

Le nuove tecnologie per la gestione dell'urgenza/emergenza in microbiologia: INFEZIONI ENDOADDOMINALI

Dott. Stefano Grandesso SSD Microbiologia Dipartimento Patologia Clinica Azienda ULSS 12 Veneziana Ospedale dell'Angelo - Mestre





Complicated Intra-Abdominal Infections Definition

- Extends beyond the hollow viscus of origin into the peritoneal space
- Associated either with abscess formation or peritonitis
- Requires either operative or percutaneous intervention to resolve



Medical Illustration Copyright © 2005 Nucleus Medical Art, All rights reserved. www.nucleusinc.com

....The need for speed: il laboratorio di Microbiologia e le Urgenze Infettive



Complicated Intra-Abdominal Infection Types

- Wide variety of conditions
 - Perforated gastroduodenal ulcers
 - Biliary tract infections
 - Small bowel perforations
 - **Complicated appendicitis** (with abscess or perforation)
 - **Complicated diverticulitis** (with abscess or perforation)



Medical Illustration Copyright © 2005 Nucleus Medical Art, All rights reserved. www.nucleusinc.com

....The need for speed: il laboratorio di Microbiologia e le Urgenze Infettive



Complicated Intra-Abdominal Infections: Common Pathogens

Facultative and Aerobic Negatives	c Gram-
Escherichia coli	71.3%
Klebsiella spp	14.3%
Pseudomonas aeruginosa	14.1%
Proteus spp	5.2%
Enterobacter spp	5.1%
other gram-negatives	12.3%
Gram-Positive Organis	ms
Streptococcal spp	38.0%
Enterococcus faecalis	11.6%
Enterococcus faecium	3.4%
Enterococcus spp	7.8%
Staphylococcus aureus	3.5%

Incidence of various bacteria in 702 patients with intraabdominal infections

Solomkin J et al. , Ann Surg 2006



Magnitude of Problem

- 465 patients 1991-2002 Major NYC Hosp
 - Viscus perforation
 - Peritonitis (78%) or abscess (22%)
 - Community acquired 72%, Hospital Acquired 28%
- 74% organ dysfunction
- 23% mortality



Identification of High Risk Patients (who need broader spectrum Rx)

- High risk of death/complications
 - High APACHE II score
 - Poor nutritional state
 - Significant cardiovascular disease
 - Inability to obtain source control
 - Immunosuppressive therapy or condition
 - Certain acute and chronic diseases
 - e.,g, acute leukemia, dialysis
 - Prolonged preop hospital stay
 - Prolonged preop (>2 days) antimicrobials



When are Cultures Indicated?

- Uncomplicated, perforated or gangrenous appendix without abscess: no impact on outcome when cultures obtained
- Abscesses, peri-colonic infections: failure rates higher if empiric ABX don't cover aerobic flora
- Community epidemiology differs
- Anaerobic susceptibility:
 - Unnecessary if predictably potent coverage with metronidazole, carbapenems, beta lactam inhibitors used
 - Resistance a concern with clindamycin, cefamycins, piperacillin alone, most quinolones
 - Indicated if persisting anaerobic isolates, bacteremias or prolonged therapy indicated



Health Care Associated (HCA) Infections (Nosocomial)

- Infections occurring after initial surgery are HCA and may harbor resistant flora
- If empiric therapy does not include coverage against subsequently recovered resistant flora, morbidity higher
- Often require empiric combination therapy
 - To cover MRSA, (VRE), MDR GNR

....The need for speed: il laboratorio di Microbiologia e le Urgenze Infettive



Complicated IA Infections Infecting Flora by Onset Location

Community-acquired infections

- Enteric GNB, facultative bacilli, and β-lactam-susceptible GPC, obligate anaerobic bacilli (distal small-bowel and colon-derived infections and for more proximal perforations when obstruction is present)
 - E coli, B fragilis

• Healthcare-associated infections (post-op/nosocomial)

- Prolonged pre-op LOS or > 2 days pre-op antibiotics
- Usually more resistant flora
 - Pseudomonas, Enterobacter and Proteus spp, MRSA, Enterococci, and Candida spp
- Knowledge of local susceptibility patterns critical

GNB=gram-negative bacilli GPC=gram-positive cocci LOS=length of stay



What Should be Cultured?

