

Società Medico Chirurgica di Ferrara

Sabato 10 Maggio 2014
Aula Magna Nuovo Arcispedale S. Anna
Cona, Ferrara

Approccio razionale alla gestione delle spondilodisciti infettive

Il ruolo del Laboratorio di Microbiologia

M.Rita Rossi

UO Semplice di Microbiologia e Sierologia
Laboratorio Unico Provinciale AOU S. Anna Ferrara

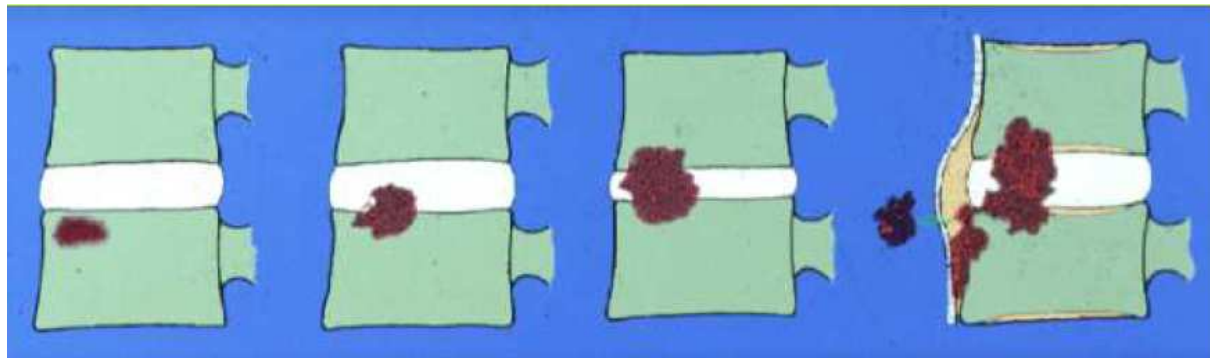
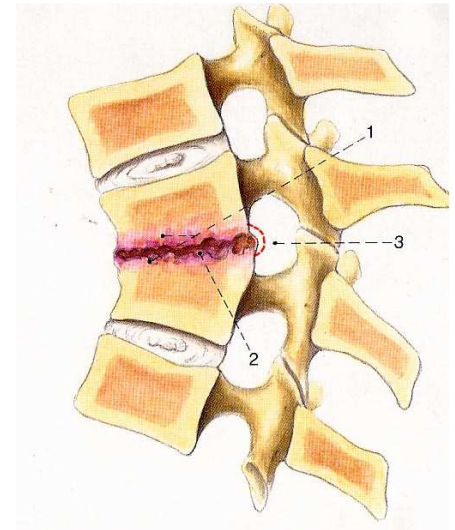


*Società
Medico Chirurgica
di Ferrara*

dal 1846

Spondilodiscite

- Osteomielite della colonna vertebrale
- Infezione accompagnata da distruzione dei corpi vertebrali a partenza dalle vertebre, **spondilite**, con coinvolgimento secondario dei dischi intervertebrali, **discite**
- Se non opportunamente trattata può portare ad **ascesso epidurale**



Epidemiologia



- La spondilodiscite è una patologia rara, con una incidenza stimata da 1/100.000 a _____ 1/250.000 casi all'anno
- Rappresenta il 3-5% di tutti i casi di osteomielite
- Affligge entrambe i sessi - ratio maschi/femmine 1,5-2:1
- L'incidenza è 3 volte maggiore dopo i 70 anni di età
- Rappresenta il 2-7% di tutti i casi di osteomielite piogenica



