

Note di diagnostica microbiologica e cenni terapeutici nelle infezioni del paziente con diabete



E. Carretto¹, C. Capatti¹, G. Russello¹, F. Brovarone¹, V. Manicardi²

edoardo.carretto@asmn.re.it

¹ S.C. Microbiologia, IRCCS "Arcispedale Santa Maria Nuova", Reggio Emilia; ² Unità Internistica Multidisciplinare - Montecchio - AUSL Reggio Emilia

Parole chiave: Diabete, Infezioni, Diagnostica microbiologica, Piede diabetico, Sepsis, Polmoniti

Key words: Diabetes, Infections, Microbiology, Diagnosis, Diabetic foot infection, Sepsis, Pneumonia

Il Giornale di AMD, 2013; 16:234-238

Riassunto

È noto che il paziente con diabete è maggiormente predisposto allo sviluppo di complicanze infettive. La presente short review si focalizza sull'importanza di un approccio diagnostico basato sulla corretta prescrizione dei giusti accertamenti microbiologici nel paziente diabetico. Stante la vastità degli argomenti da trattare, poiché tali infezioni di fatto non risparmiano alcun organo, ci si soffermerà in modo sintetico sulle sepsi, sulle polmoniti e sulla diagnostica microbiologica del paziente con infezione del piede diabetico.

Summary

It is well known that diabetic patients have many predisposing factors to different kind of infections. This short paper is focused on the importance of the proper collection of microbiological samples, in order to allow the correct diagnosis for some infectious diseases that occur in this population. In particular, the microbiological diagnosis of sepsis, community-acquired pneumonia and foot ulcers infection will be briefly summarized.

Introduzione

Il paziente diabetico, essendo soggetto a numerosi deficit immunologici, è maggiormente predisposto allo sviluppo di infezioni. I meccanismi che sono alla base dell'aumentato rischio infettivo sono stati già esaurientemente trattati nell'articolo "Il punto sul rischio infettivo nel diabete" della dottoressa Ponziani, cui si rimanda per un approfondimento.

Si narra aneddoticamente che Pasteur, uno dei padri della microbiologia, ebbe a dire, in punto di morte: "The microbe is nothing, the terrain is everything" riprendendo un'affermazione di Claude Bernard⁽¹⁾. Ogni volta che un microbiologo o un infettivologo si trovano a scrivere un articolo scientifico che preveda la frase "questo tipo di infezione è più frequente nell'ospite immunocompromesso", dopo la parentesi succes-

siva un riflesso quasi pavloviano fa immediatamente scrivere "soggetti con diabete". In effetti esistono numerose evidenze che sottolineano come il paziente diabetico abbia una maggiore predisposizione a sviluppare eventi infettivi sia sistemici che localizzati, quali sepsi, infezioni di cute e tessuti molli, osteomieliti, mucormicosi, parodontopatie, pielonefriti, colangiti emfematose, infezioni delle vie urinarie complicate specialmente in pazienti con vescica neurologica.

La sepsi

Per quanto riguarda la sepsi, i pazienti diabetici che la sviluppano sembrano non essere gravati da una mortalità superiore ad altri pazienti, anche in unità critiche. Un recente studio di Chang et al. sembra dimostrare che i pazienti diabetici con sepsi grave tendano a sviluppare con maggiore frequenza complicanze quali l'insufficienza renale acuta, con conseguente necessità di emodialisi, ma hanno un rischio relativamente ridotto di presentare insufficienza respiratoria, epatica o altre disfunzioni d'organo⁽²⁾. Questi riscontri sono stati confermati anche da altri studi^(3,4). Altri lavori non evidenziano differenze sostanziali nella mortalità per sepsi in pazienti con o senza diabete^(5,6); vanno tuttavia segnalati anche altri studi nei quali si era riscontrata una mortalità maggiore nel gruppo di pazienti diabetici ricoverati per polmonite⁽⁷⁾ o pielonefrite⁽⁸⁾. Occorre peraltro notare che, fra tutti quelli citati, tuttavia, solo pochi studi trattano il dato microbiologico in modo appropriato⁽⁶⁾.

