie corporea predispongono direttamente all'invasione ematica nel paziente critico, rendendo stringente il monitoraggio colturale preventivo nei reparti d'origine [21].

## Diagnosi microbiologica in laboratorio

### Metodiche biochimiche convenzionali e limiti di identificazione

L'identificazione di *Candida auris* mediante sistemi fenotipici e biochimici convenzionali è storicamente gravata da elevati tassi di errore diagnostico, determinati principalmente dall'impiego di database di riferimento commerciali non aggiornati [19]. Le piattaforme automatizzate e manuali comunemente utilizzate nei laboratori di microbiologia clinica — tra cui VITEK 2, BD Phoenix, MicroScan e i sistemi a strisce reattive come il pannello API 20C AUX — tendono a identificare erroneamente sistematicamente questo patogeno emergente [19]. Le misidentificazioni più frequenti coinvolgono specie filogeneticamente correlate o fenotipicamente sovrapponibili: *Candida haemulonii* rappresenta il fenotipo di errore più comune, seguita da *Candida famata*, *Candida sake*, *Saccharomyces cerevisiae* e da specie afferenti al genere *Rhodotorula* [19].

Sul piano morfofisiologico, *C. auris* si caratterizza per l'assenza di produzione del tubulo germinativo (*germ-tube negative*) e per l'incapacità di strutturare pseudoife o forme filamentose, anche dopo protocolli di incubazione particolarmente prolungati [20]. Se coltivato su terreni differenziali cromogenici come il CHROMagar Candida, il lievito sviluppa colonie macroscopicamente distinguibili per una colorazione che varia dal viola pallido al beige o al rosa [19].

Un marker fisiologico cruciale per l'orientamento diagnostico preliminare è lo spiccato profilo di termotolleranza: il microrganismo esibisce infatti una cinetica di crescita ottimale tra 37°C e 40°C, preservando la capacità di replicarsi attivamente fino a 42°C [20]. Questa proprietà biologica ne permette la discriminazione rispetto alle altre specie del complesso *C. haemulonii*, generalmente incapaci di svilupparsi a tali temperature [20]. L'intrinseca inadeguatezza dei sistemi biochimici standard ha storicamente mascherato la presenza della specie nei setting assistenziali, ritardando l'adozione delle necessarie misure di *Infection Prevention and Control* (IPC), favorendo la trasmissione orizzontale e la cronicizzazione dei focolai nosocomiali [19,23].

### Identificazione mediante MALDI-TOF MS

La tecnologia di spettrometria di massa MALDI-TOF (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight*) rappresenta l'attuale gold standard fenotipico per un'identificazione microbiologica rapida, efficiente e accurata di *Candida auris* direttamente da isolato colturale [19]. Questa metodologia consente di superare i limiti dei test biochimici

tradizionali, discriminando con assoluta precisione *C. auris* dalle specie del complesso *C. haemulonii* e da *Candida ruelliae* [19].

L'accuratezza diagnostica resta tuttavia subordinata alla presenza di database aggiornati che integrino lo spettro proteico specifico dei diversi cladi di *C. auris*, un requisito vincolante sia per la piattaforma Bruker Biotyper sia per il sistema bioMérieux VITEK MS [19]. Le procedure operative richiedono inoltre l'esecuzione di un protocollo di estrazione proteica sul campione biologico, passaggio essenziale per garantire la stabilità e la qualità dello spettro di massa ottenuto [19]. L'affidabilità di questo strumento trova riscontro epidemiologico nella gestione del macro-outbreak del Nord Italia, all'interno del quale la tecnologia MALDI-TOF ha costituito il dispositivo diagnostico predominante, impiegato per la tipizzazione dell'88,7% dei casi complessivi registrati dalla rete di sorveglianza [23].

#### Diagnostica molecolare e strategie di screening rapido

Le metodiche basate sull'amplificazione e sull'analisi degli acidi nucleici offrono i massimi livelli di sensibilità e specificità nell'identificazione di *Candida auris* [19]. Il sequenziamento di loci genici target altamente conservati — nello specifico il dominio D1/D2 della subunità ribosomiale 28S e le regioni spacer trascritti interni ITS (*Internal Transcribed Spacer 1 e 2*) — costituisce l'approccio metodologico definitivo per la conferma tassonomica di specie e per la mappatura dei principali cladi filogeografici mondiali [19,20]. Per l'amplificazione mirata di tali regioni genomiche, i protocolli prevedono l'impiego di coppie di primer specifici, tra cui i set ITS1/ITS4 e 28SF1/635 [20].

Oltre alle tecniche di sequenziamento genico, sono validati e applicati saggi di PCR (compresa la PCR real-time) e sistemi diagnostici avanzati, quali il saggio T2Candida, in grado di rilevare il fungo sia da colonia isolata sia direttamente da campioni biologici complessi [19]. L'implementazione di queste strategie di screening molecolare è fondamentale per l'attivazione di programmi di sorveglianza attiva e per il tracciamento dei contatti stretti nei reparti a rischio ICA [19].

I protocolli prevedono il campionamento sistematico di siti anatomici multipli, evidenziando una sensibilità biologica particolarmente elevata per i tamponi eseguiti a livello dei distretti ascellare e inguinale [19]. Altri siti raccomandati per lo screening includono la mucosa rettale, il rinofaringe, l'orofaringe e i punti di inserzione cutanea dei cateteri vascolari invasivi [19]. L'adozione sistematica di test molecolari rapidi permette di abbattere drasticamente i tempi di refertazione microbiologica, consentendo l'immediata applicazione delle coorti di isolamento

dei pazienti e l'avvio delle procedure straordinarie di decontaminazione ambientale necessarie a prevenire la strutturazione di outbreak nosocomiali prolungati [19].

## Terapia antifungina e profili di resistenza

### Opzioni terapeutiche e linee guida attuali

L'approccio terapeutico standard per le infezioni invasive da *Candida auris*, in particolare nei quadri di candidemia sistemica, è severamente limitato dal profilo di multi-resistenza (*Multi-Drug Resistance*, MDR) intrinseco o acquisito che caratterizza questo patogeno emergente [15,19].

Le linee guida internazionali ed europee raccomandano l'impiego delle echinocandine (anidulafungina, caspofungina e micafungina) quale terapia empirica iniziale di prima scelta [19]. I dati clinici italiani confermano che la maggior parte degli isolati ematici originari mantiene una conservata suscettibilità verso questa classe di farmaci [15,21]. Le indagini condotte sul macro-outbreak del Nord Italia evidenziano infatti che la totalità degli isolati biologici associati al primo episodio di candidemia presentava valori di concentrazione minima inibente (MIC) indicativi di sensibilità alle echinocandine, con una MIC<sub>50</sub> stabile di 0,12 mg/L [23].

Al contrario, l'uso clinico degli azoli, e in particolare del fluconazolo, è controindicato e inefficace [19], poiché oltre il 90% dei ceppi isolati a livello globale e nazionale esprime una resistenza costitutiva o precocemente acquisita a questa molecola [19,23].

Restrizioni terapeutiche critiche si registrano anche per i polieni [19]. Sebbene l'amfotericina B liposomiale rappresenti un'opzione di salvataggio, il suo impiego è penalizzato da una potenziale nefrotossicità e da tassi di resistenza fenotipica significativi [19]. Questo riscontro trova conferma nello studio monocentrico condotto da Briano et al. presso l'Ospedale Policlinico San Martino IRCCS di Genova, dove il 56% degli isolati ematici analizzati è risultato resistente all'amfotericina B, con valori di MIC<sub>50</sub> e MIC<sub>90</sub> attestati a 2 mg/L [21].

La gestione clinica delle forme di candidemia ricorrente o persistente delinea scenari complessi legati all'insorgenza di resistenze secondarie indotte *in vivo* alle stesse echinocandine, con ceppi capaci di sviluppare per via adattiva una MIC alla caspofungina pari a 4 mg/L [21]. Tali evenienze azzerano l'efficacia della monoterapia, rendendo necessario il ricorso a strategie di combinazione farmacologica, come l'associazione sinergica di anidulafungina e flucitosina [21].

## Meccanismi biochimici e genetici di resistenza agli antifungini

La refrattarietà farmacologica di *C. auris* è orchestrata da precisi meccanismi molecolari e biochimici che alterano o inattivano i target strutturali delle tre classi di antifungini impiegate nella pratica clinica [19].

La resistenza verso il fluconazolo mostra tassi di incidenza elevati nel panorama epidemiologico italiano, come confermato dai monitoraggi regionali del Nord Italia, dove ha interessato l'85,7% degli isolati clinici analizzati [23]. Il determinante genetico primario risiede nella selezione di mutazioni puntiformi a carico del gene *ERG11*, il locus deputato alla codifica dell'enzima lanosterolo 14-alfa-demetilasi [19]. Sostituzioni amminoacidiche mirate, quali i pattern mutazionali Y132F e K143R, determinano una riconfigurazione sterica del sito di legame enzimatico che impedisce l'ancoraggio del farmaco, preservando la via biosintetica dell'ergosterolo [19].

Questo blocco è ulteriormente amplificato dall'iperespressione concomitante di trasportatori transmembrana responsabili dell'efflusso attivo del farmaco dal citoplasma; a tale meccanismo cooperano sia le pompe della superfamiglia ABC (*ATP-Binding Cassette*), regolate dal gene *CDRI*, sia i trasportatori della superfamiglia dei facilitatori maggiori (MFS), codificati dal gene *MDRI* [19].

Il meccanismo biochimico alla base della resistenza all'amfotericina B è invece correlato ad alterazioni qualitative e quantitative nella composizione lipidica della membrana citoplasmatica del lievito [19]. I ceppi resistenti attivano una via metabolica compensatoria che induce una drastica riduzione della concentrazione assoluta di ergosterolo o la sua parziale sostituzione con precursori sterolici intermedi a bassa affinità per i polieni [19]. Questa mancata interazione molecolare impedisce la formazione dei pori idrofilici transmembrana indotti dal farmaco, salvaguardando l'integrità osmotica e prevenendo la lisi della cellula fungina [19].

La resistenza alle echinocandine riconosce una precisa base genetica mediata da mutazioni strutturali all'interno di regioni altamente conservate, denominate domini *hot-spot*, del gene *FKSI* [19]. Questo locus codifica per la subunità catalitica maggiore dell'enzima 1,3-beta-D-glucano sintetasi, target deputato alla sintesi del polimero essenziale della parete cellulare [19].

Tra i determinanti documentati, la sostituzione amminoacidica S639F riveste un ruolo clinico critico, conferendo una resistenza fenotipica di alto livello e configurandosi come il principale driver molecolare per l'emergenza di ceppi pan-resistenti a tutte e tre le classi di antifungini [19]. L'acquisizione *in vivo* di queste mutazioni nel corso di trattamenti prolungati determina

un impatto severo sulla prognosi del paziente, concorrendo in modo diretto al raggiungimento del tasso di letalità intra-ospedaliera grezza del 40,4% registrato nella casistica italiana [21,23].

## Strategie di Prevenzione e Controllo delle Infezioni (IPC)

### Screening microbiologico e sorveglianza attiva dei contatti

L'identificazione tempestiva dei portatori asintomatici rappresenta il cardine fondamentale per prevenire la diffusione epidemiologica di *Candida auris* all'interno dei contesti assistenziali [19]. La strategia di screening deve prevedere l'esecuzione sistematica di colture di sorveglianza attiva per tutti i contatti stretti di un caso indice rilevato [19]. Per massimizzare la resa diagnostica complessiva, le raccomandazioni internazionali indicano come siti anatomici di campionamento a massima priorità l'esecuzione di tamponi a livello ascellare e inguinale [19].

L'indagine microbiologica deve essere estesa, sulla base della valutazione clinica del rischio, ad altri siti potenzialmente colonizzati quali il distretto retto-fecale, il naso e il cavo orofaringeo, includendo nel monitoraggio anche i siti di inserzione e uscita dei cateteri vascolari o dei dispositivi di drenaggio, nonché campioni biologici clinici quali urine e secrezioni dell'albero respiratorio [19].