- Blood cultures often no benefit in community acquired IAI (CA-IAI)
- Intra-abdominal specimens
 - Should be representative of the process
 - Rarely need more than one (rarely two)
 - Should always be sent for anaerobic as well as routine
 - Anaerobic transport system
 - SWABS ARE NEVER APPROPRIATE



When Should Gram Stain be Done?

- CA-IAI: not indicated
- HCA-IAI: indicated to help guide empiric coverage

– If GPC clusters seen, cover for MRSA



Bacteriology of Intra-Abdominal Infection

D. Microbial adherence to peritoneum:

- Bacteria adherent to the peritoneum are resistant to removal by peritoneal lavage, in contrast to bacteria in peritoneal fluid.
- 1st 4hrs ----> aerobic E. coli, etc

8hrs. ----> B. fragilis

E. Microbial synergy:

- a) Aerobic gm(-)bacteria lowers oxidation reduction potential; endotoxin produced suppress local host defense
- b) B. fragilis capsular polysaccharide interferes complement activation and inhibit leukocyte function



Classification of Intra-abdominal Infections:

A. Primary peritonitis:

Inflammation of the peritoneum from a suspected extraperitoneal source, often via <u>hematogenous spread</u>

1. Spontaneous peritonitis in children/adult:

- Adult > children mono-microbial infection
- S/Sx: Abd. Pain, tenderness, distension, N/V, fever, lethargy, diarrhea in neonates



Classification of Intra-abdominal Infections:

A. Primary peritonitis:

- **1.** Spontaneous peritonitis in children/adult:
 - ADULT:
 - Common in pts w/ ascites (cirrhosis, SLE)
 - E. coli (70%)
 - CHILDREN:
 - Neonatal / age 4-5
 - (+) Hx of previous URTI
 - W/ nephrotic syndrome, SLE
 - Hemolytic strp and pneumococci
 - Diagnostic: <u>PARACENTESIS</u>
 - Gm stain: Gm (+) spon. Peri.; GM (+) & (-) Sec. Peri
 - pH Low; Neutrophil count > 250 cells/mm3



Classification of Intra-abdominal Infections:

B. Peritonitis Related to Peritoneal Dialysis

- Catheter related infection
- Single organism: gm (+) cocci 75%

- S. aureus / S. epidermidis

- S/Sx: turbidity of the dialysate (earliest sign)
 - abdominal pain and fever
- Dx: a) culture of peritoneal fluidb) clinical signs of peritonitis
- Tx: Initially ---> antibiotic & heparin in the dialysate & increase the dwelling time

Removal of catheter:

- 1. persistence of peritonitis after 4-5 days of Tx
- 2. presence of fungal, tuberculosis, P. aeruginosa
- 3. fecal peritonitis
- 4. severe skin infection at the catheter site



Classification of Intra-abdominal Infections

C. Tuberculous Peritonitis:

- Common in developing and underdeveloped countries
- Developed countries ---> due to AIDS
- Route: a) Hematogenous
 - b) transmurally from diseased bowel
 - c) Tuberculous salphingitis
- S/Sx: fever, anorexia, wt. loss, weakness
 - ascites, dull diffuse abd. pain, abd. Mass
- Dx: a) Peritoneal fluid tap
 - increase lymphocytes
 - culture
 - b) Laparoscopy & direct biopsy
 - c) Percutaneous needle biopsy
- Tx: Anti Kochs drug for 2 yrs
 - surgery done only in the presence of COMPLICATIONS - Obstruction due to fibrous adhesions



Secondary Peritonitis

- Secondary bacterial peritonitis usually arises following gastrointestinal leakage within the peritoneal cavity. This leakage may follow perforation of diseased viscera or abdominal trauma.
- The commonest cause in western countries is acute appendicitis.
- Other causes include perforated peptic ulcer, diverticular disease of the colon, pancreatitis and cholecystitis and as a complication of CAPD.



Intra-abdominal Abscess

- Accumulation of pus in intra-peritoneal spaces
 - 1. Associated w/ primary peritonitis
 - 2. Associated w/ secondary peritonitis



E per fare chiaro sul nostro lavoro quotidiano e orientarlo...