L'approccio microbiologico nella diagnosi di sepsi nel paziente con diabete non differisce da quello di altre popolazioni di soggetti. La sepsi rappresenta un'emergenza clinica che deve essere affrontata tempestivamente e, dal punto di vista microbiologico, il cardine diagnostico è l'emocoltura. Questo esame non è una semplice venipuntura, ma una vera procedura diagnostica, con importanti criticità pre-analitiche, analitiche

Basato su una relazione tenuta in occasione del XIX Congresso Nazionale AMD, svoltosi a Roma dal 29 maggio al 1 giugno 2013.

e post-analitiche. Una trattazione dettagliata esula dagli ambiti di questo breve rassegna, tuttavia appare essenziale sottolineare come le informazioni che possono essere fornite da questo esame hanno un impatto critico sia dal punto di vista terapeutico, che dal punto di vista prognostico⁽⁹⁾. È infatti ben noto che ogni ora di ritardo nell'instaurare una terapia adeguata, sia di supporto che antibiotica, nel paziente con sepsi grave o con shock settico si correla con un aumento diretto della mortalità^(10,11).

Brevemente, si ritiene importante sottolineare che le emocolture devono essere eseguite nel paziente febbrile il più precocemente possibile. La situazione ottimale è che esse vengano direttamente effettuate al momento dell'accesso in Pronto Soccorso, prima di iniziare ogni eventuale terapia antibiotica poiché la sensibilità di questa indagine diminuisce drammaticamente dopo anche una singola dose di antibiotico. Oltre alla definizione dell'agente eziologico, le emocolture permettono la valutazione della sua sensibilità agli antibiotici, consentendo una eventuale de-escalation della terapia antimicrobica.

È necessario che la venipuntura sia preceduta da un'accurata disinfezione con clorexidina 2%, lasciata agire per almeno 30 secondi - 1 minuto.

Dovranno sempre essere eseguiti più set emocolturali, intendendosi con set una coppia di brodi per aerobi e anaerobi che devono essere insemnati con la stessa quantità di sangue (in genere 5-8 ml di sangue per flacone). Sono ottimali tre set, mai meno di due, sia per permettere la raccolta di un adeguato volume di sangue (30-60 ml complessivi ripartiti fra i 4-6 flaconi), che per differenziare microrganismi contaminanti da veri patogeni⁽¹²⁾. A questo riguardo, è importante notare che solo se lo "stesso" stafilococco coagulasi negativo (SCN) viene isolato da più set emocolturali (si definisce "stesso" quel microrganismo che ha la stessa identificazione, ad es. *Staphylococcus epidermidis*, e lo stesso antibiogramma) può essere considerato un vero patogeno e non un contaminante, dovuto, ad esempio, a manovre non corrette di disinfezione cutanea⁽¹³⁾.

Se il paziente è portatore di un accesso venoso centrale (CVC), è essenziale ricordare che il valore predittivo positivo dell'analisi è accettabile (specialmente se si tratta di isolamenti di stafilococchi coagulasi negativi), solo se vengono raccolti campioni sia da vena periferica che da CVC. In questo caso, lo stesso microrganismo isolato da vaso centrale e da vena periferica è sicuramente agente eziologico di sepsi. Se il microrganismo viene isolato solo dalla vena periferica e si tratta di uno SCN, di un corinebatterio o di un propionibatterio, è verosimile si tratti di un contaminante. Se il microrganismo viene isolato solo dal vaso centrale e si tratta di uno SCN è invece verosimile si tratti di un batterio che ha colonizzato il catetere e che causa batteriemie transitorie; dovrà quindi essere valutato se mantenere in sede il catetere o rimuoverlo. È interes-

sante rilevare che, se entrambe le emocolture fossero raccolte solo dal CVC, anche in presenza in tutte e due i set dello stesso SCN la significatività dei due isolati (cioè la possibilità che questo microrganismo sia causa della sepsi e non un semplice colonizzante il catetere) è di circa il 50% (come giocare a testa o croce...)⁽¹⁴⁾.