Fattori di rischio

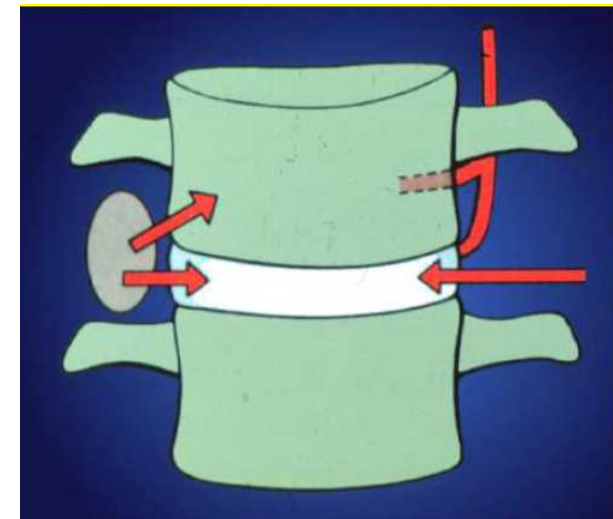
- Diabete
- Droghe
- Immunodeficienza
- Alcolismo
- Insufficienza renale cronica
- Malnutrizione
- Anemia mediterranea
- Artrite reumatode
- Tubercolosi
- Trattamento steroideo

Cause aumento incidenza negli ultimi 20 anni

- Aumentata sopravvivenza di pazienti con comorbidità
- Pazienti in trattamento con immunosoppressori e anticorpi monoclonali
- Ri-emergenza della tubercolosi
- Diagnostica più accurata

Spondilodiscite: origine

- **Ematogena**
 - *Infezione cutanea*
 - *Endocardite*
 - *Infezione tratto genito/urinario, gastrointestinale, tessuti molli, tratto respiratorio, cavo orale, dispositivi intravascolari*
- **Contiguità**
 - *Decubiti*
 - *Ascesso psoas o retrofaringeo*
 - *Traumi*
 - *Mediastiniti*
 - *Pielonefrite*
 - *Estensione processo tubercolare*
- **Localizzazione diretta**
 - *Manovre strumentali*
 - Nucleo aspirazione, discografia
- **Infezione post-operatoria**
 - 0.2-5.6% dopo intervento ernia discale lombare



Spondilodiscite

Markers ematologici e biochimici



○ **Velocità di eritrosedimentazione (VES)**

- E' un indice sensibile di risposta infiammatoria è ma non specifico di infezione in atto
- Valori normali femmine da 0 a 38 mm/h; maschi da 0 a 29 mm/h.
Si eleva nel 90% dei pazienti con infezioni spinali da piogeni: range 43-87 mm/h
- Si normalizza dopo un adeguato trattamento. Non correla con l'età o con la severità dell'infezione

○ **Proteina C-reattiva**

- Aumenta entro 6 ore dall'insorgere di una infezione batterica
- E' più specifico rispetto alla VES. Si eleva nel 90% delle infezioni spinali.
- Si negativizza più velocemente della VES a seguito di un trattamento adeguato.

Un aumento di PCR e/o VES non devono essere intesi come patognomonici di infezione, tuttavia sono test utili per lo screening e il follow-up nella diagnosi e nel trattamento delle infezioni spinali.

○ **Conta dei leucociti (WBC)**

- Utilizzata come marker di infiammazione. Non sempre è elevata nei pazienti con infezioni spinali. Non è un buon marker negli immunodepressi
- Nelle spondilodisciti il range è compreso tra $4-23 \times 10^9 /L$, valore medio $11.8 \times 10^9 /L$
- Trova indicazione nel sospetto di infezione /febbre e guida nella risposta al trattamento

Circa il 70% dei pazienti con spondilodiscite può presentare anemia e circa il 50% può presentare un livello serico di fosfatasi alcalina aumentato

Spondylodiscitis: update on diagnosis and management

Theodore Gouliouris*, Sani H. Aliyu and Nicholas M. Brown

J Antimicrob Chemother 2010; **65** Suppl 3: iii11–24
doi:10.1093/jac/dkq303

Table 1. Comparative features between pyogenic, tuberculous and brucellar vertebral infections that may help differentiation (histological and microbiological features not included).