Per garantire l'efficacia di queste misure, è necessario implementare protocolli procedurali di *contact tracing* estesi, strutturati su una valutazione analitica caso per caso che consideri la tipologia di popolazione ospitata e l'intensità della colonizzazione del caso segnalato [19]. In contesti epidemici conclamati, si raccomanda di mantenere una frequenza del monitoraggio serrata, eseguendo lo screening a cadenza settimanale di tutti i contatti fino a due settimane successive alla dimissione dell'ultimo paziente risultato positivo [19]. Questo controllo stringente si rivela essenziale per interrompere le catene di trasmissione silente, ampiamente facilitate dalla persistenza prolungata del patogeno sulle superfici inanimate e sulla cute dell'ospite [19].

### Misure di isolamento e gestione del paziente colonizzato/infetto

La gestione clinica e logistica del paziente colonizzato o infetto da *C. auris* impone l'adozione rigorosa e immediata di misure di isolamento da contatto potenziate [19]. Sotto il profilo delle misure strutturali e organizzative, le direttive nazionali del PNCAR e i report europei dell'ECDC stabiliscono la necessità vincolante di collocare il paziente in una stanza singola dotata di servizio igienico dedicato o, qualora non fosse logisticamente possibile, di procedere con l'isolamento di coorte per i soli pazienti positivi [15,19].

A questa disposizione deve associarsi una corretta allocazione del personale: al fine di azzerare il rischio di trasmissione crociata orizzontale, è fortemente raccomandato l'impiego esclusivo di personale infermieristico e assistenziale dedicato alla coorte o al singolo isolamento [15,19]. Per quanto concerne la durata delle precauzioni, le misure da contatto devono essere mantenute inalterate per l'intera permanenza del paziente, data l'attuale assenza di protocolli standardizzati e universalmente efficaci per la decolonizzazione cutanea o mucosa del portatore [19].

Un'analisi critica del contesto pandemico recente nei setting ad alta intensità di cure (ICU) ha ampiamente dimostrato come i fenomeni di saturazione dei reparti e l'elevato carico assistenziale gravante sugli operatori abbiano gravemente compromesso la tenuta dei protocolli IPC standard [21]. Il focus prioritario e la deviazione delle risorse verso i dispositivi di protezione individuale (DPI) di tipo respiratorio hanno indotto un rilassamento involontario delle precauzioni da contatto, portando a pratiche inappropriate quali il riutilizzo prolungato di camici e guanti protettivi, fattori che hanno direttamente guidato la massiva disseminazione nosocomiale di *C. auris* [21].

Un ulteriore elemento critico è rappresentato dal rischio associato ai trasferimenti inter-struttura, poiché i flussi di pazienti colonizzati o infetti tra diverse strutture della rete sanitaria costituiscono un primario vettore epidemiologico per la dispersione geografica dell'outbreak [23]. Diventa pertanto obbligatorio che la struttura sanitaria cedente provveda a notificare preventivamente lo stato epidemiologico del portatore alla struttura ricevente, garantendo l'attivazione immediata delle misure di isolamento e dei protocolli di screening all'atto dell'ammissione [23].

#### Protocolli di decontaminazione ambientale e scelta dei disinfettanti

La straordinaria capacità biologica di *Candida auris* di persistere per settimane sulle superfici ambientali inanimate e sui dispositivi medici riutilizzabili condivisi — quali termometri ascellari, sfigmomanometri e monitor multiparametrici — rende la sanificazione un elemento economico e organizzativo critico per il controllo delle infezioni nosocomiali [19]. Le indagini microbiologiche e di suscettibilità chimica hanno evidenziato l'inadeguatezza dei disinfettanti convenzionali, dimostrando la totale inefficacia dei presidi standard a base di composti di ammonio quaternario, il cui utilizzo deve essere tassativamente evitato nella gestione e nella bonifica delle aree contaminate o occupate dal patogeno [19].

La decontaminazione ambientale, sia essa ordinaria o terminale, richiede l'implementazione di protocolli chimici efficaci eseguiti impiegando esclusivamente agenti dotati di provata attività fungicida specifica [19]. I protocolli operativi estratti dalle linee guida includono l'applicazione

obbligatoria di soluzioni a base di cloro con una concentrazione minima attiva di 1000 ppm [19].

Per le procedure di disinfezione terminale delle stanze di degenza viene indicato l'impiego del perossido di idrogeno, utilizzabile anche in forma gassosa o vaporizzata, mentre l'uso del povidone-iodio è raccomandato per i protocolli di antisepsi mirata laddove clinicamente indicato [19].

Infine, sotto il profilo della gestione dei dispositivi e del *reprocessing*, è da preferire sistematicamente l'adozione di strumenti di tipo monouso [19]. Qualora sia clinicamente indispensabile l'impiego di attrezzature riutilizzabili, queste devono essere dedicate in via esclusiva al singolo paziente isolato o alla specifica coorte, venendo successivamente sottoposte a rigorosi processi di rigenerazione e sterilizzazione secondo le specifiche tecniche del produttore, impiegando i medesimi agenti chimici fungicidi sopra menzionati [19].

## Obiettivi dello studio

A partire da febbraio 2020, l'Ospedale Policlinico San Martino di Genova ha registrato un incremento significativo degli isolamenti di *Candida auris*, delineando un outbreak all'interno delle aree critiche.

Il presente lavoro si configura come uno studio osservazionale monocentrico e retrospettivo a lungo termine (maggio 2020 – maggio 2026), focalizzato esclusivamente sui pazienti ricoverati nell'U.O. Clinica Anestesiologica e Terapia Intensiva.

L'obiettivo principale della ricerca è caratterizzare sotto il profilo demografico, clinico, diagnostico e terapeutico la popolazione colpita, analizzando i determinanti associati all'infezione o colonizzazione e agli esiti clinici finali.

Nello specifico, lo studio si articola nei seguenti obiettivi secondari:

- Analizzare l'età e il sesso dei pazienti
- Verificare la prevalenza dello stato di intubazione e del pregresso intervento chirurgico.
- Valutare l'impiego di cateteri venosi centrali (CVC), periferici (CVP) e cateteri vescicali, analizzando la frequenza di tutte le loro combinazioni come potenziali fattori di esposizione o complicanza.
- Stratificare l'andamento epidemiologico dell'outbreak in fasi temporali distinte, al fine di isolare l'impatto della pandemia da SARS-CoV-2 e dell'introduzione dello screening molecolare (MOLTA) sulla rilevazione dei casi.
- Studiare la prevalenza della co-infezione da SARS-CoV-2 all'interno della coorte per determinare se la sovrapposizione virale-fungina abbia esercitato un sinergismo nel decesso.

## Materiali e metodi

### Disegno dello studio e popolazione

Il periodo di osservazione si estende da maggio 2020 a maggio 2026, includendo l'intera evoluzione dell'outbreak di *Candida auris* registrato all'interno delle aree assistenziali ad alta intensità di cura.

La popolazione in studio è focalizzata esclusivamente sui pazienti ricoverati nell'U.O. Clinica Anestesiologica e Terapia Intensiva, suddivise nei tre centri di costo:

- UA1/UA1D1
- UA1D3
- UA1D5

Il criterio di inclusione ha previsto l'arruolamento di tutti i soggetti che abbiano presentato almeno un campione biologico positivo per *C. auris* durante il periodo di degenza nelle aree citate, delineando una coorte finale complessiva di 365 pazienti. Trattandosi di uno studio epidemiologico di un outbreak, non sono stati applicati criteri di esclusione clinica o restrittivi, garantendo così la totalità della casistica consecutiva registrata nel periodo stabilito. I dati clinici, demografici e assistenziali sono stati estratti in forma anonimizzata e organizzati tramite la consultazione della documentazione sanitaria elettronica aziendale.

Per la descrizione dell'outbreak, la serie temporale complessiva (maggio 2020 – maggio 2026) è stata suddivisa in tre fasi. Questa segmentazione è stata definita incrociando l'evoluzione del contesto pandemico generale da SARS-CoV-2 con le variazioni nelle metodiche diagnostiche e nei protocolli di sorveglianza adottati dalla struttura:

1. Fase 1 (maggio 2020 – giugno 2021): Periodo coincidente con la fase di emergenza pandemica da SARS-CoV-2 e caratterizzato, sotto il profilo diagnostico, dall'adozione di una strategia di sorveglianza attiva basata esclusivamente sull'esame culturale tradizionale.
2. Fase 2 (luglio 2021 – dicembre 2022): Periodo caratterizzato dalla persistenza del contesto pandemico e dalla concomitante introduzione dello screening molecolare (MOLTA) come metodica diagnostica rapida integrata all'ammissione del paziente.
3. Fase 3 (gennaio 2023 – maggio 2026): Periodo coincidente con la fase post-pandemica di stabilizzazione epidemiologica globale, caratterizzato dal mantenimento a regime delle misure di *infection control* e dal successivo recepimento degli indirizzi normativi ministeriali e regionali emanati nel febbraio 2025.

## Criteri di definizione di caso: infezione versus colonizzazione

Per stratificare correttamente la casistica e garantire l'omogeneità dei dati, i pazienti inclusi sono stati classificati sulla base delle definizioni clinico-microbiologiche stabilite dal Comitato Infezioni Ospedaliere (CIO):

- Paziente colonizzato: Soggetto con isolamento microbiologico di *Candida auris* da siti anatomici non sterili (cute, mucose, vie urinarie o secrezioni respiratorie), in totale assenza di segni clinici, laboratoristici o sistemici di infezione attiva.
- Paziente infetto: Soggetto con riscontro di positività per *C. auris* in siti normalmente sterili (quali emocolture o liquor), oppure da siti non sterili qualora coesista un chiaro quadro sindromico e infiammatorio sistemico dell'ospite, non altrimenti spiegabile da patologie concomitanti.

La distinzione metodologica si è basata quindi sulla combinazione tra la natura del sito di prelievo biologico e la risposta clinica del paziente.

## Diagnostica microbiologica e metodiche di identificazione

L'identificazione di *Candida auris* è stata eseguita dal Laboratorio di Microbiologia dell'Istituto attraverso un percorso diagnostico standardizzato, finalizzato a superare le difficoltà di differenziazione fenotipica di questo patogeno rispetto ad altre specie correlate.

Il protocollo di screening primario ha previsto il prelievo di un tampone cutaneo (eseguito in sede ascellare e inguinale bilaterale) prima di qualsiasi detersione della cute con soluzioni antisettiche, al fine di preservare l'eventuale carica fungina locale. Ciascun campione è stato processato attraverso l'impiego di due metodiche complementari:

- Test molecolare (MOLTA): Protocollo *Molecolare Tampone Auris*, basato sulla metodica *Real-Time PCR* per la ricerca rapida e mirata degli acidi nucleici specifici di *C. auris*. Questa tecnica ha rappresentato lo standard di screening principale per la sorveglianza attiva, consentendo di rilevare il DNA fungino direttamente dal tampone e permettendo l'attivazione tempestiva delle misure di isolamento in reparto.
- Esame colturale (CTCCA): Esame colturale da tampone cutaneo mediante semina e crescita su terreno cromogeno selettivo commerciale *CHROMagar*. In caso di positività al test molecolare MOLTA, il laboratorio ha eseguito automaticamente l'analisi colturale sul medesimo campione per isolare il ceppo vitale e consentire le successive valutazioni di sensibilità farmacologica.

Oltre ai tamponi di sorveglianza, il percorso diagnostico è stato esteso ad altre matrici biologiche in base al sospetto clinico: emocolture, urinocolture, campioni respiratori—broncoaspirato (BAS) e lavaggio broncoalveolare (BAL)—biopsie e tamponi da ferite chirurgiche.

Per l'identificazione finale di specie dagli isolati colturali, il laboratorio ha impiegato la spettrometria di massa MALDI-TOF MS (*Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry*), definita dal protocollo come il metodo più accurato per distinguere *C. auris* da altre specie di *Candida*.