La raccolta di emocolture da CVC e da vena periferica permette altresì di poter diagnosticare se la sepsi è a partenza dal CVC. Per fare ciò, è necessaria la valutazione del timing di positivizzazione. Dopo aver eseguito due prelievi da CVC e da vena periferica (VP), meglio se ripetuti a distanza di 15-30 minuti, si inoculano i brodi per aerobi-anaerobi con la stessa quantità di sangue (es. 8 cc per brodo aerobi-anaerobi da CVC e 8 cc per brodo aerobi-anaerobi da VP) e si inviano immediatamente in laboratorio. Se le emocolture da CVC e da VP sono positive per lo stesso microrganismo e quelle da CVC si sono positivizzate almeno due ore prima di quelle da VP, è verosimile che la sepsi sia a partenza dal catetere^(12,15). Se si rimuove il CVC, è opportuno inviarne la punta in laboratorio; essa deve essere coltivata con metodo quantitativo. Le colture dei terreni liquidi in cui è stata posta la punta del catetere non sono accettabili, non potendosi valutare correttamente la carica microbica di partenza⁽¹⁶⁾.

Dopo aver raccolto le emocolture, occorre inviarle immediatamente al laboratorio e iniziare una terapia antibiotica empirica (a largo spettro, basata sulla realtà epidemiologica e sulla presunta porta di ingresso del microrganismo). A questo riguardo, è importante che, all'atto dell'accesso del paziente, il clinico predisponga anche accertamenti microbiologici mirati sulla possibile sede primaria di infezione, se individuata: potranno quindi essere eseguite laddove necessario, urino-cultura, rachicentesi, ricerca degli antigeni urinari per legionella e pneumococco, ecc.

Il microbiologo deve riferire al clinico i risultati preliminari dell'emocoltura il più tempestivamente possibile, anche se con riscontri preliminari: dovrà essere comunicato il Gram di un'emocoltura positivizzata (ad esempio, segnalando la presenza di bacilli Gram negativi, o cocci Gram positivi), come pure l'eventuale esito di test supplementari (esecuzione di metodiche molecolari di identificazione su flacone, piuttosto che risultati della spettrometria di massa). Una stretta embricazione fra il microbiologo clinico e il medico che ha in carico il paziente è essenziale per migliorare l'outcome.

Le polmoniti

Nel presente articolo si prenderanno in considerazione solo le polmoniti acquisite in comunità (community-acquired pneumonia - CAP): le polmoniti nosocomiali, spesso associate a ventilazione, prevedono un approccio multidisciplinare e la diagnostica ad esse correlate è complessa e non rientra negli ambiti della presente trattazione.

In un recente articolo di Di Yacovo et al. è stato documentato che le CAP nel soggetto diabetico si presentano all'esordio con quadri di maggiore gravità, ma la mortalità tra i due gruppi in esame (soggetti con o senza diabete) non differisce significativamente. Lo spettro di patogeni in causa è simile per le due popolazioni di soggetti e il pneumococco è l'agente eziologico più frequentemente in causa⁽¹⁷⁾.

La diagnosi di CAP nel paziente diabetico non differisce in modo sostanziale da quella del paziente senza diabete. È utile in tal senso rifarsi alle linee guida pubblicate recentemente^(18,19). In particolare, è da sottolineare che nel paziente con forme moderate o lievi, gli accertamenti microbiologici non sono strettamente necessari. Lo divengono invece nel paziente con polmonite severa, che richiede l'ospedalizzazione. In questi soggetti è sempre necessaria l'esecuzione di emocolture, secondo le modalità sopra descritte. È sempre indicata l'esecuzione degli antigeni urinari per *Legionella pneumophila* (i kit in commercio rilevano il sierogruppo 1) e, soprattutto, per *Streptococcus pneumoniae*. Una legionellosi può essere sospettata in caso di polmoniti gravi, specialmente dopo recenti viaggi (trasmissione attraverso impianti di condizionamento dell'aria).

La coltura dell'escreato non ha un valore assoluto *per se*, potendosi riscontrare anche microrganismi commensali del tratto respiratorio, ma può fornire risultati utili se accompagnata dall'esecuzione di una colorazione di Gram che dimostri da un lato l'idoneità del campione (non dovrebbero essere processati campioni salivari), dall'altro una flora microbica predominante e rappresentativa. I risultati dell'esame colturale dovranno essere congruenti con quanto rilevato all'esame microscopico diretto.