Diagnostic parameters	Pyogenic	Tuberculous	Brucellar
History	recent distant bacterial infection recent GU surgery or iv access devices previous spinal surgery DM, IVDU, chronic debilitation, immunosuppression	history of TB infection or current extraspinal manifestations originating from countries with high TB incidence	history of <i>Brucella</i> infection travel to endemic country, rural areas, consumption of unpasteurized products, occupational history
Onset	acute or subacute	subacute	acute or subacute
Clinical findings	pyrexia more common acute sepsis	gibbus deformity more common pyrexia less common	gibbus deformity rare
Laboratory findings	CRP, ESR, WCC higher, particularly in acutely septic patients	WCC less helpful	WCC less helpful CRP, ESR less elevated
CT/MRI	usually lumbar spine disc with neighbouring vertebrae affected anterior part of vertebra (except post surgery)	CRP, ESR less elevated usually thoracic and/or lumbar spine multiple segments disc may be spared posterior vertebral elements affected large paraspinal/psoas abscesses calcification	usually lumbar spine 'parrot beak' osteophytes vertebral collapse and spinal cord compression are rare anterior superior end plate affected

GU, genitourinary; IV, intravenous; DM, diabetes mellitus; IVDU, intravenous drug user; CRP, C-reactive protein; ESR, erythrocyte sedimentation rate; WCC, white cell count; CT/MRI, computed tomography/magnetic resonance imaging.

Piogeni

- **Stafilococchi:** più del 50%
 - ***S.aureus*** da diffusione ematogena causa di infezione batterica monomicrobica nel 20-84% dei casi
 - ***S.coagulasi negativa*** (5-16 %) da batteriemie correlate a dispositivi intracardiaci o post operatorie, inoculo diretto
- **Bacilli Gram-negativi:** circa il 7-33%
 - ***E.coli, Proteus, Klebsiella, Enterobacter*** da infezioni del tratto urinario in pazienti anziani
 - ***Salmonelle*** minori rari casi associati ad anemia falciforme o aneurisma dell'aorta
 - ***Pseudomonas*** associata ad assunzione di droghe per via venosa
 - ***Kingella kingae, Bartonella henselae*** raramente causa spondilodisciti pediatriche
- **Bacilli Gram-positivi:** rari
 - ***Actinomyces e Nocardia***
- **Streptococchi:** circa il 5-20%,
 - **Viridanti, beta-emolitici di gruppo A e B o Enterococchi** spesso associati ad endocardite. In 2/2064 casi isolato *S.pneumoniae*

Piogeni

- **Miceti:** 0,5 -1,6% (fino al 6,9% in un report), correlati a immunosoppressione
 - ***Candida spp***, fattori di rischio: uso di antibiotici ad ampio spettro, accessi venosi in situ, droghe; secondario ad endoftalmiti
 - ***Aspergillus spp e Cryptococcus neoformans*** in tutto il mondo
 - ***Blastomyces dermatitidis e Coccidioides immitis*** endemico in certe aree geografiche
- **Anaerobi:** circa il 4% dei casi
 - ***Propionibacterium acnes*** correlato a impianti protesici
 - ***Bacteroides fragilis*** correlato a infezioni pelviche o intraddominali
- **Parassiti:** estremamente rare
 - ***Echinococcus*** in aree endemiche
- **Infezioni polimicrobiche:** <10% dei casi
 - Da uno studio su biopsie:
 - 51% un solo organismo
 - 16% due organismi
 - 8% più di due

Diagnosi microbiologica



Perché identificare il patogeno?

○ **L'identificazione del germe è essenziale per confermare la diagnosi e guidare il trattamento**

- La gamma dei potenziali patogeni è vasta
 - Esiste la possibilità di resistenza agli antibiotici sia per patogeni acquisiti in ospedale che per patogeni comunitari
- L'utilizzo di terapia empirica ad ampio spettro determina complicanze come diarrea associata a *Clostridium difficile* ed **elevati costi per le cure sanitarie**. La terapia empirica dovrebbe essere riservata a pazienti con sepsi severa subito dopo aver prelevato tre set di emocoltura

Diagnosi microbiologica - indagini indirette



Emocolture:

- A scopo diagnostico prelevare sempre 3 set di emocoltura in presenza o in assenza di febbre. Dopo biopsia vertebrale prelevare sempre 3 set da emocoltura

