



ANTIBIOGRAMMA DIRETTO NEI PAZIENTI SETTICI

U.O. Microbiologia e Virologia
Ospedale S. Chiara Trento

M. Gaino

3° Congresso NewMicro
Padenghe sul Garda, 20-22 Marzo 2013



Emocoltura : interfaccia Reparto-Laboratorio

“Ogni giorno perso per giungere alla diagnosi eziologica di sepsi e per valutare la sensibilità dell'isolato agli antibiotici aumenta di 1-2 volte la probabilità di decesso del paziente”

“La **comunicazione orale e/o scritta** di dati preliminari favorisce l'aggiustamento della terapia iniziata empiricamente e riduce la durata dell'ospedalizzazione”

Bloodstream infections: a Trial of the Impact of Different Methods of Reporting Positive Blood Culture Results.

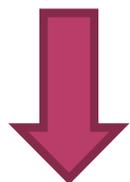
Bouza et al., 2004, Clin Infect Dis, 39: 1161,1169

EMOCOLTURA: interfaccia Reparto-Laboratorio

Il Laboratorio deve assicurare al Reparto:

- una ampia fascia oraria di accettazione
- la refertazione con estrema tempestività alla positivizzazione
- identificazione e antibiogramma preliminare
- comunicazione efficace con il riferimento medico-infermieristico

INTEGRAZIONE REPARTO/LABORATORIO



h
24?



GESTIONE DEL CAMPIONE POSITIVO IN LABORATORIO (1)

Il TLB:

- ◉ rimuove il flacone segnalato come positivo dallo strumento
- ◉ allestisce un preparato microscopico per colorazione Gram
- ◉ inocula il campione in terreni di coltura non selettivi
- ◉ allestisce l'ABG preliminare diretto (+ screening ESBL)
- ◉ allestisce il test plasmacoagulasi in provetta
- ◉ esegue screening molecolare *mecA* (reparti selezionati)

Il DM o DB:

- ◉ comunica tempestivamente al reparto:
n. di flaconi positivi, tipologia del campione (da VP, da CVC..), identificazione presuntiva del microrganismo
in base a quanto suggerito dall'esame microscopico

GESTIONE DEL CAMPIONE POSITIVO IN LABORATORIO (2)

A 24 h: invio AST preliminare
(metodo E-test) / identificazione presuntiva



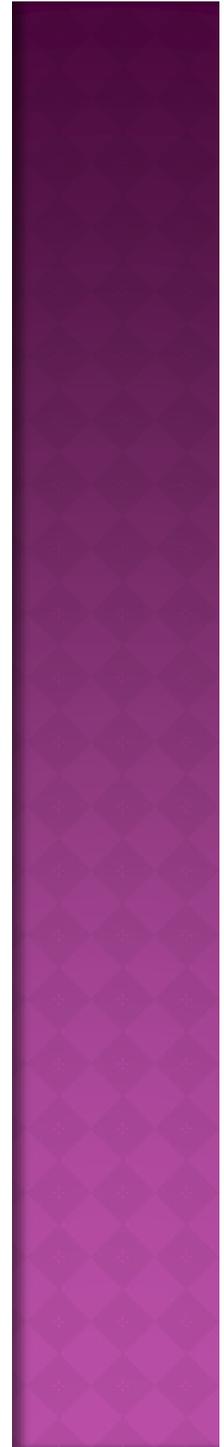
A 48 h: refertazione AST e ID definitivo da isolato
batterico
(pannelli microdiluzione Microscan)



GESTIONE EMOCOLTURE NEL LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA

- ◉ Accettazione campioni h 8-18 (lun-ven), sab 8-13
- ◉ In progetto entro l'anno: accettazione h 24
- ◉ Accettazione campioni “urgenti” fuori orario su contatto diretto medico reparto / dirigente laboratorio (pronta disponibilità)
- ◉ Comunicazione e lavorazione dei campioni positivi e invio AST preliminare garantito sia giorni lavorativi che festivi
- ◉

..... possiamo fare di più?