Qualora sia presente un essudato pleurico, a seconda della gravità del paziente potrà essere presa in considerazione l'esecuzione di una toracentesi (nel qual caso è importante inviare al laboratorio una quantità sufficiente di materiale, possibilmente nella siringa di prelievo, richiedendo in caso di sospetto clinico anche indagini per la ricerca di micobatteri tubercolari), oppure di indagini più invasive, quali un lavaggio bronco-alveolare o un brushing bronchiale con spazzola di Wimberly. In questi due ultimi casi è opportuno prendere accordi con il laboratorio perché queste indagini richiedono un'analisi quantitativa con conta delle colonie e si avvantaggiano, anch'esse, dalla valutazione preliminare dell'esame microscopico diretto. In pratica, per quantitativi superiori a 10 ml, occorre centrifugare il campione, scartare tutto il materiale lasciando 0.5 ml di pellet, risospendere il materiale nel liquido residuo. A questo punto si osserva il vetrino al microscopio ottico valutando il numero di cellule squamose o bronchiali: se il campione presenta meno dell'1% di tali cellule si considera idoneo. Il risultato di tale indagine deve essere riportato sul referto finale, nelle note. Sui campioni idonei deve essere valutata la presenza di cellule parassitate o con microrga-

nismi adesi alle membrane cellulari in percentuale superiore al 5% del totale⁽²⁰⁾.

In pazienti con CAP le indagini sierologiche (ad esempio per micoplasmi o clamidie) hanno valore pressoché esclusivamente epidemiologico.

È possibile che in un prossimo futuro la diagnostica microbiologica di queste infezioni possa avvalersi anche di tecniche molecolari, al momento impiegate nella diagnostica virologica (influenza, virus respiratorio sinciziale). Il limite di queste tecniche è che il riscontro del genoma di un microrganismo non è *per se* indice di infezione, ma può per contro rappresentare solo una condizione di commensalismo.

Relativamente alla terapia delle CAP, essa è ampiamente descritta nelle linee guida sopra riportate^(18,19) e si basa, nelle forme non complicate, dell'associazione fra cefalosporina di III generazione e macrolide o di fluorochinoloni respiratori.

Infezioni del piede diabetico

Le infezioni del piede diabetico sono gli eventi infettivi che più frequentemente complicano il decorso della vita di questi pazienti; la loro gestione non è scevra da complessità sia dal punto di vista diagnostico, che da quello terapeutico.

Dal punto di vista epidemiologico possono esistere importanti differenze fra le varie casistiche. Il motivo di tale variabilità è relativo alla fase preanalitica di raccolta dei campioni per la diagnosi. Sebbene sia universalmente riconosciuta la maggiore sensibilità e specificità dei campioni profondi (agobiopsie o biopsie), alcuni studi continuano a considerare gli isolamenti da tamponi superficiali come significativi. Per questo, in alcuni lavori viene ascritto un ruolo patogeno significativo agli stafilococchi coagulasi negativi, che per contro non vengono considerati in altre pubblicazioni^(21,22). Più in generale, questo tipo di infezioni riconoscono come agenti eziologici Gram positivi quali stafilococco aureo, streptococchi beta-emolitici, enterococchi e fra i Gram negativi enterobatteri e *Pseudomonas aeruginosa*. Più difficile da stabilire il ruolo di altri microrganismi, quali corinebatteri, stafilococchi coagulasi negativi, Pseudomonadaceae diverse da *Pseudomonas aeruginosa* (ad esempio, *Stenotrophomonas maltophilia*) il cui significato eziologico può aversi solo dopo ripetuti isolamenti in coltura pura. Ancora difficile da valutare epidemiologicamente il ruolo degli anaerobi, perché spesso non correttamente ricercati dal punto di vista microbiologico. In un lavoro di Citron et al. relativo alle infezioni moderate-severe, l'84% di esse sono risultate polimicrobiche, nel 53% isolandosi soli aerobi e nel 47% una flora mista aerobia-anaerobia. In questo lavoro, fra gli anaerobi la quota più rilevante era rappresentata da peptococchi, peptostreptococchi, *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp. e *Bacteroides fragilis*. I ceppi multiresistenti (stafilococchi aurei resistenti alla meticillina - SAMR, *Pseudomo-*

nas aeruginosa resistente a più classi antibiotiche) erano più spesso coinfectanti e non isolati in monoflora⁽²³⁾.