HPA SOPs: Investigation of Fluids from Normally Sterile Sites (06.07.2012)



HPA SOPs: Investigation of Fluids from Normally Sterile Sites (06.07.2012) Gram stain

For all except clotted specimens Centrifuge in a sterile, capped, conical-bottomed container at 1200x g for 5-10 mins.

• Note: If investigation for *Mycobacterium species* is also requested, the centrifugation time may be increased to 15-20 mins and the same deposit used for this as well as routine microscopy and culture



• Total white cell count

Differential leucocyte count (Counting chamber method: recommended for lower WBC counts)

• Other microscopy

- Microscopy for *Mycobacterium species*
- Direct immunofluorescent antibody for Legionella species
- Indirect immunofluorescent antibody test for *P. jirovecii*



Culture and investigation

• Pre-treatment

Standard : Centrifuge specimen (already performed for microscopy).

- Inoculate each agar plate and the enrichment broth with the centrifuged deposit with a sterile pipette.
- For the isolation of individual colonies, spread inoculum with a sterile loop.
- If blood culture bottles are used, inoculate bottles with the uncentrifuged specimen.

....The need for speed: il laboratorio di Microbiologia e le Urgenze Infettive



Clinical details/ Conditions	Specimen	Standard media	Incubation		Cultures read	Target organism(s)	
			Temp ℃	Atmos	Time		
Δηγ	All specimens	Blood agar	35-37	5-10% CO2	40-48 h	daily	Any organism
Auy		Fastidious anaerobe agar	35-37	anaerobic	40-48 hr*	48 hr	Anaerobes
For these situations, ac	ld the following:						
Peritonitis	Ascitic fluid	Neomycin fastidious anaerobe agar	35-37	anaerobic	40 48 hr*	□48 h	Anaerobes
	Peritoneal fluid	CLED/MacConkey agar	35-37	air	16-24 hr	□16 h	Enterobacteriaceae
Optional media							
If microscopy suggestive of mixed infection Staph/strep selective agar		35-37	air	16-24 hr	16 hr	S. aureus β-haemolytic streptococci	
Non-supplemented or supplemented blood culture bottles†			35-37	air			
or Supplemented brain heart infusion broth			35-37	air	40-48 hr	N/A	Any organism
Subcultured at 40 hr on details	to the above media as a	ppropriate to clinical	35-37	as above	40-48 hr	daily	



INFEZIONI ENDOADDOMINALI I'urgenza/emergenza in microbiologia:

- Fare presto per... avere la crescita batterica
- Fare presto per... avere l'identificazione
- Fare presto per... avere l'antibiogramma



Bactec e liquido peritoneale



- 336 campioni
- 81 (24%) positivi: 50 significativi, 31 contaminanti
- 71 patogeni: 16 (23%) positivi solo al Bactec, 13 (18% positivi solo con terreni solidi

Sorlin P. et al, J Med Microbiol, 2000



Fare presto per... avere la crescita batterica





Med Sci Monit, 2009; 15(2): BR55-60

Fontana C et al - Enrichment of fluid samples

Table 1. Comparative yields of clinically significant isolates of bacteria and yeast.

Specimens	No. of specimens (%)	No. of positive samples by routine culture	No. of negative samples by routine culture	No. of positive samples by URO-QUICK™	No. of negative samples by URO-QUICK™	p for URO-QUICK™ vs. routine method
ASB	106 (19.4%)	96	10	96	10	0.99
BAL	63 (11%)	58	5	58	5	0.99
Sputum	139 (25%)	134	5	136	3	0.28
Blood	47 (8%)	0	47	29	18	<0.000005
PLEF	105 (19%)	18	87	24	81	0.30
CSF	26 (4.7%)	0	26	2	24	0.49
PERF	41 (7.5%)	14	27	16	25	0.49
Other Fluids	19 (3.4%)	3	16	6	13	0.26
Total	546	323	223	367	179	0.007

ASB – endothracheal aspirates; BAL – bronchoalveolar lavage; PLEF – pleural fluid; PERF – peritoneal fluid; CSF – cerebrospinal fluid.

The fluid samples were cultured in the URO-QUICK[™] for 235 min to achieve the cutoff of 1000 cfu/ml.