Su tutti gli isolati clinici significativi è stata eseguita la determinazione della Concentrazione Minima Inibente (MIC) per valutare la sensibilità agli antifungini. Per l'interpretazione dei valori di MIC sono stati adottati i breakpoint di resistenza proposti dal CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*), mentre per la determinazione specifica della MIC dell'Amfotericina B il laboratorio ha seguito i criteri di riferimento del CLSI (*Clinical & Laboratory Standards Institute*).

## Protocollo di screening e sorveglianza attiva in reparto

In risposta alla diffusione del microrganismo, il CIO ha aggiornato la prima stesura del 2021 emanando, in data 02/08/2022, la versione definitiva del “Protocollo di gestione della colonizzazione ed infezione da *Candida auris*”, la quale introduce due livelli epidemiologici di sorveglianza microbiologica all'interno del blocco M3 (U.O. Clinica Anestesiologica e Terapia Intensiva):

1. Screening universale all'ingresso: Essendo le aree assistenziali del blocco M3 classificate ad alto rischio, lo screening tramite test MOLTA è stato reso obbligatorio per tutti i pazienti con una permanenza minima in reparto superiore alle 4 ore. La procedura è stata estesa anche ai soggetti provenienti da altri reparti che presentavano fattori di rischio individuali, quali un ricovero in area critica nell'anno precedente, il contatto stretto con pazienti colonizzati o una storia di positività per *C. auris* nei 12 mesi antecedenti.
2. Sorveglianza periodica: Per monitorare l'eventuale trasmissione intra-reparto, i pazienti inizialmente negativi sono stati sottoposti a screening settimanale per l'intera durata della degenza, interrompendo i controlli solo al riscontro della prima positività.

## Misure di Infection Control e profilassi ambientale

Il controllo della trasmissione intra-ospedaliera ha imposto la rigida adozione di misure di isolamento e sanificazione:

- Isolamento del paziente: I soggetti positivi sono stati allocati prioritariamente in stanze singole o, laddove non strutturalmente possibile, in aree dedicate e delimitate da barriere fisiche o tende. È stato consentito l'isolamento di coorte per più pazienti positivi, previa esclusione di altre co-colonizzazioni microbiche. L'assistenza è stata affidata a personale infermieristico dedicato o a un operatore identificato come "responsabile del caso" per ciascun turno.
- Dispositivi di Protezione Individuale (DPI): Gli operatori hanno adottato le precauzioni da contatto, che prevedono l'igiene delle mani con soluzione idroalcolica e l'impiego sistematico di camice monouso e guanti per ogni interazione con il paziente o con l'ambiente circostante.
- Igiene ambientale e delle apparecchiature: Vista l'elevata persistenza ambientale del patogeno, è stata disposta la sanificazione dei reparti due volte al giorno con soluzioni a base di ipoclorito di sodio (al 5% per la pulizia giornaliera e al 10% per la disinfezione terminale). Le apparecchiature biomediche non monouso (come fonendoscopi e sfigmomanometri) sono state dedicate al singolo paziente o decontaminate con derivati del cloro dopo ogni utilizzo.

## Orientamenti terapeutici e gestione dei dispositivi invasivi

Il protocollo ha definito precise linee di condotta per il trattamento farmacologico e per la gestione dei presidi invasivi:

- **Approccio terapeutico:** Il trattamento antifungino sistemico è stato limitato alle infezioni accertate (candidemie) o, in via empirica, ai pazienti colonizzati in condizioni critiche con febbre persistente e molteplici fattori di rischio. La prima linea terapeutica standard è stata rappresentata dalle echinocandine (caspofungina, anidulafungina, micafungina), escludendo il fluconazolo a causa dell'alto tasso di resistenza intrinseca registrato nell'epidemiologia locale. La semplice colonizzazione non ha costituito un'indicazione al trattamento antifungino.
- **Gestione dei device invasivi:** In caso di candidemia, il protocollo ha prescritto la rimozione tempestiva dei cateteri venosi centrali (CVC) o Midline. Nei pazienti con isolamento urinario (candiduria), è stata disposta l'immediata sostituzione del catetere vescicale, condizionando l'esecuzione dei successivi controlli microbiologici al posizionamento del nuovo presidio. Il riscontro di positività dalle vie aeree (BAS/BAL), sebbene classificato come colonizzazione, non ha invece previsto tempistiche vincolanti per la sostituzione del tubo endotracheale.

## Variabili considerate e raccolta dati

Per ciascun paziente incluso nello studio, sono state estratte dalla documentazione clinica informatizzata le seguenti variabili:

- Dati demografici: Età e sesso.
- Dati clinico-assistenziali d'ingresso: Modalità di accesso al reparto (Pronto Soccorso versus trasferimento da altre unità operative) e reparto specifico di degenza (UA1/UA1D1, UA1D3 o UA1D5).
- Fattori di esposizione e procedure invasive: Presenza di intubazione oro-tracheale, anamnesi positiva per interventi chirurgici eseguiti durante il ricovero, utilizzo e combinazione di dispositivi invasivi (CVC, catetere venoso periferico, catetere vescicale).
- Variabili clinico-terapeutiche concomitanti: Presenza di co-infezione da SARS-CoV-2, somministrazione di terapia antibiotica e somministrazione di terapia antifungina durante il ricovero.
- Dati microbiologici: Data della prima identificazione del microrganismo (sia essa infezione o colonizzazione) e tipologia di matrice biologica (es. emocoltura, urinocoltura, campioni respiratori).
- Outcome: Esito del ricovero in terapia intensiva, codificato come dimissione o decesso intra-ospedaliero.

## Analisi statistica

I dati epidemiologici, demografici e clinici sono stati analizzati tramite tecniche di statistica descrittiva. La variabile continua (età) è stata espressa sia come media  $\pm$  deviazione standard (SD) sia come mediana e intervallo interquartile (IQR) o estremi. Le variabili categoriali (sesso, stato di intubazione, pregresso intervento chirurgico, profilo di esposizione ai dispositivi) sono state espresse in frequenze assolute e percentuali.

Per rispondere agli obiettivi specifici dello studio, l'analisi è stata strutturata come segue:

- Caratterizzazione demografica, clinica e dei profili di esposizione: l'analisi dell'età, del sesso, della prevalenza dello stato di intubazione e del pregresso intervento chirurgico è stata eseguita su base descrittiva. Allo stesso modo, l'impiego dei cateteri venosi centrali (CVC), periferici (CVP) e vescicali (CV) è stato valutato calcolando la frequenza assoluta e percentuale di tutte le loro combinazioni, al fine di mappare dettagliatamente il profilo di esposizione complessivo della coorte.
- Analisi della co-infezione da SARS-CoV-2 e sinergismo sul decesso: Per determinare l'impatto della sovrapposizione virale-fungina sulla mortalità intra-ospedaliera, è stata inizialmente valutata l'associazione univariata calcolando l'Odds Ratio (OR) grezzo con il relativo intervallo di confidenza al 95% (IC 95%). Successivamente, per verificare il ruolo indipendente della co-infezione da SARS-CoV-2 al netto dei potenziali fattori confondenti demografici, è stato implementato un modello di regressione logistica binomiale multivariata. Nel modello sono stati inseriti come predittori: sesso, età e stato di co-infezione da SARS-CoV-2, impostando il decesso intra-ospedaliero come variabile dipendente (target).

I valori mancanti sono stati gestiti tramite l'esclusione *pairwise* dalle specifiche analisi. Per tutti i test eseguiti, la significatività statistica è stata fissata per valori di  $p < 0.05$ . Tutti i calcoli statistici sono stati eseguiti utilizzando il software Jamovi.

## Risultati

Nel periodo compreso tra maggio 2020 e maggio 2026, lo studio ha preso in esame un totale di 365 pazienti ricoverati presso U.O. Clinica Anestesiologica e Terapia Intensiva, che hanno mostrato una positività (colonizzazione o infezione) per *Candida auris*.

### Profilo demografico, modalità di accesso e logistica intra-reparto

L'analisi anagrafica della coorte (N = 365) ha evidenziato un'età media di  $59,06 \pm 16,27$  anni.

La distribuzione dei dati, approfondita mediante gli indici di posizione, ha mostrato un valore mediano di 62 anni, con un intervallo interquartile compreso tra 49,5 anni (primo quartile) e 71 anni (terzo quartile).

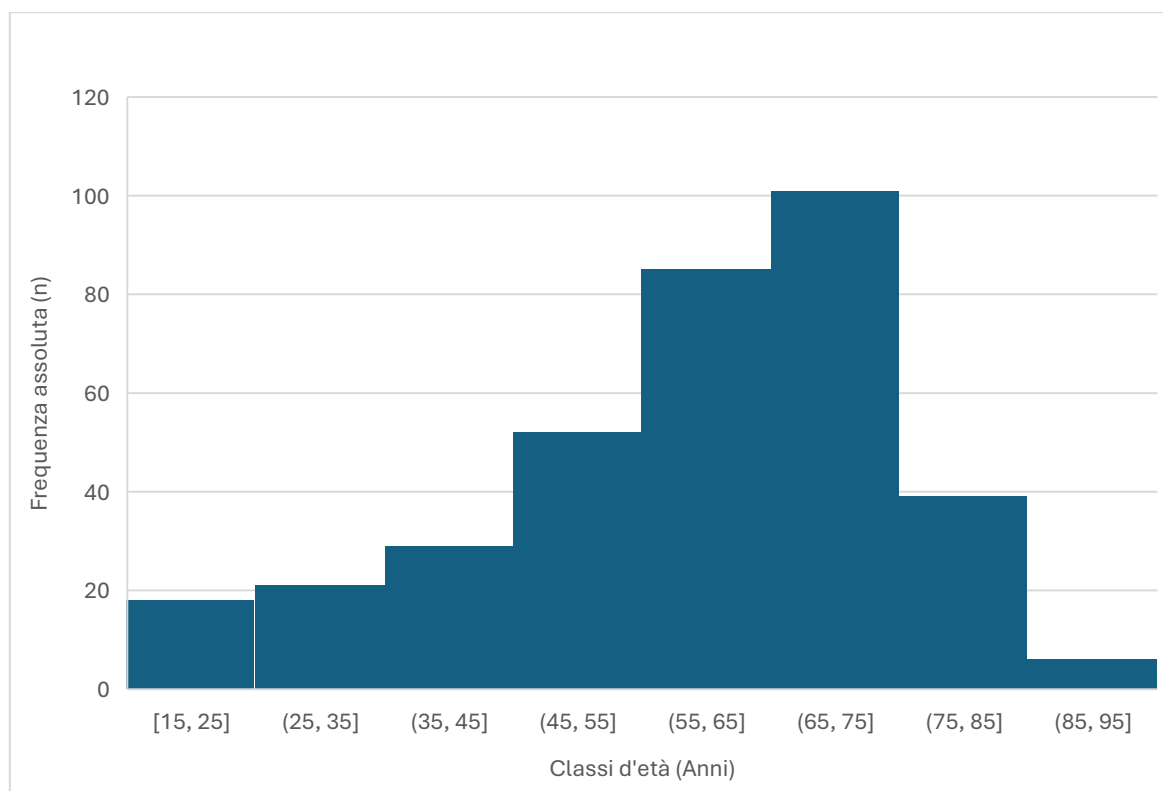
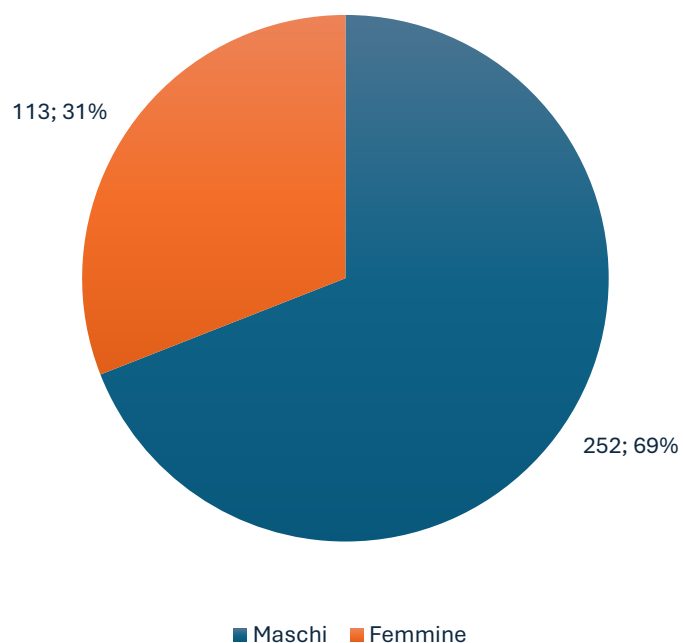