Il ruolo dei lieviti è assai controverso e varia grandemente a seconda delle casistiche; occorre anche qui tenere presente che il ruolo patogeno è accertato solo da isolamenti ripetuti, poiché un singolo isolamento può rappresentare una colonizzazione.

La progressiva diffusione di ceppi multiresistenti rappresenta oggi un problema maggiore di sanità pubblica. In un lavoro di Lipsky et al. sulle infezioni del piede diabetico veniva sottolineato come nel corso degli anni si fosse assistito a un progressivo aumento dei ceppi di SAMR (30-50%). Tali isolamenti apparivano correlati con uno stato di colonizzazione a livello nasale del paziente, ma non con fattori di rischio altrimenti noti, quali pregresse ospedalizzazioni e abuso di antibiotici. Tali fattori di rischio risultavano invece correlati con un aumento nella frequenza di isolamenti di Gram negativi multiresistenti⁽²⁴⁾. Nell'ambito della diffusione di SAMR, sono peraltro ben descritte notevoli variazioni fra centro e centro.

Linee guida per la diagnosi e il trattamento delle infezioni del piede diabetico sono state recentemente proposte dalla Infectious Diseases Society of America (IDSA)⁽²⁵⁾. In esse viene chiaramente specificato che a orientare la diagnostica microbiologica deve essere la clinica del paziente. In particolare, è necessario utilizzare sistemi classificativi di gravità (es PEDIS Grade o IDSA Infection Severity ...), che peraltro andrebbero specificati nella richiesta per il microbiologo.

In mancanza di segni o sintomi di infezione (grado 1), oppure in presenza di infezione (grado 2) senza una terapia antibiotica recente, gli accertamenti microbiologici non andrebbero eseguiti. Potrebbe essere utile, in questi pazienti, eseguire un tampone nasale per la ricerca di stafilococco aureo; se isolato, il paziente potrebbe essere bonificato con l'utilizzo di mupirocina.

In presenza di infezione (grado 2) con terapia antibiotica recente, oppure di infezioni moderate o severe (gradi 3 e 4), sono invece indicate le indagini microbiologiche.

La microbiologia del piede diabetico, come detto, non è semplice, primariamente per le difficoltà di una corretta raccolta dei campioni da inviare al laboratorio. È indispensabile che la ferita venga adeguatamente pulita. L'esecuzione di tamponi superficiali non è consigliabile e, in particolare, non sono accettabili per l'analisi microbiologica tamponi da lesioni non curettate e, soprattutto, tamponi eseguiti da tramite fistolosi. Il rischio è quello di isolare microrganismi commensali che, se trattati, comportano un eccessivo abuso di antibiotici. Le indagini a maggiore sensibilità sono relative a prelievi tissutali, che devono sempre essere eseguiti tramite biopsia o curettaggio.

I tamponi superficiali diagnosticano correttamente il 75% delle infezioni di cute e tessuti molli e solo il 30% dei patogeni causa di osteomielite. Se eseguiti, dovrebbe essere seminati con la metodica dei quattro quadranti e refertati semiquantitativamente⁽²⁶⁾. I tam-

poni devono pervenire in laboratorio più rapidamente possibile. Se il terreno di conservazione è idoneo ed è trascorso solo breve tempo dal prelievo, i tamponi così raccolti possono essere seminati anche in anaerobiosi.

La metodica più adeguata di prelievo prevede il curettaggio o lo scraping del tessuto alla base dell'ulcera con l'utilizzo di una curette o una lama da bisturi sterile. Questi prelievi hanno una sensibilità maggiore rispetto a quelli eseguiti con tamponi.

Altre metodiche accettabili per il prelievo sono l'aspirazione mediante ago sterile e siringa di secrezioni purulente della ferita, specialmente nelle zone di diffusione dell'infezione, oppure l'utilizzo di cateteri venosi da introdursi in tramite fistolosi (previa disinfezione della cute circostante) con successivo lavaggio con fisiologica e riaspirazione del materiale. In questo caso è opportuno inviare al laboratorio la siringa con il liquido aspirato per coltura per aerobi e anaerobi.