GESTIONE EMOCOLTURE IL RUOLO DEL LABORATORIO

- ◉ fornire risultati **clinicamente significativi nel minor tempo possibile**
- ◉ le nuove tecnologie possono portare a ridurre in modo significativo i tempi di risposta dei dati microbiologici

ANTIBIOGRAMMA DIRETTO DA EMOCOLTURA:

- ◉ Molecole adeguate alla patologia
- ◉ Determinazione della MIC

Confronto AST rapido diretto

(Alfred 60 AST Alifax)

con AST diretto (metodo E-test)

e AST da colonia in microdiluizione

(ID/ABG Microscan Siemens)

Antibiogramma clinico rapido

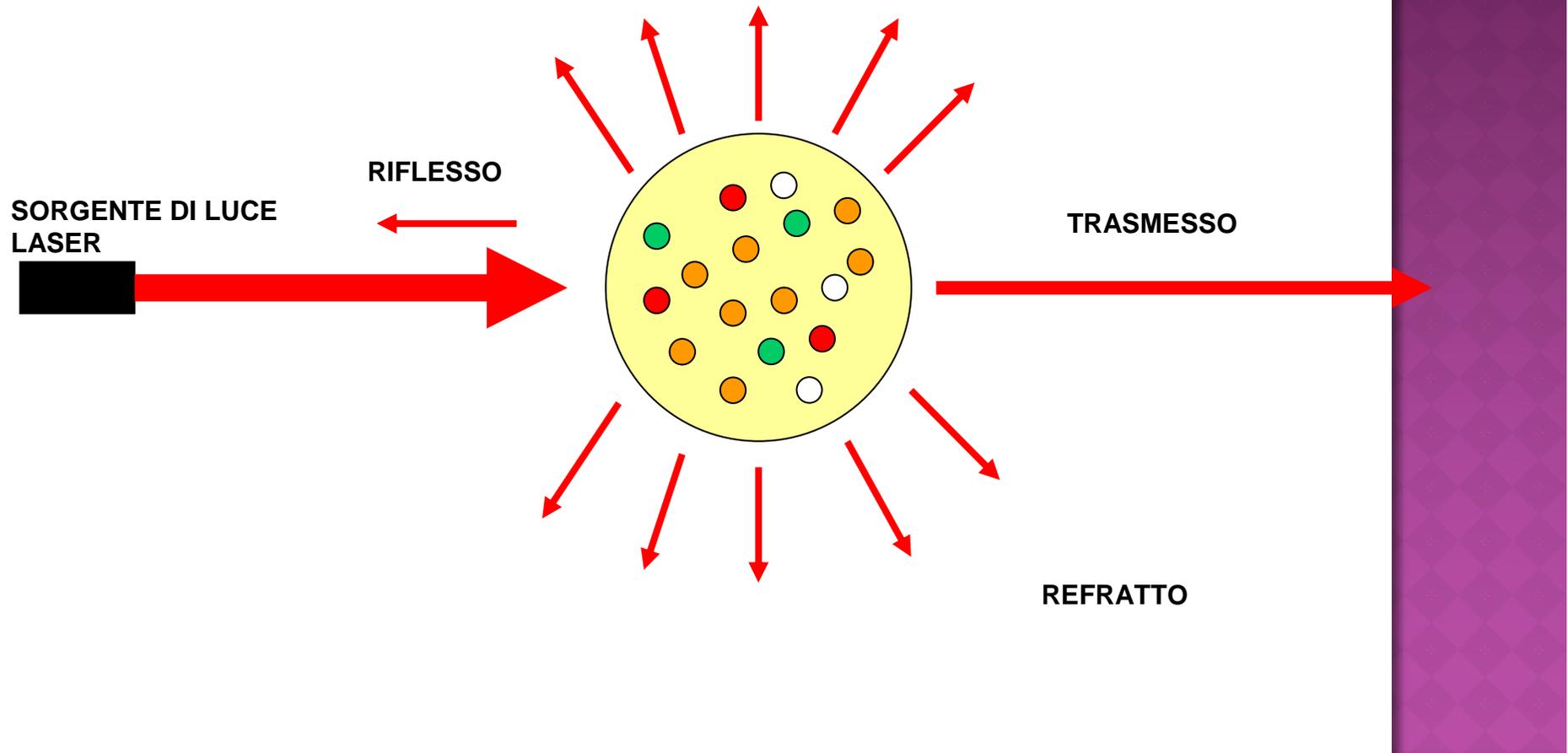
ALFRED



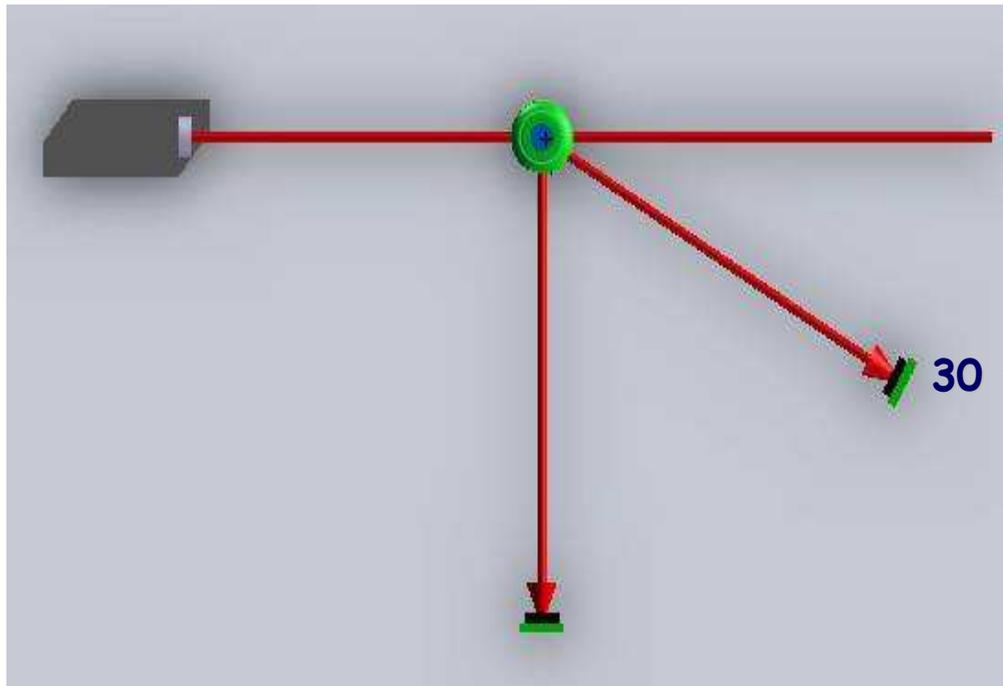
- Dispensazione automatica
- Identificazione campione via barcode
- Turbidimetro integrato per determinazione valore Mc Farland
- Mc Farland Monitor
- Ago capacitivo
- Area refrigerata
- Lettura
- LCD touch screen
- PC integrato
- Stampante integrata
- Connessione al LIS
- Connessione a HB&L
- Soglia di sensibilità programmabile fino a 1 CFU/ml e customizzabile

LIGHT SCATTERING

Un fascio di luce opportunamente polarizzato e collimato viene fatto passare attraverso la fiala contenente il campione.



Laser Light Scattering



30 ° Detector Rileva tutte le particelle "Sensibilità"

90 ° Detector selettivo per forma e dimensione delle particelle "Specificità"