Fontana C. et al, Med Sci Monit, 2009; 15(2): BR55-60



Basic Research

Urgenze Infettive

Med Sci Monit, 2009; 15(2): BR55-60

Table 2. Bacterial isolates uniquely obtained using URO-QUICK™.

Specimens	Total number of specimens (%)	Specimens uniquely positive by URO-QUICK™ (%)	lsolates (n)
ASB	106 (19.4%)	-	
BAL	63 (11%)	-	
Sputum	139 (25%)	2 (1.4%)	Streptococcus pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa
Blood	47 (8%)	29 (61%)	Sphingomonas paucimobilis, Serratia marcesens, Staphylococcus hominis, Staphylococcus epidermidis SCV (n=5)*, Staphylococcus aureus (n=2), P. aeruginosa (n=2), Oligella urealyticum, Micrococcus luteus, Moraxella Iacunata, Enterococcus faecalis (n=2), Escherichia coli (n=3), Corynebacterium propinquum, Corynebacterium jeikeium (n=2), Clostridium tyrobutiricum, Candida albicans (n=2), Campylobacter jejunii, Acinetobacter haemolyticus
PLEF	105 (19%)	6 (5.7%)	S. aureus, Rhodotorula glutinis, Bacillus pumilis, Burkholderia cepacia (n=2), Burkholderia gladioli
CSF	26 (4.7%)	2 (7.6%)	E. coli, S. aureus
PERF	41 (7.5%)	2 (7.8%)	Gemella morbillorum, Enterococcus avium
Other Fluids**	19 (3.4%)	3 (15.8%)	Acinetobacter baumanni-Klebsiella pneumoniae, Pasteurella multocida, S. aureus
Total	546	44 (8.0%)	

ASB — endothracheal aspirates; BAL — bronchoalveolar lavage; PLEF — pleural fluid; PERF — peritoneal fluid; CSF — cerebrospinal fluid. * Small colony variant (SCV); ** Other fluids (19 in total) included synovial fluid (n=5), ascitic fluid (n=9), drainage of infected central venous catheters (n=3), abdominal drainage (n=1), and cholecystic fluid (n=1).

3° CONGRESSO NEWMICROThe need for speed: il laboratorio di Microbiologia e le Network di Microbiologia e Virologia del Nord Es

Table 1. Samples and positive results of HB&L system and reference cultures.

Samples	n° of samples	n° positive by culture (%)	n° positive by HB&L (%)	n° positive only by culture (%)	n° positive only by HB&L (%)
Sputum	26	17	22	1	3
Endotracheal-aspirates	12	9	10	-	-
Broncho-aspirates	7	2	3	-	-
Bronchoalveolar-lavage	8	2	3	-	1
Pleural fluids	22	1	4	-	1
Peritoneal fluids	8	4	5	-	1
Ascitic fluids	18	4	6	-	1
Pericardial fluids	1	-	-	-	-
Synovial fluids	10	1	3	-	-
Cerebrospinal fluids	8	-	-	-	-
TOTAL	120	40 (33.3%)	56 (46.6%)	1 (0.8%)	7 (5.8%)

The fluid samples were cultured in the HB&L for 360 min to achieve the cut-off <50 cfu/ml.

Urgenze Infettive

Lanzafame P. et al., Trends in Medicine, 2011

....The need for speed: il laboratorio di Microbiologia e le Urgenze Infettive



Table 2. Results of HB&L system.

Samples	True pos. HB&L (%)	True neg. HB&L (%)	False pos. HB&L (%)	False neg. HB&L (%)	Clinically relevant microrganisms isolated (n°)
Sputum	18	3	4	1	Staphylococcus aureus(4), Haemophilus influenzae(2), Pseudomonas aeruginosa(3), Acinetobacter lwoffi(1), Enterobacter cloacae(1), Candida albican(1), Aspergillus fumigatus(1)
Endotracheal- aspirates	9	2	1	-	Pseudomonas aeruginosa(6), Candida glabrata(1)
Broncho-aspirate	s 3	4	-	2	Staphylococcus aureus(1), Pseudomonas aeruginosa(1)
Bronchoalveolar-	3	5	-	.	Staphylococcus aureus(1),
lavage					Aspergillus fumigatus(1)
Pleural fluids	2	18	2	*	Escherichia coli(1), Streptococcus pneumoniae(1)
Peritoneal fluids	5	3	×	₹Ŭ	Staphylococcus aureus(1), Pseudomonas aeruginosa(1), Enterobacter aerogenes(1)
Ascitic fluids	5	12	1	5	Staphylococcus aureus(1), Pseudomonas aeruginosa(1), Escherichia coli(1), Enterobacter cloacae(1)
Pericardial fluids	+	1	÷	÷	-
Synovial fluids	1	7	2	-	Staphylococcus aureus(1)
Cerebrospinal flu	ids -	8	-	-	2
TOTAL	46 (38.3%)	63 (52.5%)	10 (8.3%)	1 (0.8%)	