- Rappresentano un metodo semplice ed efficace per identificare i batteri responsabili di spondilodiscite quando l'infezione è monomicrobica e la sorgente è ematogena. Possono fallire nel caso di infezione polimicrobica con biopsia positiva
- Nel caso di spondilodisciti clinicamente definite, la resa delle emocolture varia dal 40 al 60%
- Minore è la resa nel caso di infezioni post-chirurgiche per cui trova indicazione la biopsia per confermare la diagnosi
- Nel caso di sospetta Brucella è possibile prolungare l'incubazione
- **Sierodiagnosi** per *Brucella spp* o *Bartonella henselae* (nei bambini esposti a graffio di gatto), antigene *Criptococco* (nel caso di infezioni fungine invasive)
- **Prelievo dalla presunta «porta d'entrata»**, cutanea, urinaria, catetere vascolare...



Diagnosi microbiologica - **indagini dirette**

- **Biopsia/e** (percutanea o chirurgica)

Permette l'esecuzione di:

1. Indagini microbiologiche:

- **Esame culturale** per aerobi, anaerobi, miceti, micobatteri. *Per Brucella può essere indicato prelievo di midollo da diversa sede.*
- **Diagnosi molecolare** per *S.aureus* meticillino resistente (**mecA**) o *M.tb complex*/resistenza alla rifampicina

2. Esame istologico differenziale

forma tubercolare, da *Aspergillo* o da *Candida*, forme non infettive (degenerativa, tumorale o altro)

- **Campione intraoperatorio**
(positivo nel 75% dei casi)

Biopsia, quanti prelievi bioptici?

Salvo impossibilità tecniche, **eseguire 5 prelievi almeno 2 settimane dopo l'interruzione della terapia antibiotica (per evitare falsi negativi)**

- 4 prelievi per Microbiologia
- 1 prelievo per Istologia (se indicato)



Recommandations de Pratique Clinique pour les spondylodiscites primitives, et secondaires à un geste intra-discal

Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française
Aspect diagnostiques des spondylodiscites infectieuses J.M.Besnier 2007

Biopsia vertebrale, modalità di trasporto e conservazione



○ Per Microbiologia

Inserire in 4 diverse provette con tappo a vite rosa contenenti **brodo di trasporto** eliminando il tampone associato:

- 1° biopsia esame colturale germi/miceti
- 2° biopsia esame colturale germi/miceti
- 3° biopsia esame colturale germi/miceti
- 4° biopsia per **diagnosi molecolare**:
 - target ***S.aureus* meticillino-resistente** (MRSA)
 - o, se indicato, ricerca Micobatteri: **microscopico, coltura, PCR M.tb complex/resistenza alla rifampicina**

Consegnare al più presto alla Microbiologia. Se non è possibile conservare a temperatura ambiente per massimo 24 h.

○ Per Istologia (se indicato)

- 1 prelievo

Fissazione immediata in formolo 10%

Perché campioni biotici multipli per Microbiologia?

Il prelievo di campioni biotici multipli **per la Microbiologia** è indispensabile al fine di:

1. **aumentare la sensibilità dei metodi colturali**
2. **distinguere i microrganismi contaminanti dai patogeni**

Ciascun campione, previa omogeneizzazione, sarà risospeso tramite vortex in 2 ml di brodo di coltura **e inoculato:**

- › 0,5 ml in agar sangue e 0,5 ml in agar cioccolato, incubati a $36\pm 1^\circ\text{C}$ in atmosfera arricchita con CO_2 per 5 giorni
- › 0,5 ml in agar Schaedler, incubato a $36\pm 1^\circ\text{C}$ in anaerobiosi per 7-10 giorni
- › 0,5 ml in brodo Thioglycollate per aerobi/anaerobi esigenti, incubato per 14 giorni a $36\pm 1^\circ\text{C}$ per fastidious organisms

Le colture per **aerobi** saranno esaminate per verificare la crescita di eventuali colonie in prima, seconda e quinta giornata

Le colture per **anaerobi** saranno esaminate per verificare la crescita di eventuali colonie in prima, seconda, quinta e decima giornata

Le **colture in brodo** saranno osservate quotidianamente per verificare l'intorbidamento del terreno. Nel caso di positività e a fine incubazione si procederà a subcoltura di 10ul di brodo su terreni solidi.