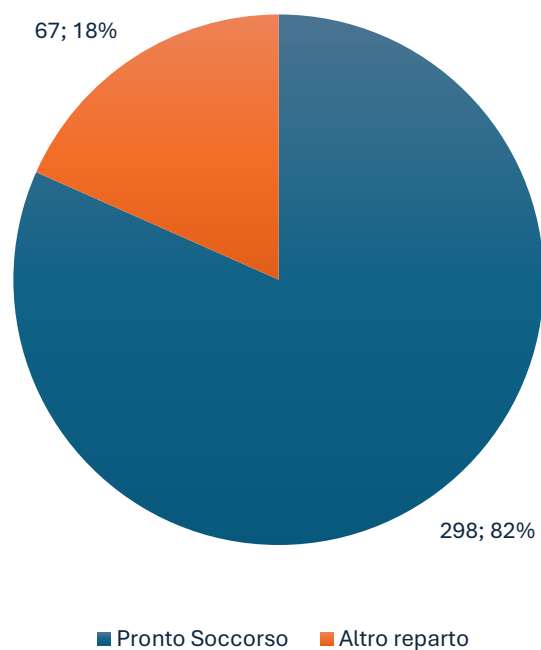
Figura 3: Distribuzione della coorte in base alle classi d'età (N = 365)

Per quanto riguarda la composizione di genere del campione, si è registrata una prevalenza del sesso maschile, che ha interessato il 69,04% dei casi (n = 252) rispetto al sesso femminile, rappresentato dal 30,96% della popolazione in studio (n = 113).



*Figura 4: Distribuzione percentuale per sesso della coorte di pazienti con diagnosi di C. auris (N = 365).*

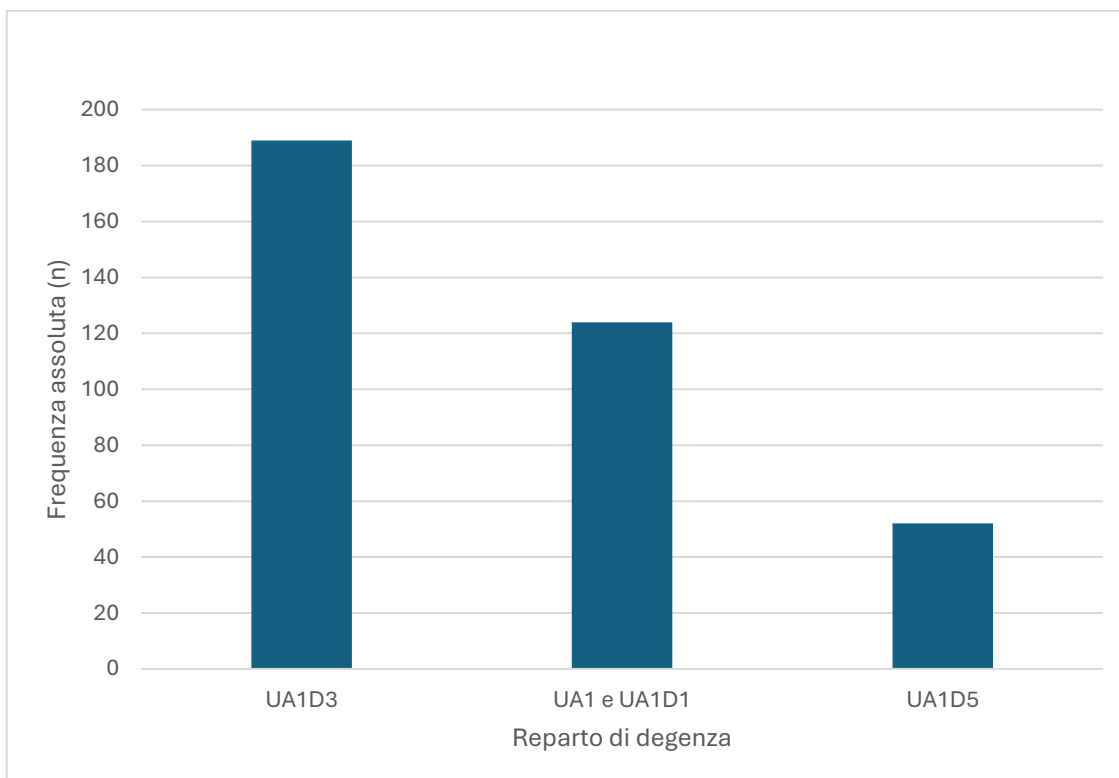
Relativamente alla modalità di ingresso in reparto, 298 pazienti (81,64%) hanno avuto accesso alla terapia intensiva direttamente tramite il Pronto Soccorso, mentre i restanti 67 pazienti (18,36%) sono stati trasferiti internamente da altre unità operative o da altre strutture ospedaliere.



*Figura 5: Modalità di accesso alla struttura ospedaliera (Pronto Soccorso vs. Trasferimenti da altri reparti) (N = 365)*

Dal punto di vista della distribuzione logistica all'interno dell'U.O. Clinica Anestesiologica e Terapia Intensiva, i casi sono stati intercettati nei seguenti codici di reparto:

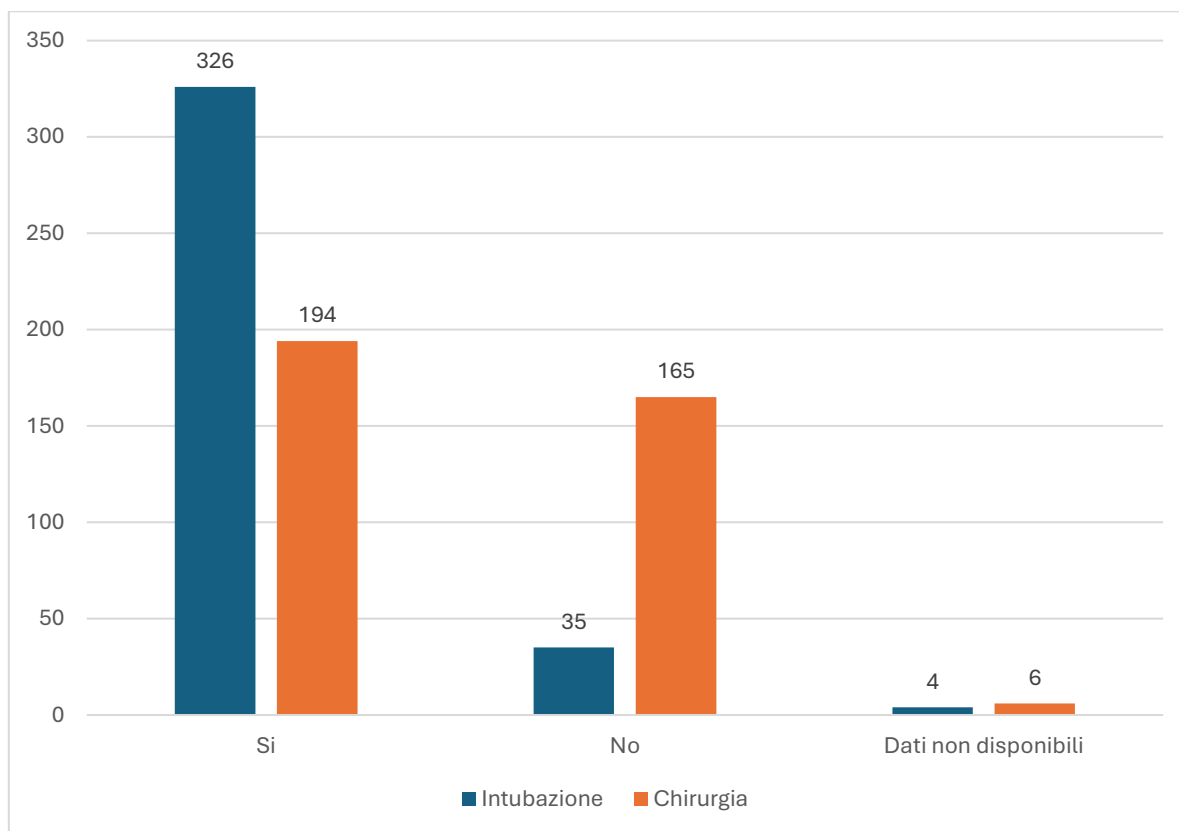
- UA1 / UA1D1: n = 124 (33,97%)
- UA1D3: n = 189 (51,78%)
- UA1D5: n = 52 (14,25%)



*Figura 6: Distribuzione dei pazienti all'interno delle diverse unità operative di degenza (UA1D3, UA1/UA1D1, UA1D5)*

## Profilo clinico, manovre invasive e co-infezioni

Al momento del rilevamento del patogeno o nel corso della degenza in terapia intensiva, la prevalenza dello stato di intubazione tracheale ha riguardato 326 pazienti (89,31%). Un pregresso o recente intervento chirurgico è stato documentato in 194 soggetti (53,15%).



*Figura 7: Indicatori di compromissione clinica e invasività assistenziale nella coorte (N = 365). Valutazione comparativa della prevalenza dello stato di intubazione endotracheale (con ventilazione meccanica invasiva) e della quota di pazienti operati*

Per quanto concerne la presenza di complicanze infettive concomitanti all'ammissione o sviluppate durante il ricovero, la prevalenza della co-infezione da SARS-CoV-2 (COVID-19) ha interessato 82 pazienti (22,47%).

## Analisi dei profili di esposizione ai dispositivi medici invasivi

Al fine di caratterizzare dettagliatamente il livello di esposizione assistenziale della coorte dei 365 soggetti studiati, è stata analizzata la distribuzione simultanea dei tre principali dispositivi in situ (catetere venoso centrale, catetere venoso periferico e catetere vescicale). La mappatura delle combinazioni ha evidenziato le seguenti prevalenze all'interno del campione:

- Presenza simultanea di tutti i presidi (CVC+ / CVP+ / CV+): 90,68% dei casi (n = 331)
- Uso combinato di CVC e CVP (CVC+ / CVP+ / CV-): 1,37% dei casi (n = 5)
- Uso combinato di CVC e CV (CVC+ / CVP- / CV+): 1,64% dei casi (n = 6)
- Presenza esclusiva di CVC (CVC+ / CVP- / CV-): 0,27% dei casi (n = 1)
- Uso combinato di CVP e CV (CVC- / CVP+ / CV+): 4,93% dei casi (n = 18)
- Presenza esclusiva di CVP (CVC- / CVP+ / CV-): 0% dei casi (n = 0)
- Presenza esclusiva di CV (CVC- / CVP- / CV+): 0% dei casi (n = 0)
- Nessun dispositivo presente (CVC- / CVP- / CV-): 0% dei casi (n = 0)
- Dato non disponibile: 1,09% dei casi (n = 4)

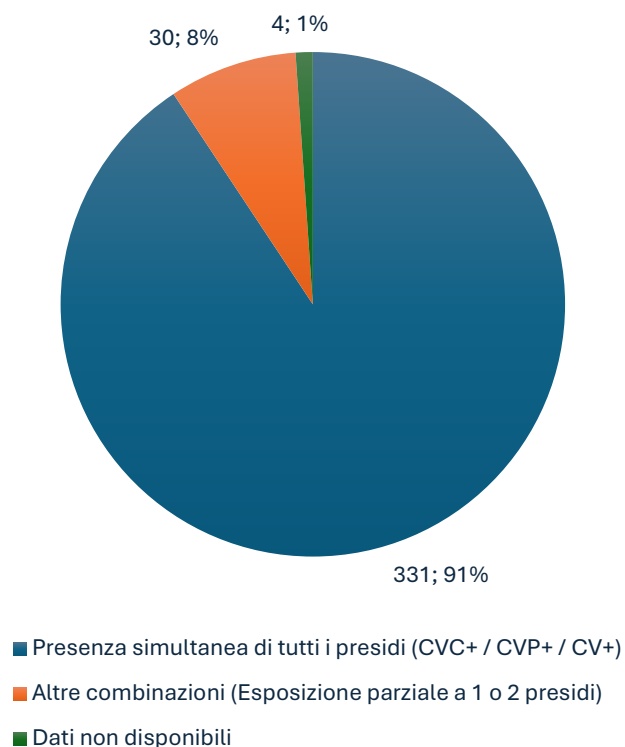


Figura 8: Profilo di esposizione assistenziale ai dispositivi medici invasivi (N = 365). Ripartizione percentuale dei pazienti che presentavano la contemporanea e simultanea presenza di tutti e tre i presidi (Catetere Venoso Centrale, Catetere Venoso Periferico e Catetere Vescicale) rispetto alla quota di soggetti con esposizione parziale.