In caso di osteomielite si può procedere con agobiopsie o con punch biptico (o biopsia ossea). In caso di agobiopsia bisogna scaricare il frustolo raccolto in una provetta sterile con tappo a vite, aggiungendo una goccia di fisiologica (senza eccedere per non diluire troppo la carica e rendere difficoltosa la raccolta del campione). La biopsia ossea prevede la raccolta del materiale (cubetto di 0,5 cm di lato) in una provetta sterile con tappo a vite, aggiungendo una goccia di fisiologica (come sopra). In entrambi i casi, il materiale deve pervenire in laboratorio più rapidamente possibile: se è trascorso solo breve tempo dal prelievo, è possibile eseguire la semina anche in anaerobiosi.

Qualora per qualsiasi motivo i campioni non possano essere recapitati in laboratorio in un tempo congruo, è possibile utilizzare sistemi del commercio (terreni di conservazione per aerobi e anaerobi).

Bisogna sempre rammentare che, nel sospetto di osteomielite, è assolutamente necessario inviare campioni anche in Anatomia Patologica, al fine di evidenziare istologicamente segni di osteomielite.

La facilità interpretativa della fase post-analitica è direttamente proporzionale all'accuratezza e all'appropriatezza della fase pre-analitica di raccolta del campione. Qualora si debba interpretare il risultato di tamponi superficiali, la presenza di più di tre microrganismi deve essere refertata come flora polimicrobica. Gli SCN e i corinebatteri non in monoflora devono essere segnalati senza identificazione di specie, né antibiogramma, invitando il clinico a ripetere il prelievo segnalando la presenza di questi germi nel prelievo precedente. Per le agobiopsie o i materiali biptici, più di tre microrganismi devono essere refertati come flora polimicrobica, mentre per tre o meno isolati vanno eseguiti identificazione e antibiogramma.

La terapia delle infezioni del piede diabetico è ben codificata dall'IDSA⁽²⁵⁾. In breve, per le infezioni di grado 1, che hanno come eziologia più frequente i Gram positivi, è consigliato somministrare per os beta-lattamine coniugate, oppure i fluorochinoloni. Alterna-

tive, attive anche su MRSA, sono vecchie molecole quali tetracicline e cotrimoxazolo. In questo caso la gestione del paziente può essere domiciliare e la durata del trattamento va dai 7-14 giorni sino alle 4 settimane in forme a lenta risoluzione.

Nelle infezioni di grado 2 o 3 possono essere in causa differenti microrganismi. La terapia deve essere orientata sull'isolamento microbiologico e sui test di sensibilità. Se sono isolati stafilococchi aurei meticillino sensibili, possono essere utilizzate beta-lattamine coniugate (efficaci anche su anaerobi). Se vengono isolati Gram negativi possono essere utili le cefalosporine di III generazione. In caso di infezioni miste, possono essere utili fluorochinoloni (se attivi) oppure tigeclina, attiva anche su MRSA. È possibile l'utilizzo di carbapenemici, vancomicina e piperacillina/tazobactam se sono coinvolti microrganismi multiresistenti. Occorre iniziare la terapia parenterale, con shift alla via orale appena possibile valutando la possibile gestione domiciliare. La durata del trattamento va dai 7-21 giorni (2-4 settimane nelle infezioni più gravi), sino alle 6 settimane in forme a lenta risoluzione o alla risoluzione clinica nelle forme più impegnative.

Infine, anche per quanto riguarda l'osteomielite la terapia deve essere orientata sull'isolamento microbiologico e sui test di sensibilità. La durata del trattamento è variabile: da 2-5 giorni in caso di amputazione, a 1-3 settimane in presenza residua di tessuti molli (no osso), alle 4-6 settimane in presenza di revisione estesa con residui ossei, oltre i 3 mesi se in opzione chirurgica.

Conflitto di interessi: nessuno.