Nel caso di sviluppo:

- **Identificazione dei microrganismi**
- **Antibiogramma**

Refertazione

La **crescita di un microrganismo virulento**, es. *S.aureus*, in un singolo campione può essere rappresentativa di infezione → **identificazione e antibiogramma**

- La **crescita di un microrganismo potenzialmente contaminante**, es. stafilococchi coagulasi negativa, *P.acnes*, **da un singolo campione** non può essere di per sé indicativa dell'agente eziologico di infezione e il suo ruolo deve essere valutato nel contesto di altre evidenze disponibili → **identificazione, antibiogramma e commento «possibile microrganismo contaminante: valutarne la significatività clinica»**
- La **crescita di un microrganismo esclusivamente dall'arricchimento** in brodo → **identificazione, antibiogramma e commento «possibile microrganismo contaminante: valutarne la significatività clinica»**
- **L'assenza di crescita** da tutti i campioni sarà refertata come **«assenza di crescita»**. Trattamento antibiotico in atto?

Spondilodisciti – efficacia dell'esame microbiologico

Riferimento bibliografico	Esame colturale positivo	Batterio isolato con maggior frequenza
Current Diagnosis and Treatment of Spondylodiscitis Dtsch Arztebl Int. Mar 2008; 105(10): 181-187. Review Article	Nel 49% - 83% dei casi	S.aureus tra 30% e 80%
Pellizzer G, et al. SIMIT 2012	In 28/52 casi - 54%	S.aureus: 10 casi (35.7%) Stafilococchi coagulasi negativa: 2 casi (7.1%) Gram-negativi: 2 casi (7.1%) Anaerobi: 1(3.5%)
Pyogenic spondylodiscitis: the Newcastle cohort S F Raffe et al. ECCMID 2013:P2033	In 19/30 casi- 63%	S.aureus isolato in 15 casi (50%)

Spondilodisciti infettive-patogeni in causa

N° pazienti 81 . Età media 57.7 (range18-97)

38 acquisite in comunità e 43 in ospedale

L'esame colturale ha avuto esito positivo in 62 casi (**76.5%**):

S.aureus: 28 casi (43.1%)

Stafilococchi coagulasi negativa: 8 casi (12.3%)

Pseudomonas: 8 casi (12.3%)

Miceti : 6 (9.2%)

Table 2

Microorganisms distribution.

Microorganisms	CA spondylodiscitis	HA spondylodiscitis without spinal surgery	HA spondylodiscitis with spinal surgery	Total
MRSA ^a	3	2	3	8
MSSA ^b	13	3	4	20
MR-CNS ^c	1	1	2	4
MS-CNS ^d	3	1	0	4
<i>Streptococcus</i> spp.	6	1	0	7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	2	4	8
<i>Candida</i> spp.	0	3	1	4
<i>Aspergillus</i> spp.	0	0	2	2
Others	3	2	3	8
Total	31	15	19	65

^a Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

^b Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*

^c Methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci

^d Methicillin-sensitive coagulase-negative staphylococci

Spondylodiscitis: Epidemiological and Microbiological Features

C.D'agostino et al Infection 38-2010-No.2



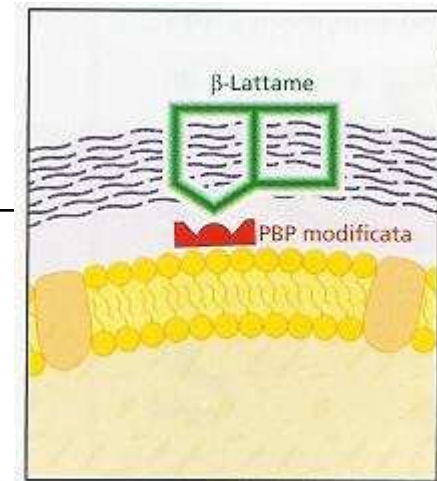
L'antibiogramma nella scelta dell'antibiotico-terapia empirica e mirata