Figure 1. Qualitative performances of HB&L system.



....The need for speed: il laboratorio di Microbiologia e le Urgenze Infettive



Campioni	N.Campioni	Campioni Positivi Esame Colturale	Campioni Negativi Esame Colturale	Campioni Positivi HB&L	Campioni Negativi HB&L
Espettorati	56	21	35	21	35
Broncoaspirati	13	8	5	8	5
Liquido Peritoneale	13	9	4	11	2
Altri Liquidi	12	10	2	11	1
Totale	94	48	46	51	43

....The need for speed: il laboratorio di Microbiologia e le Urgenze Infettive



Complicated Intra-Abdominal Infections: Common Pathogens

Facultative and Aerobic Gram-		Anaerobic organisms	5
NegativesEscherichia coliKlebsiella sppPseudomonas aeruginosaProteus sppEnterobacter sppother gram-negatives	71.3% 14.3% 14.1% 5.2% 5.1% 12.3%	Bacteroides fragilis other Bacteroides Clostridia spp Prevotella spp Peptostreptococcus spp Fusobacterium	34.5% 71.0% 29.2% 12.0% 16.7% 8.6%
Gram-Positive Organisms		spp <i>Eubacterium</i> spp Others	16.5% 19.4%
Enterococcus faecalis Enterococcus faecium Enterococcus spp Staphylococcus aureus	3.4% 7.8% 3.5%	Incidence of various b in 702 patients with in abdominal infections	bacteria tra-



E PER GLI ANAEROBI COME FACCIAMO?

....The need for speed: il laboratorio di Microbiologia e le Urgenze Infettive



ECCO LA NOVITA'...











....The need for speed: il laboratorio di Microbiologia e le Urgenze Infettive







Fare presto per... avere l'identificazione







....The need for speed: il laboratorio di Microbiologia e le Urgenze Infettive



BRUKER MALDI-TOF IDENTIFICAZIONE DIRETTA

PROCEDURE per ID

- Depositare 50 1 di brodo positivo Alifax dalla vial su un vetrino portaoggetto tramite un puntale sterile.
- 2. Lasciare asciugare e fissare il campione.
- Processare il vetrino seguendo la metodica di laboratorio per la colorazione Gram.
- Se l'asservazione al microscopio rivela la presenza di coltura poli-microbica: seminare il brodo in terreni tradizionali solidi.
- Se si osserva una coltura mono-microbica: centrifugare l'intero contenuto della vial alla massima velocità (15.000 g) per 5 minuti.
- 6. Scartare il surnatante.
- 7. Effettuare uno step di lavaggio (opzionale)
- Utilizzando un apposito ago/puntale, deporre una piccola quantità di pellet sulla piastra Maldi.
- Lasciare asciugare il pellet a temperatura ambiente o in incubatore.
- 10. Aggiungere Acido Formico al 70%.
- Lasciare asciugare a temperatura ambiente o in incubatore.
- 12. Aggiungere la matrice.
- Lasciare asciugare a temperatura ambiente o in incubatore.
- Caricare la piastra sullo strumento per l'identificazione.