## Diagnostica microbiologica e materiali biologici

Il monitoraggio e l'identificazione di *Candida auris* sono stati eseguiti confrontando la metodica molecolare e quella colturale standard. La positività dei 365 pazienti è stata intercettata secondo la seguente ripartizione diagnostica:

- Solo tramite test molecolare MOLTA: n = 101 (27,67%)
- Solo tramite Esame Colturale standard: n = 155 (42,46%)
- Positività concomitante ad entrambi i test (MOLTA + Colturale): 109 (29,87%)

Relativamente alla diagnostica dell'albero respiratorio, la distribuzione dei pazienti sottoposti a indagini microbiologiche invasive ha mostrato il seguente andamento:

- Procedure effettuate (BAS/BAL): 36,7% dei casi (n = 134);
- Procedure non effettuate: 57,5% dei casi (n = 210);
- Dato non disponibile: 5,8% dei casi (n = 21).

Relativamente alle indagini colturali, i materiali biologici allestiti in coltura hanno visto la seguente distribuzione di positività:

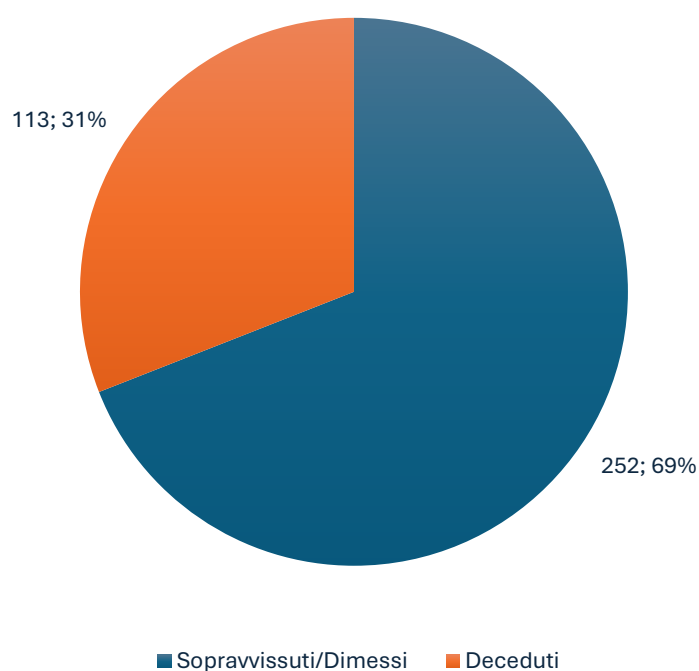
- Sangue (Emocoltura): n = 16 (6,06%)
- Urinocoltura: n = 29 (10,98%)
- Tampone cutaneo: n = 146 (55,30%)
- BAL: n = 23 (8,71%)
- BAS: n = 43 (16,29%)
- Biopsia: n = 1 (0,38%)
- Altro: n = 6 (2,27%)

## Approccio terapeutico ed esito clinico finale (Outcome)

Sul piano delle strategie terapeutiche farmacologiche somministrate ai pazienti durante la degenza, i dati mostrano che:

- Hanno ricevuto almeno una linea di terapia antibiotica: n = 337 (92,33%)
- Hanno ricevuto una terapia antifungina specifica: n = 117 (32,05%)

In merito all'esito clinico finale del ricovero presso l'area critica, il tasso di mortalità intra-ospedaliera (pazienti deceduti) è stato del 30,96% (n = 113), mentre i pazienti sopravvissuti e dimessi dall'U.O. sono stati 252 (69,04%).



*Figura 9: Esito clinico finale e tasso di letalità della coorte (N = 365). Distribuzione percentuale e assoluta dei pazienti sopravvissuti/dimessi rispetto ai soggetti deceduti durante il periodo di degenza ospedaliera.*

Tabella 2: Caratteristiche demografiche, cliniche e assistenziali della popolazione in studio (N = 365).

Variabile	Valore assoluto (n)	Percentuale (%)
Sesso:		
- Maschi	252	69,04%
- Femmine	113	30,96%
Età:		
- Media	59,06	
- Mediana:	62	
Accesso al Pronto Soccorso:	298	81,64%
Accesso da un altro reparto:	67	18,36%
Reparto di degenza:		
- UA1/UA1D1	124	33,97%
- UA1D3	189	51,78%
- UA1D5	52	14,25%
Pazienti intubati:	326	89,31%
Pazienti non intubati:	35	9,59%
Dato non disponibile:	4	1,1%
Pazienti operati:	194	53,15%
Pazienti non operati:	165	45,20%
Dato non disponibile:	6	1,65%
Co-infezione da SARS-CoV-2:		
- Positivo (COVID+)	82	22,47%
- Negativo (COVID-)	281	76,99%
- Dato non disponibile	2	0,55%

<b>Profilo di esposizione ai dispositivi:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- CVC+ / CVP+ / CV+</li> <li>- CVC+ / CVP+ / CV-</li> <li>- CVC+ / CVP- / CV+</li> <li>- CVC+ / CVP- / CV-</li> <li>- CVC- / CVP+ / CV+</li> <li>- CVC- / CVP+ / CV-</li> <li>- CVC- / CVP- / CV+</li> <li>- CVC- / CVP- / CV-</li> <li>- Dato non disponibile</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>331</li> <li>5</li> <li>6</li> <li>1</li> <li>18</li> <li>0</li> <li>0</li> <li>0</li> <li>4</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>90,68%</li> <li>1,37%</li> <li>1,64%</li> <li>0,27%</li> <li>4,93%</li> <li>0%</li> <li>0%</li> <li>0%</li> <li>1,09%</li> </ul>
<b>Metodo di analisi:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Esame colturale:</li> <li>- Tampone molecolare (MOLTA)</li> <li>- Colturali + Tamponi Molecolari</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>155</li> <li>101</li> <li>109</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>42,47%</li> <li>27,67%</li> <li>29,86%</li> </ul>
<b>Materiale biologico in coltura:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tampone cutaneo (CTCCA)</li> <li>- Coltura di broncoaspirato</li> <li>- Coltura di bronco lavaggio</li> <li>- Urinocoltura</li> <li>- Emocoltura</li> <li>- Biopsia di miceti</li> <li>- Altro</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>146</li> <li>43</li> <li>23</li> <li>29</li> <li>16</li> <li>1</li> <li>6</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>55,30%</li> <li>16,29%</li> <li>8,71%</li> <li>10,98%</li> <li>6,06%</li> <li>0,38%</li> <li>2,27%</li> </ul>
<b>Diagnostica dell'albero respiratorio:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Eseguita (BAS/BAL)</li> <li>- Non eseguita</li> <li>- Dati non disponibili</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>134</li> <li>210</li> <li>21</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>36,71%</li> <li>57,53%</li> <li>5,75%</li> </ul>
<b>Terapia Antibiotica:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Somministrata</li> <li>- Non somministrata</li> <li>- Dati non disponibili</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>337</li> <li>23</li> <li>5</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>92,33%</li> <li>6,30%</li> <li>1,40%</li> </ul>

<b>Terapia Antifungina:</b> - Somministrata - Non somministrata - Dati non disponibili	117 241 7	32,05% 66,03% 1,92%
<b>Mortalità intra-ospedaliera:</b> - Sopravvissuti / Dimessi - Deceduti	252 113	69,04% 30,96%

## Andamento temporale della densità di incidenza (2020-2026)

L'analisi della densità di incidenza dei nuovi casi di *Candida auris*, espressa come tasso per 1000 giorni-persona, copre un arco temporale di sei anni (maggio 2020 - maggio 2026) (Figura 10).

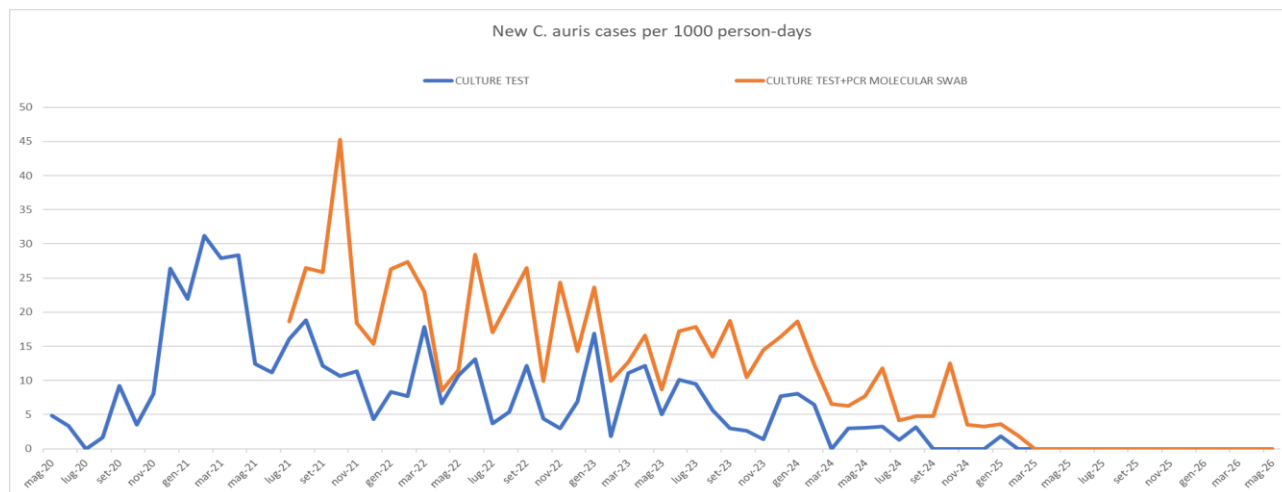


Figura 10: Andamento temporale della densità di incidenza dei nuovi casi di *Candida auris* per 1000 giorni-persona nel periodo compreso tra maggio 2020 e maggio 2026. Analisi comparativa basata sulla strategia diagnostica adottata: esame colturale standard rispetto allo screening combinato tramite colturale e tampone molecolare PCR.

Fase 1 (maggio 2020 - giugno 2021): In questo primo periodo, in cui la rilevazione si basava esclusivamente sull'esame colturale standard (linea blu), la curva mostra una fase iniziale di stabilità seguita da un incremento tra gennaio e marzo 2021, finestra in cui si registra la densità di incidenza massima della fase, pari a circa 31 casi per 1000 giorni-persona.

Fase 2 (luglio 2021 - dicembre 2022): In concomitanza con l'introduzione del protocollo di screening molecolare (MOLTA, linea arancione), si documenta un incremento immediato del tasso di rilevazione. In questa fase si osserva il picco assoluto dell'intero periodo di studio, registrato a ottobre 2021 con circa 45 casi per 1000 giorni-persona. Durante l'intero biennio, la curva molecolare si mantiene costantemente al di sopra della curva colturale, mostrando un andamento fluttuante ma tendente al decremento verso la fine del periodo.

Fase 3 (gennaio 2023 - maggio 2026): Questa fase si apre con la prosecuzione del trend decrescente per entrambe le metodiche diagnostiche, interrotto da picchi minori e ricorrenti fino a gran parte del 2024. A partire dall'ultimo trimestre del 2024 si registra una marcata riduzione dei tassi che conduce, da marzo 2025 fino al più recente aggiornamento dei dati di maggio 2026, al completo azzeramento della densità di incidenza. Il valore si stabilizza a 0 casi per 1000 giorni-persona per un periodo continuativo di quattordici mesi.