- La **terapia empirica** copre ***S. aureus*** e germi Gram-negativi in particolare ***E.coli***, tenuto conto delle caratteristiche di sensibilità della flora batterica locale e della probabilità di colonizzazione con microrganismi resistenti.
- I dati dimostrano un incremento della meticillino-resistenza negli ultimi 20 anni. Sono segnalati rari casi di osteomieliti comunitarie in età infantile legate a *S.aureus* meticillino resistente, Pantone-Valentine leucocidina positivo ma, al momento attuale, raramente riguardano la spina dorsale
- La diagnosi microbiologica è essenziale per poter adottare un **trattamento antibiotico mirato**
- I dati di sensibilità e i valori di MIC indirizzano nella scelta e nel corretto dosaggio dell'antibiotico. L'efficacia della terapia per i ceppi di MRSA con valori di MIC per vancomicina pari a 2 mg/L si riduce e per assicurare l'effetto terapeutico le linee guida della Infectious Diseases Society of America (IDSA) raccomandano di mantenere la concentrazione di 15-20mg/L...

Staphylococcus aureus Meticillino-resistente

I ceppi MRSA hanno acquisito e integrato nel loro genoma un elemento genetico mobile chiamato "staphylococcal cassette chromosome mec" (**SCCmec**), che **porta il gene per la resistenza alla meticillina (mecA)** in grado di codificare per una variante della penicillin binding (PBP) con una ridotta affinità per la meticillina.

La "cassetta" esiste in diverse varianti, alcune delle quali caratterizzate da fattori di resistenza aggiuntivi.





Varianti genetiche di SCCmec

Sono state identificate **cinque varianti** genetiche di SCCmec:

❖ I ceppi **Hospital acquired HA-MRSA** sono portatori di SCCmec di tipo I, II e III

❖ I ceppi **Community acquired CA-MRSA** portano SCCmec del tipo IV e V più un fattore di virulenza, il gene codificante per la tossina di *Panton-Valentine leucocidina* (PVL), responsabile di fenomeni necrotizzanti come la polmonite necrotizzante

Criteri clinico/anamnestici/fattori di rischio per CA-MRSA e HA-MRSA

- **CA-MRSA** presenta sensibilità ad alcuni antibiotici diversi dai beta-lattamici (clindamicina, fluorchinolonici, trimethoprim-sulfametossazolo, tetracicline e rifampicina)
- **HA-MRSA** presenta multiresistenza

Criteri indispensabili per definizione di CA-MRSA (Padmanabhan e Fraser, 2005):

- Infezione diagnosticata entro 48 ore dal ricovero
- No precedenti infezioni da MRSA
- No ricoveri nell'anno precedente
- No dialisi o interventi chirurgici
- No cateteri o dispositivi medici

Fattori di rischio per HA-MRSA

- Ospedalizzazione nell'anno precedente
- Ricovero in strutture a lunga degenza
- Interventi chirurgici
- Uso di droga per endovena
- Dialisi
- Cateteri o altri dispositivi medici
- Uso di antibiotici ad ampio spettro



HA-MRSA presenta multiresistenza

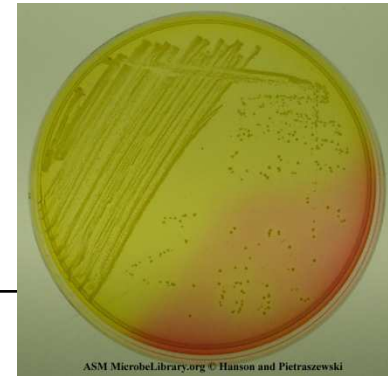
○ **Impatto clinico rilevante**

- **R a tutti gli altri beta-lattamici**
 - Penicilline
 - Cefalosporine
 - Carbapenemi
- **R associata anche ad altre classi di antibiotici**
 - Clindamicina
 - Cotrimossazolo
 - Fluorochinoloni
- **Glicopeptidi spesso unica opzione terapeutica...**
 - Vancomicina
 - Teicoplanina