Idoneità del campione







Fare presto per... avere l'identifi cazione

.....The need for speed: il laboratorio di Microbiologia e le **Urgenze Infettive**



VITEK AMS versione 1998 **IDENTIFICAZIONE DIRETTA / ANTIBIOGRAMMA**

PROCEDURA per ID/AST

- 1. Depositare 50 I di brodo positivo Alifax dalla vial su un vetrino portaoggetto tramite un puntale sterile.
- 2. Lasciare asciugare e fissare il campione.
- 3. Processare il vetrino seguendo la metodica di laboratorio per la colorazione Gram.
- 4. Se l'osservazione al microscopio rivela la presenza di coltura poli-microbica: seminare il brodo in terreni tradizionali solidi.
- Se si osserva una coltura mono-microbica: centrifugare l'intero contenuto della vial a 3000 a per 5 minuti.

6. Scartare il sumatante.

- 7. Risospendere il pellet in 2,5 ml di acqua distillata sterile in una nuova provetta sterile (SOLUZIONE 1).
- 8. Aggiungere volumi crescenti di SOLUZIONE 1 a 1,8 ml di " Soluzione Speciale per Sistema Vitek" (sol. Cloruro di Sodio 0.45%) (SOLUZIONE 2) finché il livello di torbidità raggiunge lo 0,5 Mc Farland, Le misurazioni possono essere effettuate con un fotometro come il Densimat o Densicheck (Biomerieux) .
- 9. Procedere con l'inoculo delle card per identificazione (GNI o Strep o Satph GPI) seguendo la procedura Vitek.

10.Caricare le card nel sistema Vitek.



brodo positivo



Idoneità del campione







Controllo del Mc Farland

-		- 10					
1.00	200	22.8	1.40	-	2793	100	- 1
1.0	-	100	0.00	200	- 23	- 20	-
100	100	20	(and 1)	100	1.0	- M.G	- 1
1000	0-40	100	1.4	100		- 20	- 9
100	-	100	0.00	2.54	0.40	· · · · ·	- 9
1.7.8	100	0-80			- 63	100	
100	0-60	0-0	A	(-AU		
105	2-8	2-10	14	100	20	62	- 1

Fare presto per... avere l'identifi cazione

Inoculo Card

....The need for speed: il laboratorio di Microbiologia e le Urgenze Infettive



VITEK 2 IDENTIFICAZIONE DIRETTA

PROCEDURA per ID

- Depositare 50 1 di brodo positivo Alifax dalla vial su un vetrino portaoggetto tramite un puntale sterile.
- 2. Lasciare asciugare e fissare il campione.
- Processare il vetrino seguendo la metodica di laboratorio per la colorazione Gram.
- Se l'asservazione al microscopio rivela la presenza di coltura poli-microbica: seminare il brodo in terreni tradizionali soliali.
- Se si osserva una coltura mono-microbica: centrifugare l'intero contenuto della vial a 4000 g per 5 minuti.
- 6. Scartare il sumatante.
- Risospendere il pellet in 2,8 ml di "Soluzione Speciale per Sistema Vitelc" (sol. Cloruro di Socio 0,45%) finché il livello di torbidità raggiunge lo 0,5 Mc Farland. Le misurazioni possono essere effettuate con un fotometro come il Densimat o Densicheck (Biomerieux).
- Inserire la provetta contenente la sospensione a 0.5 McF nel primo alloggiamento del Smart Carrier Station o del Compact Cassette (Biomerieux)
- Inserire la cara per identificazione appropriata (secondo l'osservazione della colorazione Gram) nell'alloggio corrispondente.

10.Caricare le card nel sistema Vitek 2.