## Analisi statistica inferenziale dei determinanti di mortalità

Al fine di stimare rigorosamente l'impatto della sovrapposizione virale-fungina sulla mortalità intra-ospedaliera, l'analisi statistica è stata articolata in due step metodologici sequenziali: una valutazione univariata iniziale, seguita da una modellizzazione tramite regressione logistica multivariata per l'isolamento dei predittori indipendenti.

### Analisi univariata dell'impatto della co-infezione da SARS-CoV-2

In prima istanza, è stata analizzata l'associazione grezza tra lo stato di co-infezione da SARS-CoV-2 e l'esito clinico finale del paziente (Sopravvissuto/Deceduto) su un campione di 349 soggetti per i quali il dato risultava simultaneamente disponibile (Tabella 4).

*Tabella 4: Tabella di analisi univariata della mortalità in base allo stato di co-infezione da SARS-CoV-2.*

	Negativi per SARS-CoV-2	Positivi per SARS-CoV-2	Totale
Sopravvissuti / Dimessi	202	38	240
% di riga	84,2%	15,8%	100,0%
Deceduti	68	41	109
% di riga	62,4%	37,6%	100,0%
Totale	270	79	349
% globale	77,4%	22,6%	100,0%

- Test Chi-quadro: 20,31 (gdl = 1) |  $p < 0,001$
- Odds Ratio Grezzo (OR): 3,21 | Intervallo di Confidenza (IC 95%): 1,91 – 5,39

I dati emersi dalla tabella di contingenza evidenziano un significativo impatto della sovrapposizione virale-fungina sul tasso di letalità: all'interno del gruppo dei pazienti co-infetti da SARS-CoV-2, il tasso di mortalità intra-ospedaliera ha raggiunto il 51,9% (41 deceduti su 79 positivi), a fronte di un tasso del 25,2% (68 deceduti su 270) documentato tra i pazienti negativi per l'infezione virale. Il test del Chi-quadro certifica l'elevata significatività statistica di tale distribuzione ( $p < 0,001$ ). Il calcolo dell'Odds Ratio univariato indica, in termini grezzi, che i pazienti con concomitante positività a SARS-CoV-2 presentavano probabilità di mortalità intra-ospedaliera 3,21 volte superiori rispetto alla controparte negativa per l'infezione virale (IC 95%: 1,91 – 5,39).

### Modello di regressione logistica binomiale multivariata

Identificata la forte associazione in sede univariata, si è proceduto all'implementazione di un modello di regressione logistica multivariata. Tale passaggio si è reso necessario per verificare se l'effetto della co-infezione sul decesso persistesse in modo indipendente, ovvero al netto dell'influenza di potenziali fattori di confondimento demografici assunti *a priori*, quali il sesso biologico e l'età anagrafica. Il modello ha restituito una misura di adattamento (R-quadro di McFadden) pari a 0,0951 che, pur inferiore al range ottimale (0,2-0,4), conferma l'elevata significatività dei predittori individuati, quali la co-infezione da SARS-CoV-2 e il sesso biologico. Al contempo, tale valore riflette la natura spiccatamente multifattoriale della mortalità in Terapia Intensiva, la cui varianza dipende anche da ulteriori parametri clinico-assistenziali non inclusi nel modello (Tabella 5).

*Tabella 5: Modello di regressione logistica multivariata per l'identificazione dei predittori indipendenti di mortalità intra-ospedaliera (N = 349).*

Predittore Clinico/Demografico	Odds Ratio (OR)	Intervallo di Confidenza (IC 95%) Inferiore	Intervallo di Confidenza (IC 95%) Superiore	Valore di p
Co-infezione SARS-CoV-2 (Sì vs. No)	2,87	1,65	4,99	< 0,001
Sesso biologico (Maschi vs. Femmine)	3,47	1,83	6,57	< 0,001
Età (per anno di incremento)	0,99	0,97	1,00	0,165

I risultati della regressione multivariata confermano come la co-infezione da SARS-CoV-2 conservi un ruolo prognostico negativo indipendente ed estremamente significativo: al netto dell'età e del sesso, la presenza attiva del virus incrementa di quasi tre volte le probabilità di esito infausto, associandosi a un Odds Ratio aggiustato pari a 2,87 (IC 95%: 1,65 – 4,99;  $p < 0,001$ ).

Il modello evidenzia, inoltre, come il sesso biologico maschile costituisca il più potente determinante indipendente di letalità all'interno della coorte, risultando associato a un rischio di decesso oltre tre volte superiore rispetto al sesso femminile (OR = 3,47; IC 95%: 1,83 – 6,57;  $p < 0,001$ ). Al contrario, il fattore età, inserito nel calcolo per correggere l'eventuale peso

dell'immunosenescenza, non ha mostrato un impatto statisticamente significativo sulla mortalità intra-ospedaliera all'interno del campione in esame (OR = 0,99; IC 95%: 0,97 – 1,00; p = 0,165).

## Discussione dei risultati

### Analisi delle caratteristiche demografiche

La caratterizzazione demografica della popolazione in studio evidenzia una netta e predominante prevalenza del sesso maschile, che interessa il 69,04% della coorte (252 pazienti) a fronte del 30,96% di sesso femminile (113 pazienti), come rappresentato nel grafico a ciambella (Figura 4).

La popolazione colpita mostra un'età media di 59,06 anni e una mediana di 62 anni. La distribuzione per classi d'età, illustrata nell'istogramma di frequenza (Figura 3), evidenzia una concentrazione dei soggetti prevalentemente nelle fasce d'età superiori alla sesta decade di vita.

Questo riscontro epidemiologico è coerente con i dati epidemiologici internazionali relativi a *C. auris*, che identificano nei soggetti di sesso maschile e in età avanzata la popolazione a maggior rischio [19]. La convergenza tra il valore medio e quello mediano depone per una distribuzione simmetrica dell'età attorno ai 60 anni, una fascia della popolazione intrinsecamente vulnerabile a causa dell'immunosenescenza e della frequente coesistenza di comorbidità croniche stabili.

### Modalità di ospedalizzazione e distribuzione nei reparti di degenza

L'analisi delle modalità di ammissione nella struttura ospedaliera (Figura 5) evidenzia come la stragrande maggioranza dei pazienti abbia eseguito l'accesso tramite il Pronto Soccorso (81,64%, n = 298), mentre solo il 18,36% (n = 67) è transitato per trasferimento da altre unità operative o istituti. Tale riscontro riflette un'elevata pressione assistenziale in regime di urgenza/emergenza, un contesto critico in cui la tempestiva applicazione delle misure di isolamento da contatto e gli screening attivi per patogeni emergenti possono presentare notevoli difficoltà logistiche.

Per quanto concerne la distribuzione nei setting di cura (Figura 6), oltre la metà dei pazienti è stata ospitata presso l'unità operativa UA1D3 (51,18%, n = 189), seguita dall'unità UA1/UA1D1 (33,97%, n = 124) e, in quota minore, dall'UA1D5 (14,25%, n = 52).

## Prevalenza di intubazione e chirurgia nella coorte in esame

I parametri clinici analizzati descrivono la frequenza e la distribuzione dei trattamenti di intubazione e chirurgia all'interno della popolazione di pazienti arruolati (Figura 7). La prevalenza del ricorso alla ventilazione meccanica invasiva tramite intubazione endotracheale è quasi totalizzante, interessando l'89,31% della coorte (326 pazienti), con appena il 9,59% (n = 35) di soggetti non intubati (dato non disponibile nell'1,1% dei casi). Parallelamente, il 53,15% della popolazione (n = 194) presenta un'anamnesi positiva per un pregresso intervento chirurgico durante il ricovero.

La letteratura scientifica identifica da tempo l'intubazione prolungata e il trauma chirurgico come i principali determinanti della vulnerabilità ospedaliera, in grado di indurre una soluzione di continuità nelle barriere anatomiche e un profondo stato di immunodepressione locale e sistemica [6]. Questo connubio clinico definisce la coorte non come una popolazione ospedaliera eterogenea, bensì come un gruppo selezionato di pazienti ad altissima intensità di cure, tipico delle unità di terapia intensiva e rianimazione.

## Profilo di esposizione ai dispositivi medici invasivi

La mappatura dei presidi medici invasivi applicati alla coorte (Figura 8) corrobora il profilo di elevata complessità e documenta un dato epidemiologico macroscopico: il 90,68% dei pazienti (n = 331) presentava la contemporanea presenza di un catetere venoso centrale (CVC), un catetere venoso periferico (CVP) e un catetere vescicale (CV), configurando il profilo combinato CVC+ / CVP+ / CV+.

Le restanti combinazioni parziali si attestano su percentuali del tutto marginali (tra cui il profilo CVC- / CVP+ / CV+ al 4,93% e il CVC+ / CVP- / CV+ all'1,64%), mentre per l'1,10% dei casi (4 pazienti) il dato non è risultato disponibile nei registri clinici. Si sottolinea come nessun paziente sia risultato completamente privo di dispositivi invasivi all'atto della rilevazione.

L'esposizione massiva e simultanea a molteplici accessi vascolari e urinari costituisce il substrato biologico ideale per la colonizzazione da parte di *C. auris*. Questo micete possiede infatti una spiccata attitudine alla sintesi di biofilm extracellulare sulle superfici polimeriche dei dispositivi plastici, un fattore che non solo ne impedisce l'eradicazione meccanica e farmacologica, ma facilita lo shift clinico da una condizione di semplice colonizzazione cutaneo-mucosa a una candidemia sistemica franca [17].

## Orientamento terapeutico e tasso di mortalità intra-ospedaliera

Sotto il profilo terapeutico, emerge un ricorso pressoché sistematico alla terapia antibiotica, somministrata al 92,33% della coorte (n = 337). L'ampio e prolungato utilizzo di regimi antibiotici rappresenta un noto fattore predisponente per l'insorgenza di micosi opportunistiche, a causa della riduzione della flora batterica commensale protettiva dell'ospite [4,23]. La terapia antifungina è stata somministrata al 32,05% dei soggetti (n = 117). Questo dato riflette una precisa linea guida clinica, volta a distinguere l'isolamento del microrganismo da un sito non sterile — espressione di una semplice persistenza locale e priva di correlati sintomatologici — dallo sviluppo di un quadro infettivo vero e proprio, sia esso d'organo o sistemico, per il quale risulta invece mandatorio l'avvio del trattamento farmacologico.

Infine, l'outcome clinico primario documenta un tasso di mortalità intra-ospedaliera grezza del 30,96% (113 decessi su 365), a fronte di un 69,04% (n = 252) di pazienti dimessi o sopravvissuti (Figura 9). Si tratta di una letalità decisamente severa, ma sovrapponibile ai dati epidemiologici globali che stimano la mortalità associata a *C. auris* nei soggetti fragili e critici in un range compreso tra il 30% e il 60% [19].

## Analisi dei trend temporali e impatto dello screening molecolare

La ricostruzione della cinetica dell'outbreak su un arco temporale di sei anni (maggio 2020 – maggio 2026) evidenzia una stretta correlazione tra l'andamento epidemiologico nosocomiale, l'evoluzione della pandemia da SARS-CoV-2 e l'introduzione delle nuove strategie diagnostiche.

Tuttavia, per valutare l'impatto epidemiologico complessivo superando il bias legato alla differente durata cronologica dei tre periodi analizzati (pari rispettivamente a 14, 18 e 41 mesi), i dati volumetrici sono stati normalizzati calcolando la media mensile dei nuovi casi per ciascuna macro-finestra temporale. I valori assoluti originari, la durata in mesi delle singole fasi e i corrispondenti tassi mensili risultanti sono sintetizzati nella Tabella 6.