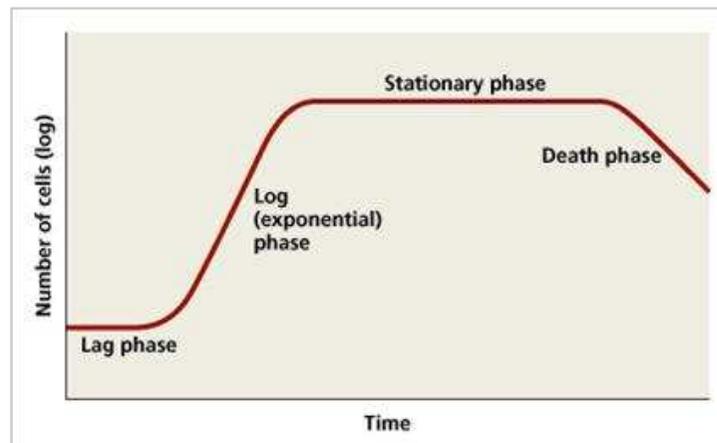


Tecnologia Brevettata



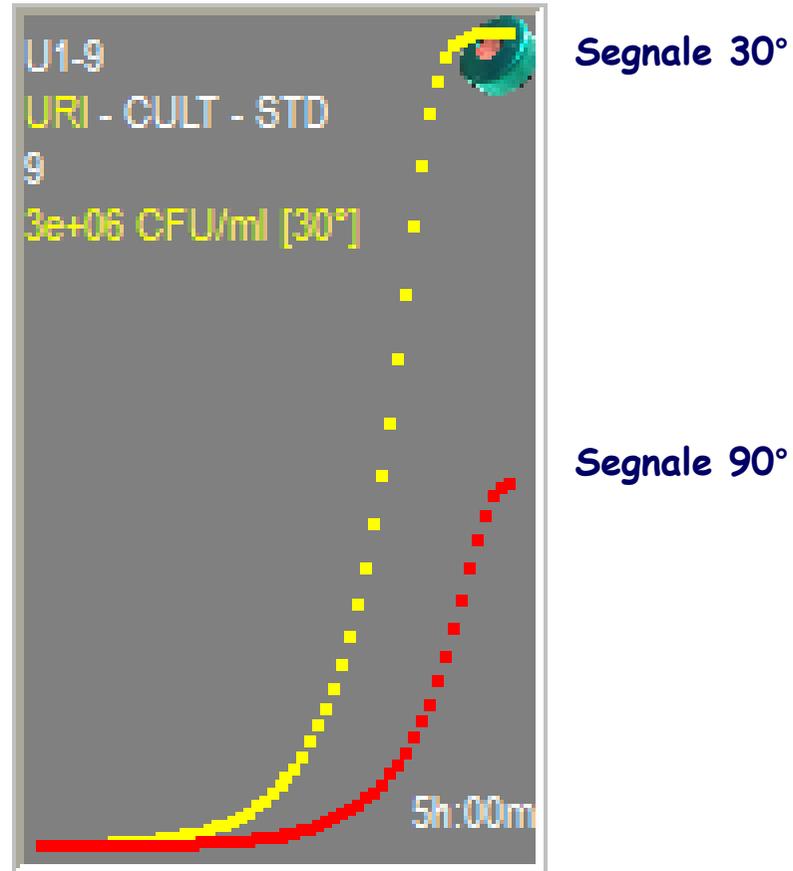
Il brevetto copre la **formula di calcolo** relativa alla cinetica di crescita e replicazione dei batteri che dipende da:

- Numero iniziale dei batteri
- Tempo di Replicazione dei batteri

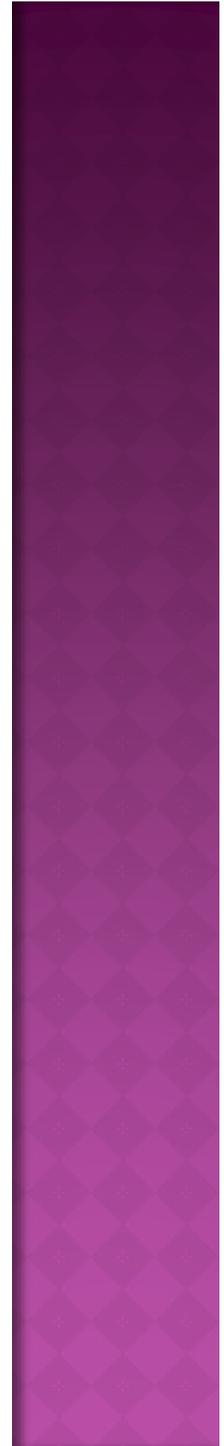


La conta batterica in UFC/mL è relativa alla **conta al momento dell'inoculo nella fiala.**

Laser Light Scattering in Alfred60



LA VISUALIZZAZIONE SULLO STRUMENTO



Antibiogramma preliminare diretto da emocoltura (E-test)

U.O. Microbiologia e Virologia

Pannello

STAFILOCOCCI

- Oxacillina
- Daptomicina
- Levofloxacina
- Linezolid
- Rifampicina
- Teicoplanina
- Trimetoprim/sulfam.
- Vancomicina