Colorazione Gram del brodo positivo



Idoneità del compione





Controllo del Mc Farland



Fare presto per... avere **l'identifi** cazione

....The need for speed: il laboratorio di Microbiologia e le Urgenze Infettive



ANTIBIOGRAMMA DIRETTO - OPZIONE 2: SENZA CENTRIFUGAZIONE

PROCEDURA per AST con

2- HB&L o Alfred60 FUNZIONE TURBIDIMETRO

- Depositare 50 1 di brodo positivo Alifax dalla vial su un vetrino portaoggetto tramite un puntale sterile.
- 2. Lasciare asciugare e fissare il campione.
- Processare il vetrino seguendo la metodica di laboratorio per la colorazione Gram.
- Se l'asservazione al microscopio rivela la presenza di coltura poli-microbica: seminare il brodo in terreni tradizionali soliali.
- Se si asserva una coltura mono-microbica: attivare sullo strumento la funzione Mc Farland Turbidimetro.
- Misurare la torbidità del campione positivo e controllare se è sufficiente per raggiungere il valore 0,5 Mc Farland. Sul display viene evidenziato il volume di campione da prelevare dalla vial di coltura e da inoculare in una nuova vial (tappo argento).
- Misurare il livello di torbidità della nuova diluizione ottenuta nella vial con tappo argento per verificare il raggiungimento dello 0.5 Mc Farland.
- Trasferire 500 I di sospensione 0.5 Mc Farland dalla vial con tappo argento in una nuova provetta sterile.
- Inserire la provetta contenente la sospensione a 0.5 McF nel primo alloggiamento del Smart Carrier Statian o del Compact Cassette (Biomerieux)
- Inserire la card per l'antibiogramma appropriata (secondo l'osservazione della colorazione Gram) nell'alloggio corrispondente.





brodo positivo



Idoneità del campione







Fare presto per... avere l'antibio gramma

....The need for speed: il laboratorio di Microbiologia e le Urgenze Infettive



MICROSCAN IDENTIFICAZIONE DIRETTA / ANTIBIOGRAMMA - OPZIONE 1

PROCEDURA per ID/AST con

1- HB&L o Alfred60 Mc FARLAND MONITOR

- Abilitare il Mc Farland monitor durante la fase di incubazione e lettura dei campioni: il valore di Mc Farland di ciascun campione è visualizzato in Real Time sul display dello strumento.
- Quando viene raggiunto il valore di 0,5 Mc Farland un segnale acustico viene attivato.
- Depositare 50 1 di brodo positivo Alifax dalla vial su un vetrino portaoggetto tramite un puntale sterile.
- 4. Lasciare asciugare e fissare il campione.
- Processare il vetrino seguendo la metodica di laboratorio per la colorazione Gram.
- Se l'asservazione al microscopio rivela la presenza di coltura poli-microbica: seminare il brodo in terreni tradizionali solidi.
- Se si asserva una coltura mono-microbica: aggiungere 100 I della sospensione 0,5 Mc Farland nella provetta SIEMENS Prompt® D e mescolare vigorosamente per 8-10 volte.
- Versare la sospensione nella vaschetta di semina premendo i lati della bottiglia. La sospensione deve essere utilizzata entro 4 ore dalla preparazione.
- Seguire la procedura appropriata di microdiluizione MIC selezionando i pannelli MIC Combo Microscan per batteri Gram Negativi o Gram positivi sia per ID che AST utilizzando il sistema con inoculatore RENOK – D (B1013-4).





brodo positivo



Idoneità del campione





Fare presto per... avere l'antibio gramma

....The need for speed: il laboratorio di Microbiologia e le Urgenze Infettive



Recommended Regimens: 2010 IDSA cIAI Guidelines

Mil	d-to-moderate Infections	High-severity Infections
Sir	ngle agent regimen	
• • • • •	Cefoxitin Ticarcillin/clavulanic acid Ertapenem Moxifloxacin Tigecycline	 Piperacillin/tazobactam Imipenem/cilastatin Meropenem (Doripenem)
Со	mbination regimen	
•	Cefazolin or cefuroxime or ceftriaxone or cefotaxime + metronidazole Fluoroquinolone (FQ)-based therapy + metronidazole	 Ceftazidime, cefepime + metronidazole FQ + metronidazole



Table 1. Recommended agents for treatment of community-acquired complicated intra-abdominal infections.

Type of therapy	Agent(s) recommended for mild-to-moderate infections	Agent(s) recommended for high-severity infections
Single agent		
β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations	Ampicillin/sulbactam,ª ticarcillin/clavulanic acid	Piperacillin/tazobactam
Carbapenems	Ertapenem	Imipenem/cilastatin, meropenem
Combination regimen		
Cephalosporin based	Cefazolin or cefuroxime plus metronidazole	Third/fourth-generation cephalosporin (cefotaxime, ceftriaxone, ceftizoxime, ceftazidime, cefepime) plus metronidazole
Fluoroquinolone based	Ciprofloxacin, levofloxacin, moxifloxacin or gatifloxacin, each in combination with metronidazole ^b	Ciprofloxacin in combination with metronidazole
Monobactam based		Aztreonam plus metronidazole

^a Because increasing resistance of *Escherichia coli* to ampicillin and to ampicillin/sulbactam has been reported, local susceptibility profiles should be reviewed before use.