*Tabella 6: Confronto tra il volume assoluto dei casi di Candida auris identificati e la media mensile standardizzata per ciascuna fase dello studio.*

Fase temporale dello studio	Casi Assoluti (N)	Durata della fase (Mesi)	Media Nuovi Casi / Mese
Fase 1 (maggio 2020 – giugno 2021)	99	14	7,1
Fase 2 (luglio 2021 – dicembre 2022)	144	18	8,0
Fase 3 (gennaio 2023 – maggio 2026)	122	41	3,0

Il raggruppamento standardizzato derivato da questa analisi, tradotto visivamente nell'istogramma di Figura 11, offre una prospettiva immediata sul reale carico assistenziale medio che ha gravato sulle unità operative nel corso dei sei anni di osservazione.

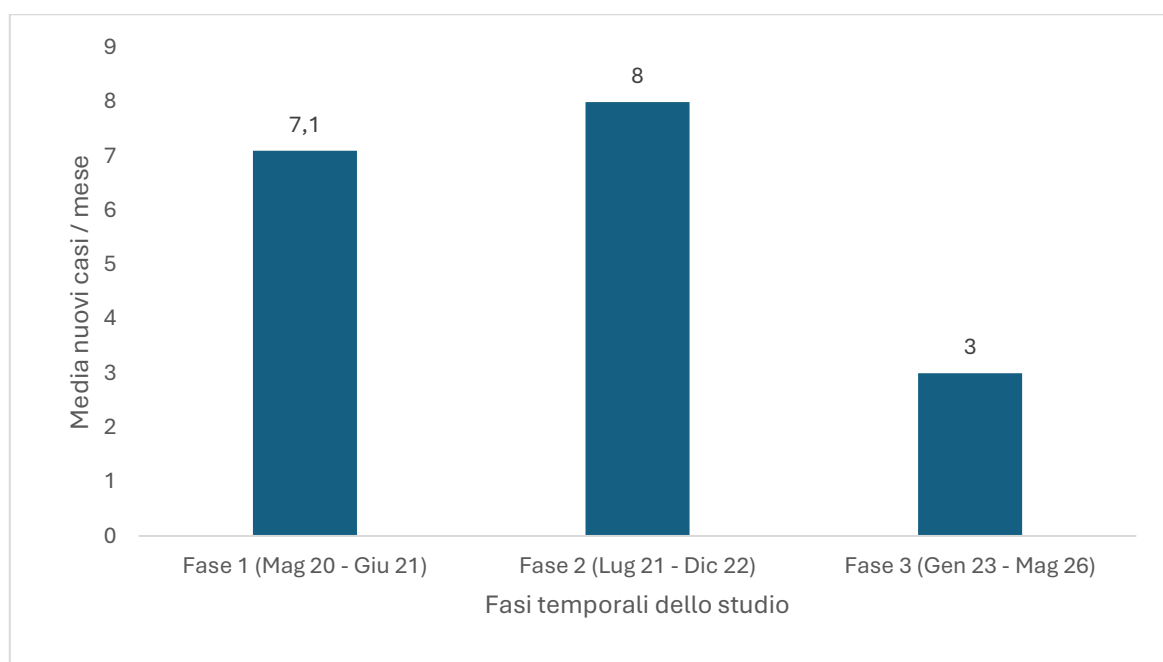


Figura 11: Andamento della media mensile dei nuovi isolamenti di *Candida auris* nelle tre fasi dello studio (maggio 2020 - maggio 2026).

La Fase 1 (Maggio 2020 – Giugno 2021), collocata nel pieno dell'emergenza pandemica da SARS-CoV-2, era caratterizzata da una sorveglianza attiva basata esclusivamente sull'esame colturale tradizionale su tampone cutaneo. Sebbene la coltura rimanga il gold standard per la definizione dell'antibiogramma, il suo impiego nello screening presenta limiti intrinseci di sensibilità e tempi di refertazione prolungati [24]. Di conseguenza, la media di 7,1 casi/mese e il picco di densità di incidenza di circa 31 casi per 1000 giorni-persona registrato all'inizio del 2021 rappresentano una verosimile sottostima della reale circolazione del micete, limitata principalmente ai pazienti sintomatici o ad altissima carica fungina.

Il vero punto di svolta metodologico si osserva nella Fase 2 (Luglio 2021 – Dicembre 2022) con l'introduzione dello screening molecolare rapido (MOLTA) all'ammissione. Il netto divario osservato tra la curva colturale e quella molecolare descrive accuratamente il cosiddetto "fenomeno dell'iceberg" epidemiologico. *Candida auris* tende infatti a colonizzare in modo silente e persistente le superfici cutaneo-mucose di soggetti del tutto asintomatici [19]. La metodica PCR ha permesso di far emergere questo serbatoio sommerso grazie a una superiore sensibilità e a tempistiche drasticamente ridotte, che hanno consentito l'isolamento immediato dei portatori sani, impedendo loro di fungere da vettori occulti di trasmissione crociata.

In questa seconda fase si registra anche il picco assoluto dell'outbreak (circa 45 casi per 1000 giorni-persona a ottobre 2021), in stretta concomitanza con le ondate pandemiche di SARS-CoV-2. Il sovraccarico delle terapie intensive, l'elevato turn-over del personale, l'uso massivo di steroidi e la pressione selettiva degli antibiotici sul microbioma degli ospiti hanno creato un substrato biologico e assistenziale altamente suscettibile [13,21], favorendo la diffusione orizzontale del fungo.

La relativa omogeneità della media mensile dei casi tra la Fase 1 (7,1 casi/mese) e la Fase 2 (8,0 casi/mese) rappresenta un apparente paradosso che rivela l'efficacia dello screening molecolare. La PCR, pur identificando una quota massiva di colonizzazioni asintomatiche precedentemente invisibili, non ha portato a un'esplosione dei numeri mensili proprio perché l'abbattimento del tempo di rilevazione ha permesso un isolamento tempestivo, contenendo la trasmissione orizzontale.

La Fase 3 (Gennaio 2023 – Maggio 2026) segna la transizione verso il controllo definitivo dell'outbreak. Nonostante la costante prosecuzione dello screening molecolare ad alta sensibilità, il carico assistenziale medio è sceso a 3,0 casi/mese; superate alcune fluttuazioni iniziali legate alla nota resilienza ambientale del micete, l'ultimo trimestre del 2024 ha decretato il declino definitivo del fenomeno.

Il dato di maggiore rilievo risiede nel completo azzeramento della densità di incidenza da marzo 2025 a maggio 2026. Questo prolungato silenzio epidemiologico, mantenutosi stabile per 14 mesi consecutivi, convalida l'efficacia sul lungo periodo delle politiche di contenimento adottate dalla struttura, dimostrando la concreta possibilità di eradicare stabilmente la trasmissione orizzontale del patogeno.

## Interpretazione epidemiologica del sinergismo virale-fungino

I riscontri emersi dai modelli statistici inferenziali offrono una solida validazione all'ipotesi di un marcato sinergismo letale legato alla concomitanza tra *Candida auris* e SARS-CoV-2. L'analisi multivariata ha dimostrato come tale sovrapposizione infettiva sia in grado di triplicare quasi del tutto il rischio di decesso del paziente ospedalizzato (OR = 2,87;  $p < 0,001$ ), aggravandone la prognosi in modo del tutto indipendente dal profilo demografico di base.

Sotto il profilo della prevenzione delle Infezioni Correlate all'Assistenza (ICA), il contesto pandemico ha generato una grave convergenza di fattori di rischio. I pazienti affetti da forme severe di COVID-19 hanno richiesto degenze eccezionalmente prolungate in setting di terapia intensiva, associate a un massiccio impiego di supporti ventilatori e accessi vascolari. Questa marcata compromissione delle barriere anatomiche, unita all'immunodepressione indotta dalle necessarie terapie corticosteroidi e alla pressione selettiva dei regimi antibiotici, ha fornito a *C. auris* le condizioni biologiche e ambientali ideali per proliferare.

Un ulteriore elemento prognostico di rilievo emerso dal modello è l'impatto fortemente negativo del sesso biologico maschile, associato a un rischio di decesso oltre tre volte superiore rispetto a quello femminile (OR = 3,47;  $p < 0,001$ ). Questa intrinseca vulnerabilità di genere è coerente con i grandi registri epidemiologici internazionali, che hanno costantemente documentato come la popolazione maschile sia maggiormente predisposta a sviluppare forme severe di polmonite da SARS-CoV-2 e, di riflesso, a soccombere con più elevata frequenza alle complicanze infettive tipiche dell'ospedalizzazione prolungata [6].

Infine, merita attenzione clinica l'assenza di significatività statistica del fattore età ( $p = 0,165$ ). In una popolazione ospedaliera eterogenea, l'avanzamento anagrafico rappresenta quasi sempre il principale predittore di mortalità. Tuttavia, all'interno della coorte in esame — un campione già severamente selezionato per l'altissima intensità di cure — l'insulto combinato dal virus pandemico e dal patogeno fungino potrebbe aver esercitato un effetto uniforme su tutte le fasce di età.

## Limiti dello studio

Il presente studio presenta alcuni limiti metodologici di cui è doveroso tenere conto. In primo luogo, il disegno osservazionale retrospettivo e monocentrico lega la validità dei dati alla completezza della documentazione clinica pregressa e circoscrive i risultati all'ecologia microbica e ai protocolli dell'Ospedale Policlinico San Martino, limitando la generalizzabilità delle evidenze ad altre realtà. Inoltre, aver ristretto l'inclusione ai soli pazienti ricoverati in Terapia Intensiva introduce un potenziale bias di selezione: la coorte rappresenta un sottogruppo caratterizzato da estrema fragilità, pertanto le dinamiche di diffusione e gli elevati tassi di letalità descritti riflettono l'impatto di *Candida auris* sui pazienti più critici, non potendo essere traslati all'intera popolazione ospedaliera.

Un ulteriore limite riguarda la raccolta delle variabili cliniche e terapeutiche. Le informazioni estratte sono state circoscritte ai soli trattamenti antimicrobici previsti dal protocollo (antibiotici e antifungini), senza registrare altre terapie farmacologiche in grado di aumentare il rischio infettivo, come le terapie cortisoniche ad effetto immunosoppressore somministrate per le co-infezioni da SARS-CoV-2. A ciò si aggiunge, come suggerito dalla varianza non spiegata nel modello di regressione, la mancata inclusione di specifici score prognostici all'ammissione (come SOFA o APACHE II), non uniformemente estraibili per l'intera coorte storica.

Sul fronte degli esiti, l'analisi si è basata unicamente sull'endpoint binario della dimissione o del decesso, senza una valutazione dell'evoluzione clinica e sintomatologica durante la degenza. Questa limitazione, in pazienti a così alta complessità assistenziale, spesso sottoposti a ventilazione meccanica e con un importante carico di co-infezioni, impedisce di stabilire con esattezza la quota di decessi direttamente attribuibile a *Candida auris* rispetto a quella derivante dalla patologia di base o dal decadimento d'organo, riducendo la possibilità di comprendere appieno l'impatto dell'infezione sulle conseguenze cliniche complessive.

Infine, l'indagine si è basata su parametri clinico-microbiologici standard. L'assenza di un'analisi genomica avanzata per il sequenziamento dei cladi non ha consentito di tracciare con assoluta risoluzione le singole catene di trasmissione intra-reparto, sebbene l'andamento epidemiologico a lungo termine abbia ampiamente confermato il successo delle misure di contenimento implementate.

## Conclusioni

L'analisi approfondita dei dati raccolti ha permesso di trarre rilevanti considerazioni cliniche ed epidemiologiche circa la diffusione di *Candida auris* e l'efficacia delle strategie di contrasto nosocomiale. In linea con le evidenze della letteratura internazionale, i risultati della presente ricerca confermano tre aspetti fondamentali e interconnessi: il fenotipo di fragilità della popolazione colpita, l'impatto delle innovazioni diagnostiche sulla tracciabilità del patogeno e il successo a lungo termine delle misure multifattoriali di *infection control*.