Pannello

STREPTOCOCCI

- Ampicillina
- Ceftriaxone
- Gentamicina
- Levofloxacina
- Linezolid
- Meropenem
- Penicillina
- Vancomicina

Antibiogramma preliminare diretto da emocoltura (E-test)

U.O. Microbiologia e Virologia

Pannello GRAM NEGATIVI

- ◉ Amikacina
- ◉ Ciprofloxacina
- ◉ Ceftazidime
- ◉ Ceftriaxone
- ◉ Ciprofloxacina
- ◉ Levofloxacina
- ◉ Meropenem
- ◉ Piperacillina/tazobactam

+ screening ESBL

Lista Antibiotici EUCAST

Antibiotici disponibili secondo Linee Guida EUCAST

Gram-negativi Enterobacteriaceae spp.	Gram-negativi Pseudomonas spp.	Gram-negativi
Amikacin Enterobacteriaceae / EU	Amikacin Pseudomonas / EU	Gentamicin / EU
Aztreonam Enterobacteriaceae / EU	Ceftazidime Pseudomonas*	
Ceftazidime Enterobacteriaceae / EU	Colistin Pseudomonas / EU	
Cefotaxime / EU	Meropenem Pseudomonas / EU	
Ceftriaxone / EU	Piperacillin-Tazobactam Pseudomonas / EU	
Cotrimoxazole / EU	Aztreonam Pseudomonas / EU*	
Piperacillin-Tazobactam Enterobacteriaceae / EU		
Meropenem Enterobacteriaceae / EU		
Amoxicillin-Clavulanate / EU*		
Norfloxacina / EU*		
Cefuroxime / EU*		
Ampicillin Enterobacteriaceae / EU*		
Gram-positivi Stafilococchi spp.	Gram-positivi Enterococchi spp.	Gram-positivi
Amikacin Stafilococchi / EU	Ampicillin Enterococchi / EU	Linezolid / EU
Cefoxitin Staph. aureus / EU	Cotrimoxazole Enterococchi / EU	Teicoplanin S. aureus and Enterococchi / EU
Cefoxitin SCN / EU	Vancomycin Enterococchi / EU	
Clindamycin Stafilococchi / EU		
Cotrimoxazole Stafilococchi / EU		
Gentamicin Stafilococchi / EU		
Vancomycin Stafilococchi / EU		
Teicoplanina SCN / EU*		
Ampio Spettro		
Ciprofloxacin / EU		
Levofloxacin / EU		
Fosfomicina / EU*		

PANNELLO EUCAST GRAM NEGATIVI

- ◉ AMIKACINA ENTEROB.
- ◉ AMIKACINA PSEUDOM.
- ◉ CEFTRIAXONE
- ◉ CIPROFLOXACINA
- ◉ COLISTINA PSEUDO
- ◉ LEVOFLOXACINA
- ◉ MEROPENEM ENTEROB.
- ◉ MEROPENEM PSEUDOM.
- ◉ PIPERA /TAZO ENTEROB.

PANNELLO EUCAST STAFILOCOCCI

- CEFOXITINA SCN
- CEFOXITINA S.A.
- COTRIMOXAZOLO STAF.
- LEVOFLOXACINA
- LINEZOLID
- TEICOPLANINA S.A. ENTEROC.
- TEICOPLANINA SCN
- VANCOMICINA S.A.
- VANCOMICINA SCN ENTEROC.

PANNELLO EUCAST STREPTOCOCCI

- ⊙ AMPICILLINA ENTEROC.
- ⊙ CEFTRIAXONE
- ⊙ LINEZOLID
- ⊙ TEICOPLANINA S.A./ ENTEROC.
- ⊙ VANCOMICINA SCN/ ENTEROC.