^b Because increasing resistance of *Bacteroides fragilis* group isolates to available quinolones has been reported, these agents should be used in combination with metronidazole. A trial of moxifloxacin without metronidazole is ongoing.



Moxifloxacin Study in cIAI Clinical Response (TOC)[†]



[†]**Primary endpoint** Efficacy-valid population



Moxifloxacin Study in cIAI

Bacteriological Response



p=NS; 95% Confidence Interval (-9.9%, 8.7%).

Microbiologic response includes eradication and presumed eradication at TOC in the MBE population (N=313) Data on File, Schering Corporation. Study #100272. Malangoni M et al. ICAAC 2004. Washington DC. Abstract #L-990.



Moxifloxacin Study in cIAI



p=NS

Microbiologic success includes eradication and presumed eradication at TOC in the MBE population (N=313) Data on File, Schering Corporation. Study #100272.

Data on File, Schering Corporation. Study #100272. Malangoni M et al. ICAAC 2004. Washington DC. Abstract #L-990.

....The need for speed: il laboratorio di Microbiologia e le Urgenze Infettive



Moxifloxacin Study in cIAI Overall Safety Profile

Adverse Event	Moxifloxacin (N=329) n (%)	PIP/TZO IV → AMOX/CLA PO (N=327) n (%)
Any treatment-emergent adverse event (AE)	276 (83.9)	271 (82.9)
Died	6 (1.8)	7 (2.1)
Serious AE	63 (19.1)	66 (20.2)
Premature discontinuation due to AE	34 (10.3)	28 (8.6)
Any drug-related adverse AE (≧2%)	82 (24.9)	90 (27.5)
Diarrhea	16 (5)	26 (8)
Nausea	16 (5)	13 (4)
Gamma glutamyl transferase increase	8 (2)	5 (2)



Tigecycline for Complicated IAI

 Pooled date from 2 phase 3 studies comparing Tigecycline to Imipenemcilastatin in 1642 adults



Table 3. Clinical cure rate, by baseline diagnosis, (microbiologically evaluable population) at test-of-cure visit.

Clinical diagnosis	Tigecycline		Imipenem-cilastatin		Difference (tigecycline – imipenem-
	No. of patients/total	Percentage of patients (95% Cl)	No. of patients/total	Percentage of patients (95% CI)	cilastatin), % (95% Cl)
Complicated appendicitis	232/263	88.2 (83.7–91.8)	234/262	89.3 (84.9–92.8)	-1.1 (6.8 to 4.6)
Complicated cholecystitis	67/69	97.1 (89.9–99.6)	70/74	94.6 (86.7–98.5)	2.5 (-6.4 to 11.4)
Intra-abdominal abscess	40/51	78.4 (64.7–88.7)	35/45	77.8 (62.9–88.8)	0.7 (-17.0 to 18.8)
Perforation of the intestines	38/51	74.5 (60.4–85.7)	29/40	72.5 (56.1–85.4)	2.0 (-17.0 to 21.8)
Complicated diverticulitis	23/32	71.9 (53.3–86.3)	30/42	71.4 (55.4–84.3)	0.4 (-22.1 to 21.7)
Gastric and abdominal perforations	23/25	92.0 (74.0–99.0)	23/25	92.0 (74.0–99.0)	0.0 (-20.6 to 20.6)
Peritonitis	16/18	88.9 (65.3–98.6)	18/20	90.0 (68.3–98.8)	-1.1 (-27.4 to 23.8)
Other	2/3	66.7 (9.4–99.2)	3/5	60.0 (14.7–94.7)	6.7 (-56.6 to 60.0)
Concomitant bacteremia	33/40	82.5 (67.2–92.7)	40/50	80.0 (66.3–90.0)	2.5 (—16.0 to 19.6)



Caveats on Newer Regimens

- Moxifloxacin
 - Anaerobic resistance to FQ may emerge
 - Limited experience
 - Nothing published yet
- Tigecycline
 - Nausea/vomiting limiting factor in our experience
 - Literature: 44%