### Il fenotipo di fragilità e i determinanti di rischio

Lo studio ha delineato un profilo epidemiologico netto della popolazione esposta a *C. auris*, evidenziando una predominante suscettibilità del sesso maschile e concentrandosi prevalentemente in pazienti attorno alla sesta decade di vita. Sotto il profilo clinico, la coorte ha mostrato i tratti inequivocabili dell'altissima intensità assistenziale tipica delle terapie intensive. Il ricorso quasi totalizzante alla ventilazione meccanica invasiva, l'elevata frequenza di interventi chirurgici maggiori e la massiva esposizione simultanea a molteplici dispositivi intravascolari e urinari hanno configurato il substrato biologico ideale per la proliferazione del micete sotto forma di biofilm polimerico. I modelli statistici inferenziali hanno isolato i determinanti indipendenti di questa severa letalità intra-ospedaliera, confermando il sesso maschile come principale fattore di rischio demografico.

### La sinergia pandemica e l'evoluzione diagnostica

L'analisi della cinetica temporale dell'outbreak ha confermato una stretta correlazione tra la diffusione nosocomiale di *C. auris* e le ondate pandemiche da SARS-CoV-2. Il modello multivariato ha certificato la presenza di un reale sinergismo letale, dimostrando come la co-infezione attiva da COVID-19 abbia drasticamente moltiplicato il rischio di decesso nei pazienti, indipendentemente dall'età anagrafica. È ipotizzabile che il sovraccarico emergenziale, l'immunodepressione steroidea e l'ampio ricorso alla terapia antibiotica abbiano offerto a *C. auris* un'incontrastata opportunità di espansione sistemica. In tale scenario, l'integrazione sistematica dello screening molecolare (MOLTA) ha rappresentato la vera svolta metodologica: garantendo tempistiche ridotte e una sensibilità superiore, ha svelato il "fenomeno dell'iceberg" epidemiologico, identificando tempestivamente i serbatoi di colonizzazione cutanea altrimenti invisibili all'esame colturale standard.

## Efficacia dei protocolli e prospettive future

L'evidenza di maggiore impatto clinico e gestionale emersa da questo studio risiede nel successo delle strategie di contenimento. Il declino progressivo dei tassi di infezione, culminato nell'azzeramento completo e persistente della densità di incidenza da marzo 2025 al più recente aggiornamento dei dati a maggio 2026, certifica l'efficacia sul lungo periodo delle misure adottate. Un approccio multifattoriale integrato — basato sullo screening molecolare universale, l'isolamento rigoroso, la decateterizzazione precoce e la disinfezione sporicida — ha permesso di raggiungere efficacemente il contenimento della diffusione nosocomiale e la stabilizzazione dei casi, confermando la piena validità di queste misure nel controllo di un patogeno altamente persistente. Tale successo gestionale locale trova oggi la sua massima validazione formale nel "Protocollo nazionale" emanato dal Ministero della Salute e recepito dall' Azienda Ligure Sanitaria a febbraio 2025, stilato integrando e adattando le raccomandazioni internazionali e l'esperienza italiana e allineandosi perfettamente con il protocollo applicato all'interno dell'Ospedale Policlinico San Martino. In conclusione, i dati del presente studio ribadiscono che la sinergia tra la precisione della biologia molecolare e il rigore assoluto nell'applicazione delle norme igieniche costituisce la prima e più efficace linea di difesa per tutelare la sicurezza dei pazienti fragili.

## Bibliografia

1. World Health Organization. Global Report on Infection Prevention and Control [Internet]. 1st ed. Geneva: World Health Organization; 2022. Disponibile su: <https://iris.who.int/handle/10665/354489>
2. Centers for Disease Control and Prevention. Healthcare-associated Infections (HAI) Surveillance Definitions [Internet]. 2026. Disponibile su: [https://www.cdc.gov/nhsn/pdfs/pscmanual/17pscnosinfdef\\_current.pdf](https://www.cdc.gov/nhsn/pdfs/pscmanual/17pscnosinfdef_current.pdf)
3. European Centre for Disease Prevention and Control. Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals, 2022-2023. [Internet]. LU: Publications Office; 2024. Disponibile su: <https://data.europa.eu/doi/10.2900/88011>  
doi:10.2900/88011
4. Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L. 2007 Guideline for isolation precautions preventing transmission of infectious agents in healthcare settings [Internet]. 2007. Disponibile su: <https://stacks.cdc.gov>
5. World Health Organization. Global technical consultation report on proposed terminology for pathogens that transmit through the air [Internet]. 2024. Disponibile su: <https://www.who.int/publications/m/item/global-technical-consultation-report-on-proposed-terminology-for-pathogens-that-transmit-through-the-air>
6. Vincent JL, Sakr Y, Singer M, Martin-Loeches I, Machado FR, Marshall JC, et al. Prevalence and Outcomes of Infection Among Patients in Intensive Care Units in 2017. *JAMA*. 21 aprile 2020;323(15). doi:10.1001/jama.2020.2717 PubMed PMID: 32207816; PubMed Central PMCID: PMC7093816.
7. World Health Organization. WHO bacterial priority pathogens list, 2024: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance [Internet]. Geneva; 2024. Disponibile su: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>
8. Istituto Superiore di Sanità. Sorveglianza nazionale mediante prevalenza puntuale delle infezioni correlate all'assistenza e sull'uso di antibiotici negli ospedali per acuti (PPS3) [Internet]. 2023. Disponibile su: <https://www.epicentro.iss.it/sorveglianza-ica/sorveglianza-ospedali-per-acuti>
9. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet*. 12 febbraio 2022;399(10325). doi:10.1016/S0140-6736(21)02724-0 PubMed PMID: 35065702; PubMed Central PMCID: PMC8841637.
10. Allegranzi B, Bagheri Nejad S, Combescure C, Graafmans W, Attar H, Donaldson L, et al. Burden of endemic health-care-associated infection in developing countries: systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 15 gennaio 2011;377(9761). doi:10.1016/S0140-6736(10)61458-4 PubMed PMID: 21146207.
11. Organisation for Economic Co-operation and Development. Tackling Antimicrobial Resistance: Ensuring Sustainable R&D [Internet]. Paris; 2017. Disponibile su: <https://www.oecd.org/els/health-systems/g20-amr-final-paper-2017.pdf>
12. Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, Quattrocchi A, Hoxha A, Simonsen GS, et al. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *Lancet Infect Dis*. gennaio 2019;19(1). doi:10.1016/S1473-3099(18)30605-4

13. Barchitta M, Maugeri A, Favara G, Lio RMS, La Rosa MC, D'Ancona F, et al. The intertwining of healthcare-associated infections and COVID-19 in Italian intensive care units: an analysis of the SPIN-UTI project from 2006 to 2021. *J Hosp Infect.* ottobre 2023;140. doi:10.1016/j.jhin.2023.07.021 PubMed PMID: 37562591.
14. World Health Organization. Five moments for hand hygiene [Internet]. Disponibile su: <https://www.who.int/publications/m/item/five-moments-for-hand-hygiene>
15. Ministero della Salute. Piano Nazionale di Contrasto all'Antibiotico-Resistenza (PNCAR) 2022-2025 [Internet]. Ministero della Salute; 2023. Disponibile su: <https://www.epicentro.iss.it/antibiotico-resistenza/pncar-2022>
16. Blair JMA, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJV. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol.* gennaio 2015;13(1):42–51. doi:10.1038/nrmicro3380 PubMed PMID: 25435309.
17. Ciofu O, Moser C, Jensen PØ, Høiby N. Tolerance and resistance of microbial biofilms. *Nat Rev Microbiol.* ottobre 2022;20(10):621–35. doi:10.1038/s41579-022-00682-4 PubMed PMID: 35115704.
18. Quadripartite (FAO, UNEP, WHO, WOA). One health joint plan of action (2022–2026): working together for the health of humans, animals, plants and the environment [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2022. Disponibile su: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240059139>
19. European Centre for Disease Prevention and Control. Rapid risk assessment: *Candida auris* in healthcare settings – Europe – First update [Internet]. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2018. Disponibile su: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/rapid-risk-assessment-candida-auris-healthcare-settings-europe>
20. Satoh K, Makimura K, Hasumi Y, Nishiyama Y, Uchida K, Yamaguchi H. *Candida auris* sp. nov., a novel ascomycetous yeast isolated from the external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital. *Microbiol Immunol.* gennaio 2009;53(1):41–4. doi:10.1111/j.1348-0421.2008.00083.x PubMed PMID: 19161556.
21. Briano F, Magnasco L, Sepulcri C, Dettori S, Dentone C, Mikulska M, et al. *Candida auris* Candidemia in Critically Ill, Colonized Patients: Cumulative Incidence and Risk Factors. *Infect Dis Ther.* giugno 2022;11(3):1149–60. doi:10.1007/s40121-022-00625-9 PubMed PMID: 35404010; PubMed Central PMCID: PMC8995918.
22. European Centre for Disease Prevention and Control. Rapid risk assessment: *Candida auris* outbreak in healthcare facilities in northern Italy, 2019-2021 [Internet]. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2022. Disponibile su: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/rapid-risk-assessment-candida-auris-outbreak-healthcare-facilities-northern-italy>
23. Sticchi C, Raso R, Ferrara L, Vecchi E, Ferrero L, Filippi D, et al. Increasing Number of Cases Due to *Candida auris* in North Italy, July 2019-December 2022. *J Clin Med.* 28 febbraio 2023;12(5):1912. doi:10.3390/jcm12051912 PubMed PMID: 36902700; PubMed Central PMCID: PMC10003924.
24. Sexton DJ, Kordalewska M, Bentz ML, Welsh RM, Perlin DS, Litvintseva AP. Direct Detection of Emergent Fungal Pathogen *Candida auris* in Clinical Skin Swabs by SYBR Green-Based Quantitative PCR Assay. *J Clin Microbiol.* dicembre 2018;56(12):e01337-18. doi:10.1128/JCM.01337-18 PubMed PMID: 30232130; PubMed Central PMCID: PMC6258843.

## Ringraziamenti

Per prima cosa, vorrei ringraziare il mio relatore, il Prof. Icardi, e il mio correlatore, il Dott. Ricci. Grazie per avermi dato la possibilità di fare la tesi all'interno del vostro reparto, nonostante i tempi fossero stretti. Grazie per tutte le volte che mi avete accolto in studio, tra un impegno e l'altro, per leggere e commentare insieme le pagine che via via scrivevo.

Un grazie speciale a mia cugina Astrid: sei stata una presenza fondamentale. Nonostante i mille impegni al lavoro e quelli, decisamente più belli, del matrimonio con Andrea, hai sempre trovato il tempo per ascoltarmi e chiarire tutti i miei dubbi con tanta pazienza. E insieme a te ringrazio proprio Andrea: averti in famiglia è una fortuna, ma averti avuto anche come professore è stato un privilegio.

Un grazie sincero a Jack. Abbiamo iniziato questo percorso insieme e, dopo aver condiviso i primi tre anni di corso, sei stato un punto di riferimento fondamentale quando ho ripreso in mano gli studi. Se oggi sono qui a chiudere questo capitolo è anche merito tuo, che mi hai dato la spinta giusta per rimettermi in carreggiata e arrivare fino in fondo.

A Edoardo, Giovanni, Gian, Ciro e Marta, con cui ho condiviso quasi tutti i giorni dell'ultimo anno e mezzo. Grazie per le innumerevoli pause caffè, i pranzi della Coop, i pacchetti su Pocket e i tantissimi esami dati insieme. Sono davvero orgoglioso del lavoro che siamo riusciti a fare nell'ultimo anno, e avere la vostra compagnia in questa routine quotidiana ha reso tutto il percorso molto più leggero.

Se sono arrivato fin qui, il merito più grande è della mia famiglia, che mi ha protetto e aspettato quando le cose si erano fatte difficili. Mamma e papà, so di avervi fatto preoccupare tantissimo, ma il vostro aiuto e il vostro esserci sempre, senza mai mettermi fretta o pressione, sono stati la mia salvezza. Grazie davvero. Grazie anche a Camilla. Anche se ormai ci vediamo poco visto che sei a Torino, la nostra intesa silenziosa rimane fortissima e ci tengo a dirti che sono davvero orgoglioso di te e del percorso che stai seguendo.