Tempo di incubazione ATB: 3h

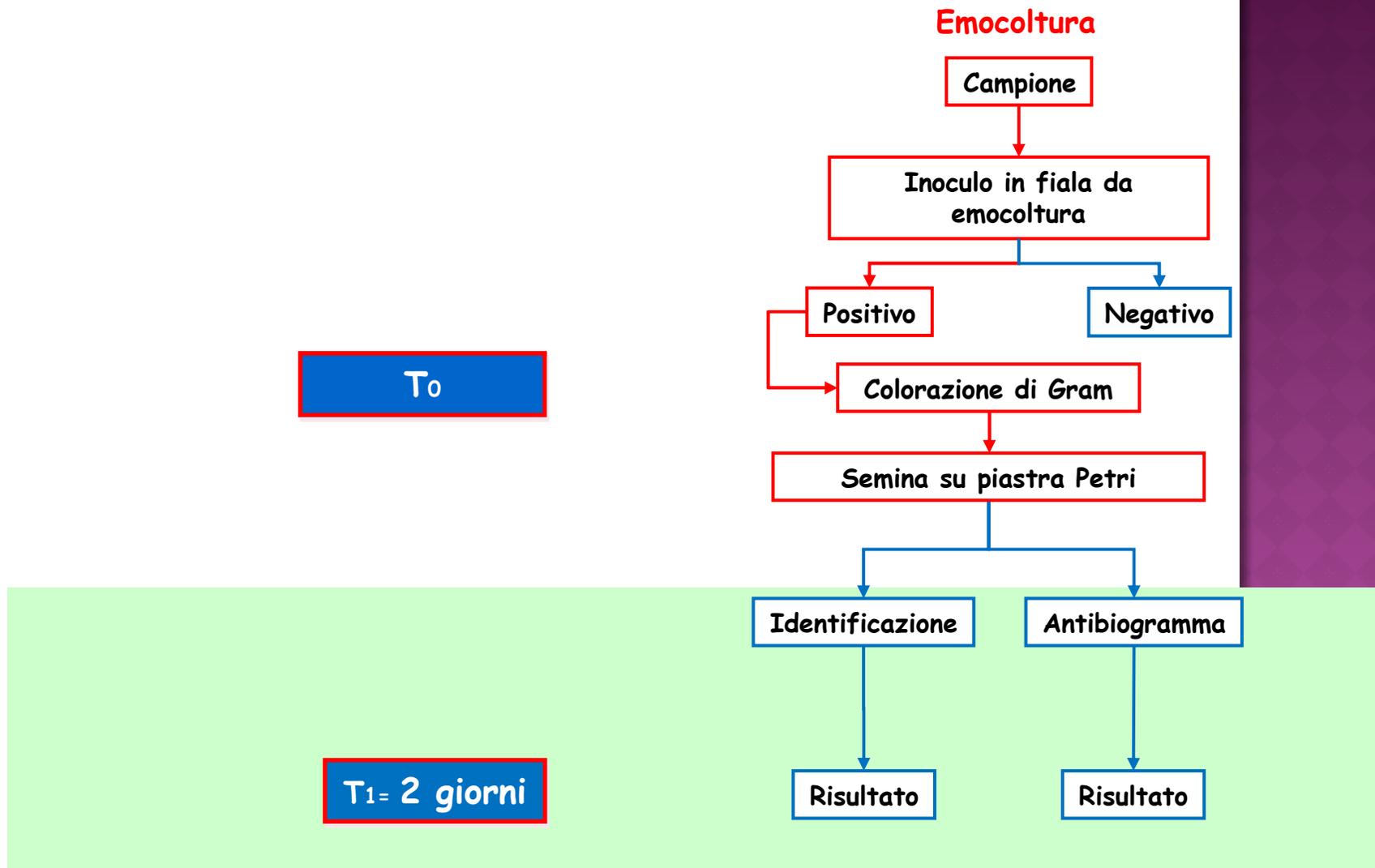
Meropenem-Pip/tazob-Vancomicina: 5 h

ISOLATI BATTERICI DA EMOCOLTURA

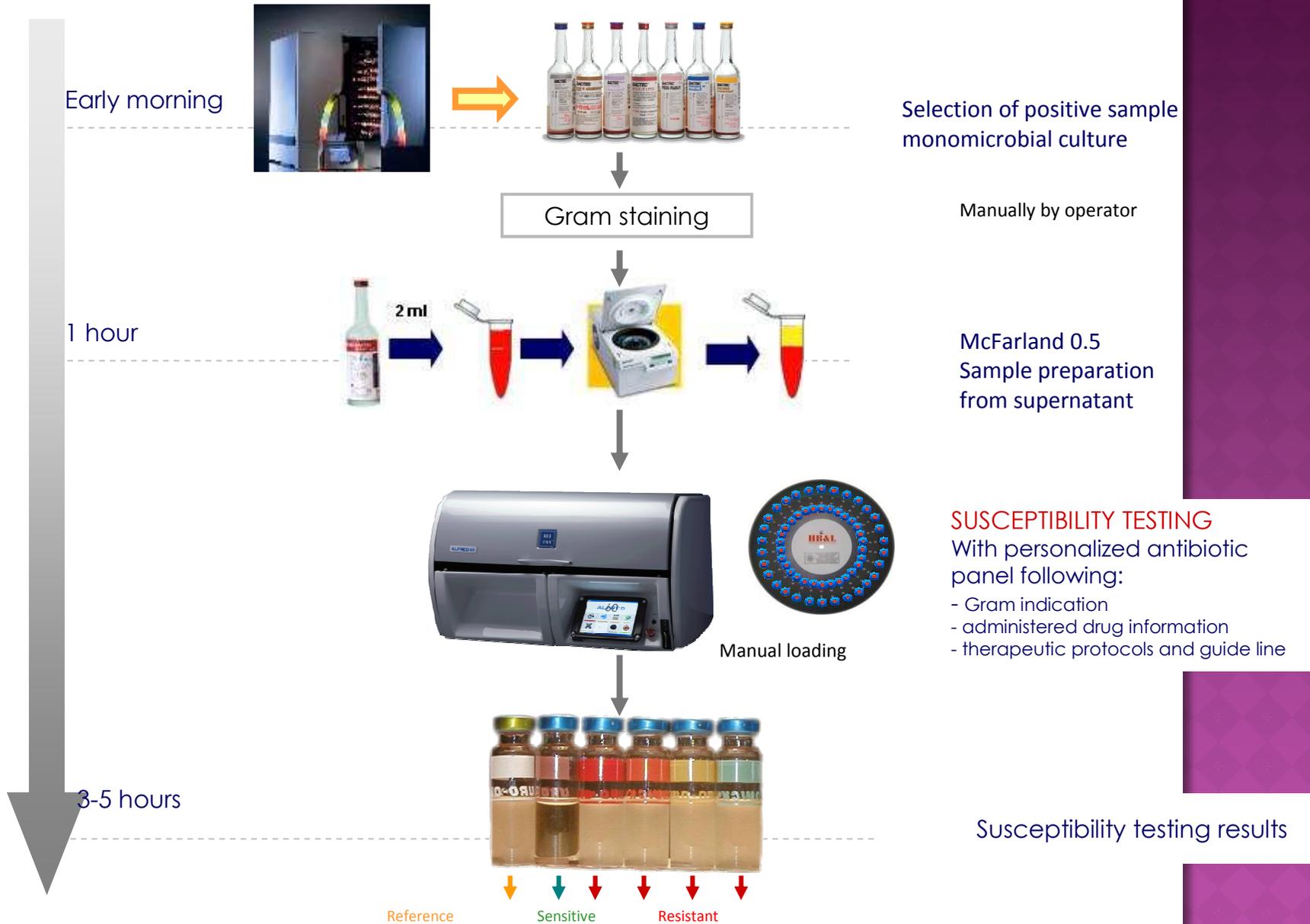
⊙ Gram positivi	N.	⊙ Gram negativi	N.
S. aureus	2	E.coli	11
S. coagulasi neg.	18	E. cloacae	2
E. faecalis	4	K. pneumoniae	2
E. faecium	1	K. oxytoca	1
S. pneumoniae	3	P. aeruginosa	2
Str. viridans	3		
Str. agalactiae	1		
Totale	32	Totale	18

TOTALE CEPPI n. 50

Emocoltura: flusso di lavoro "classico"



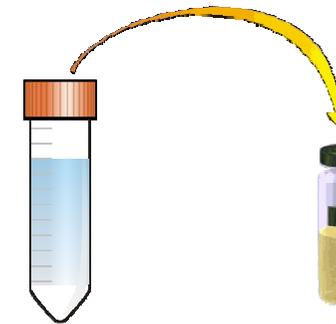
Example of Laboratory workflow



New Bloodculture AST procedure (Rondinelli)