Antibiotici attivi su MRSA

Antibiotico /anno	Meccanismo	Copertura
Vancomicina/1972 Teicoplanina	Inibizione sintesi parete	Batteri Gram positivi
Linezolid/2000	Inibizione sintesi proteica	Stafilococchi (anche MRSA) Enterococchi (anche VRE) Streptococchi
Daptomicina/2003	Distruzione di molte funzioni della membrana	Batteri Gram positivi
Tigeciclina/2005 approvazione FDA	Inibizione sintesi proteica	Attiva su Gram positivi Gram negativi e anaerobi
Ceftarolina/2010 5° generazione cefalosporine	Inibizione sintesi parete	Stafilococchi (anche MRSA) Streptococchi Enterobatteri (esclusi ESBL produttori e CRE)

Pus e ferite **pazienti esterni** *S.aureus*



Periodo: 01/01/2012 - 30/10/2013

Microrganismo **Staphylococcus aureus**



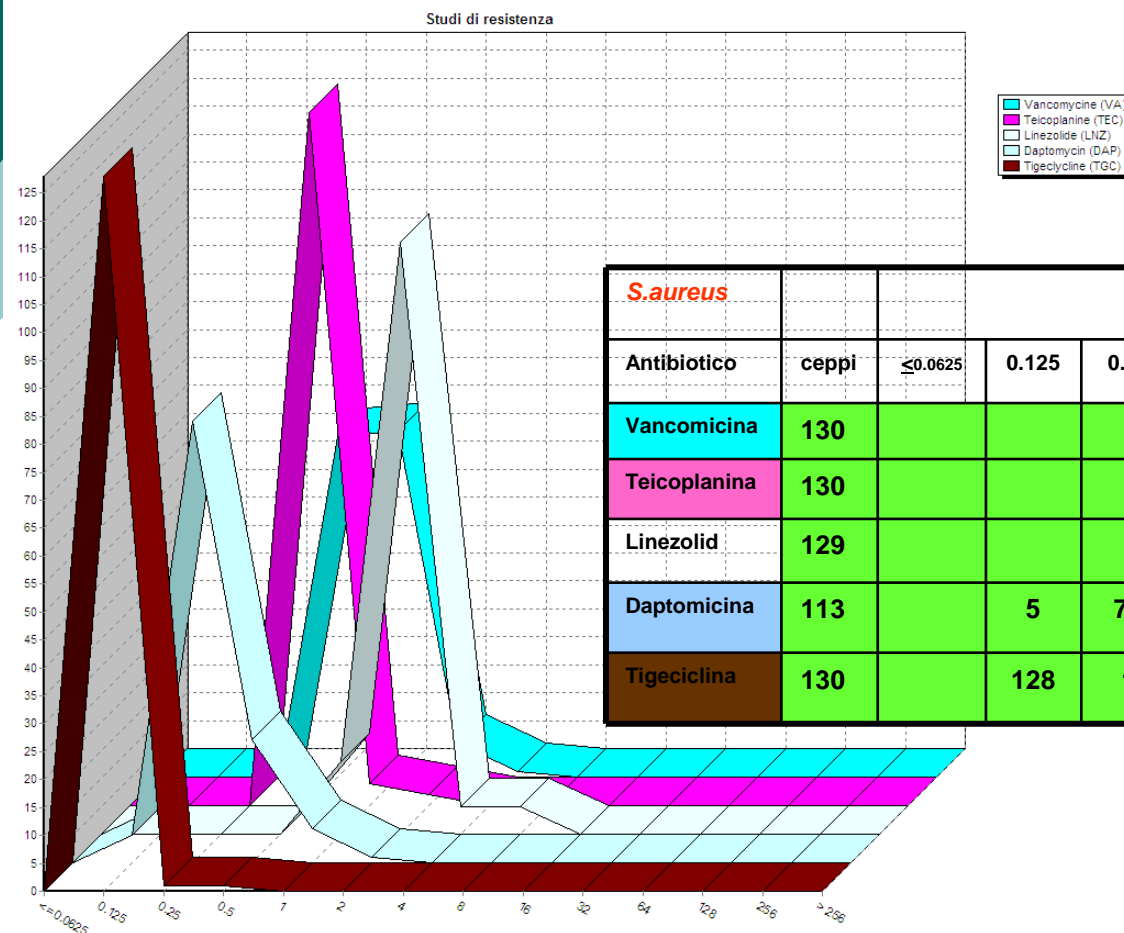
Numero di ceppi considerati: 169

■ R ■ I ■ S □ Non testati

26% MRSA

Pus e ferite **pazienti esterni** *S.aureus*

	Antibiotico	BREAKPOINT EUCAST S ≤
S.aureus	Vancomicina	2
	Teicoplanina	2
	Linezolid	4
	Daptomicina	1
	Tigeciclina	0.5



S.aureus		Concentrazioni testate											
Antibiotico	ceppi	≤0.0625	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	
Vancomicina	130				61	62	6						
Teicoplanina	130				124	4	2						
Linezolid	129					13	106	5	5				
Daptomicina	113		5	79	22	6	1						
Tigeciclina	130		128	1	1								

S.aureus *meticillino resistente*

Anno 2013 EUCAST *per Ospedale*

	2013	2013	2013	2013
S.aureus	AOU S.anna	Argenta	Cento	Delta
Meticillino Resistenza	34% 689 ceppi	33% 16 ceppi	51% 40 ceppi	21% 60 ceppi
VISA, VRSA, Teico e Vanco R	-	-	-	-



	2013	2013
S.aureus	S.Anna	S.Giorgio
MRSA	34%	67%