BIBLIOGRAFIA

- Richard JL, Lavigne JP, Sotto A. Diabetes and foot infection: more than double trouble. *Diabetes Metab Res Rev* 28 Suppl 1: 46-53; 2012.
- Chang CW, Kok VC, Tseng TC, et al. Diabetic patients with severe sepsis admitted to intensive care unit do not fare worse than non-diabetic patients: a nationwide population-based cohort study. *PLoS One* 7: e50729; 2012.
- Yende S, van der Poll T. Diabetes and sepsis outcomes - it is not all bad news. *Crit Care* 13: 117; 2009.
- Esper AM, Moss M, Martin GS. The effect of diabetes mellitus on organ dysfunction with sepsis: an epidemiological study. *Crit Care* 13: R18; 2009.
- Schuetz P, Jones AE, Howell MD, et al. Diabetes is not associated with increased mortality in emergency department patients with sepsis. *Ann Emerg Med* 58: 438-44; 2011.
- Peralta G, Sanchez MB, Roiz MP, et al. Diabetes does not affect outcome in patients with Enterobacteriaceae bacteremia. *BMC Infect Dis* 9: 94; 2009.
- Kornum JB, Thomsen RW, Riis A, et al. Type 2 diabetes and pneumonia outcomes: a population-based cohort study. *Diabetes Care* 30: 2251-7; 2007.
- Kofteridis DP, Papadimitraki E, Mantadakakis E, et al. Effect of diabetes mellitus on the clinical and microbiological features of hospitalized elderly patients with acute pyelonephritis. *J Am Geriatr Soc* 57: 2125-8; 2009.
- O'Grady NP, Barie PS, Bartlett JG, et al. Practice guidelines for evaluating new fever in critically ill adult patients. Task Force of the Society of Critical Care Medicine and the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 26: 1042-59; 1998.
- Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med* 39: 165-228; 2013.
- Kumar A, Roberts D, Wood KE, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med* 34: 1589-96; 2006.
- Weinstein MP, Reller LB, Murphy JR, Lichtenstein KA. The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. I. Laboratory and epidemiologic observations. *Rev Infect Dis* 5: 35-53; 1983.
- Kim SD, McDonald LC, Jarvis WR, et al. Determining the significance of coagulase-negative staphylococci isolated from blood cultures at a community hospital: a role for species and strain identification. *Infect Control Hosp Epidemiol* 21: 213-7; 2000.
- Tokars JI. Predictive value of blood cultures positive for coagulase-negative staphylococci: implications for patient care and health care quality assurance. *Clin Infect Dis* 39: 333-41; 2004.
- Blot F, Schmidt E, Nitenberg G, et al. Earlier positivity of central-venous- versus peripheral-blood cultures is highly predictive of catheter-related sepsis. *J Clin Microbiol* 36: 105-9; 1998.
- Mermel LA, Allon M, Bouza E, et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 49: 1-45; 2009.
- Di Yacovo S, Garcia-Vidal C, Viasus D, et al. Clinical features, etiology, and outcomes of community-acquired pneumonia in patients with diabetes mellitus. *Medicine (Baltimore)* 92: 42-50; 2013.
- Woodhead M, Blasi F, Ewig S, et al. Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections--full version. *Clin Microbiol Infect* 17 Suppl 6: E1-59; 2011.
- Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, et al. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis* 44 Suppl 2: S27-72; 2007.
- Chastre J, Fagon JY, Bornet-Lecso M, et al. Evaluation of bronchoscopic techniques for the diagnosis of nosocomial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 152: 231-40; 1995.
- Hartemann-Heurtier A, Senneville E. Diabetic foot osteomyelitis. *Diabetes Metab* 34: 87-95; 2008.
- Elamurugan TP, Jagdish S, Kate V, Chandra Parija S. Role of bone biopsy specimen culture in the management of diabetic foot osteomyelitis. *Int J Surg* 9: 214-6; 2011.
- Citron DM, Goldstein EJ, Merriam CV, et al. Bacteriology of moderate-to-severe diabetic foot infections and in vitro activity of antimicrobial agents. *J Clin Microbiol* 45: 2819-28; 2007.
- Lipsky BA. New developments in diagnosing and treating diabetic foot infections. *Diabetes Metab Res Rev* 24 Suppl 1: S66-71; 2008.
- Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, et al. 2012 Infectious Diseases Society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Clin Infect Dis* 54: e132-73; 2012.
- Nelson EA, O'Meara S, Golder S, et al. Systematic review of antimicrobial treatments for diabetic foot ulcers. *Diabet Med* 23: 348-59; 2006.