Dilution 1:10 of positive bloodculture broth in saline solution



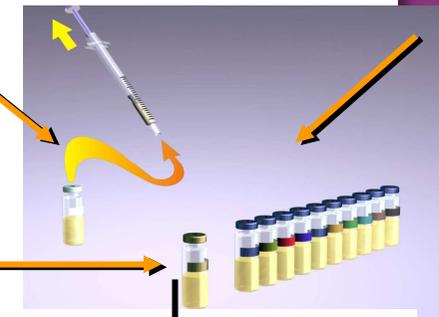
Withdraw 500 μ L of the suspension in a HB&L (BHI) vial with McFarland Monitor active

Pipetting 100 μ L of the 0.5 McF suspension of the sample in the reference vial (gold cap) and in the Antibiotic vials (blue cap) for the antibiotic susceptibility test

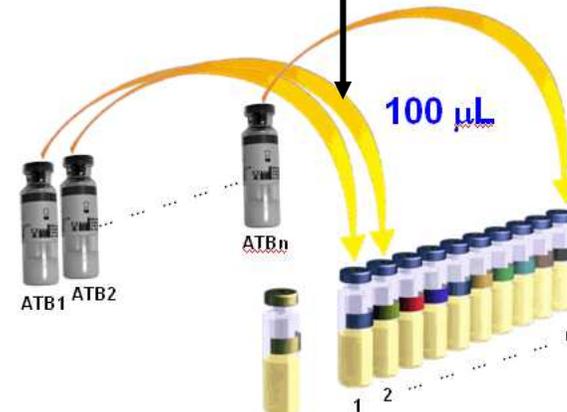
Antibiotic vial panel (blue cap)

Valid (official)

Reference vial (gold cap)



Pipetting 200 μ L of the regenerated antibiotics to reach the CLSI recommended concentrations



GRAM NEGATIVI: RISULTATI

ATB	n. errori	v. major	major	minor	% CONCORD
AMIK	3	/	2	1	85
CIPRO	1	/	1		95
MEROP	1	/	1		95
PIP/TAZ	1	/	1		95
CEFTRIAX	1	1			95

GRAM POSITIVI: RISULTATI

ATB	n. errori	major	minor	% concord.
CEFOXIT	2	2	/	90
COTRIMOX	4	1	3	85
LEVOFL	1	/	1	95
VANCOM	2	1	1	90

GRAM POSITIVI

n. errori	ATB	Alfred 60 AST	E-test/ microdiluz	isolato
2	CEFOXITINA	R	S	S.epidermidis
1	COTRIMOX	R	S	“
1	“	R	I	“
1	“	I	S	“
1	LEVOFL	I	R	“
1	VANCOM	R	S	“
1	VANCOM	I	S	“

GRAM NEGATIVI

n. errori	ATB	Alfred 60 AST	E-test/ microdiluz	isolato
2	AMIKACINA	R	S	E. coli
1	“	I	S	“
1	PIP/TAZOB	R	S	K. pneumoniae
1	MEROP	R	S	“
1	CIPROFL	R	S	“
1	CEFTRIAX	S	R	E. Coli ESBL

ALFRED AST 60 vs.
E-test diretto/microdiluzione:

CONCORDANZA GLOBALE 94.6%



ANTIBIOGRAMMA DIRETTO RAPIDO DA EMOCOLTURA: CONSIDERAZIONI (1)

- ◉ Vantaggi: risultati in 4- 6 h
- ◉ Possibilità di creare un pannello di antibiotici personalizzato e differenziato
- ◉ Flessibilità → modificare al momento il protocollo di reparto
- ◉ Elevata correlazione con risultati AST sia manuali che con sistemi automatizzati

ANTIBIOGRAMMA DIRETTO RAPIDO DA EMOCOLTURA: CONSIDERAZIONI (2)

- ◉ conferma efficacia terapia empirica
- ◉ ev. de-escalation
- ◉ monitoraggio antibiotico resistenza
- ◉ → importante se possibile affiancare un metodo di identificazione batterica rapida (MALDI-TOF, Fish, SeptiFast, Microarrays...)



GRAZIE PER
L'ATTENZIONE