S.epidermidis **meticillino resistente**

Anno 2013 EUCAST per Ospedale

<i>S.epidermidis</i> 2013	S.Anna	S.Giorgio	Argenta	Cento	Delta
Meticillino Resistente	78%	83%	87%	89%	81%
Teicoplanina Resistente	18%	16%	17%	25%	25%
Vancomicina Resistente	0.5%	0%	0%	0%	0%

M.Rita Rossi

UO Semplice di Microbiologia e Sierologia

AOU S.Anna Ferrara

Pazienti esterni

Sensibilità di *E.coli* isolato da urine per fasce età

TipologiaReparto\Nome = ESTERNI

Periodo: 2013 - Anno

Anni 60-69

Materiale

MITTO INTERMEDIO

Microorganismo

Escherichia coli



Numero di ceppi considerati: 413

R I S

TipologiaReparto\Nome = ESTERNI

Periodo: 2013 - Anno

Anni 70-79

Materiale

MITTO INTERMEDIO

Microorganismo

Escherichia coli



Numero di ceppi considerati: 655

R I S Non testati

Anno 2013 - % ESBL + Per Ospedale

AOU S.Anna e AUSL Ferrara: Argenta Cento Delta

2013	AOU S.Anna ESBL%	Argenta ESBL%	Cento ESBL%	Delta ESBL%
E.coli	19	46	38	33
K.pneumoniae	21	48	39	19
P.mirabilis	26	27	19	43

M.Rita Rossi

UO Semplice di Microbiologia e Sierologia

AOU S.Anna Ferrara



Conclusioni

- L'identificazione del germe è essenziale per confermare la diagnosi e guidare il trattamento
- I dati di sensibilità e i valori di MIC indirizzano nella scelta e nel corretto dosaggio dell'antibiotico
- La stretta collaborazione tra le diverse professionalità è indispensabile sia in fase di scelta dell'iter diagnostico sia nella fase di interpretazione dei risultati
- La messa a punto di un protocollo diagnostico terapeutico è sempre occasione di confronto e aggiornamento formativo

Grazie per l'attenzione

