

ASL N. 4 L'Aquila Ospedale San Salvatore	Procedura Operativa Standard	Rev 1.0
Dip. Patologia Clinica U.O. Medicina di Laboratorio	Esame culturale del catetere venoso centrale	Ott. 2002
Settore Batteriologia tel 0862 368688		

1- Principio del Test

Semina del catetere , dopo la sua rimozione o applicazione di una tecnica indiretta che non ne prevede la rimozione, per confermare o escludere l'origine di una batteriemia o fungemia in ambito nosocomiale.

2- Applicazione clinica

Le infezioni correlate al catetere vascolare sono la causa principale delle setticemie nosocomiali. L'origine della colonizzazione dei cateteri intravascolari sono la flora della pelle del paziente e/o il giunto ("hub") del catetere , in quest'ultimo caso colonizzato dalla flora residente sulle mani del personale sanitario. Nei cateteri a corto termine i batteri migrano lungo la superficie esterna del catetere , il segmento intercutaneo e sottocutaneo , fino alla colonizzazione della punta del catetere, da cui parte l'infezione del torrente sanguigno. Per i cateteri a tunnel o i dispositivi impiantabili (Port), il lume del giunto ("hub") o la campana del porter sono la maggiore fonte di colonizzazione. In questi casi sono le mani del personale durante la manipolazione del catetere a contaminare i cateteri. In entrambi i casi sono gli stafilococchi la maggior causa di CRBSI (infezione del sangue correlata al catetere). Se sono i bastoncini gram negativi a causare l'infezione del sangue catetere-correlata si tratta in genere di batteri gram negativi non enterici che derivano dall'ambiente ospedaliero quali *Stenotrophomonas maltophilia* , *Pseudomonas spp.*, e *Acinetobacter spp.* Riguardo ai lieviti *Candida albicans* e *Candida parapsilosis* sono le specie più comuni che colonizzano le mani del personale medico e contaminano infusioni glicosate e per la nutrizione totale parenterale. I bastoncini Gram positivi , come *Corynebacterium* (ceppi JK) e specie di *Bacillus* , sono più raramente isolati. La formazione di un *biofilm* da parte di alcuni batteri favorisce l'aderenza al catetere e la resistenza all'attività degli antibiotici. E' questo il motivo per cui è difficile eradicare una infezione correlata al catetere senza la sua rimozione.

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore: Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.

Ogni anno negli USA vengono applicati circa 150 milioni di cateteri venosi periferici e 5 milioni di cateteri venosi centrali .Approssimativamente il 18-25% di questi cateteri diventano infetti.

3- Campione

I cateteri possono essere cateteri periferici o cateteri centrali venosi (CVC), cateteri dell'arteria polmonare, cateteri centrali tunnellati e dispositivi impiantabili (port). Essi servono alla somministrazione di fluidi IV, di medicinali, di prodotti del sangue e fluidi per la nutrizione parenterale; per monitorare lo stato emodinamico; e per la emodialisi. Il CVC deve essere rimosso e inviato in laboratorio per la coltura se il paziente ha evidenti segni clinici di una sepsi o un eritema sopra il sito di inserzione o purulenza a livello del sito di uscita ecc. Invece i CVC tunnellati che sono cateteri vascolari impiantati chirurgicamente o i dispositivi chirurgicamente impiantabili (Port) pongono delle difficoltà nella rimozione .Pertanto soprattutto in questi casi è importante distinguere fra vera infezione correlata al catetere dalla contaminazione della pelle, colonizzazione, o infezione di altra origine.

Oltre alla coltura del catetere e alle doppie emocolture, si raccomanda inviare sempre un tampone nasale per la ricerca dei portatori di *S. aureus* prima che il paziente venga sottoposto ad accesso vascolare.

Il catetere rimosso in maniera asettica va posto in contenitore sterile (va bene il recipiente per la urinocoltura) e portato in laboratorio al più presto.

4- Standard, Controlli, Reagenti

Per la coltura della punta e segmento del catetere mediante "rollamento" si usa una piastra di Agar sangue 5% di montone o anche in sostituzione una piastra di Agar cioccolato semplice. Per la coltura mediante il metodo quantitativo si possono usare una serie di terreni ma principalmente si ricorre al solo Agar sangue 5% di montone o Agar cioccolato semplice .In questo caso il catetere (punta e segmento prossimo) va sonicato o vortexato dopo aggiunta di 1mL di brodo (TS broth).

Per il metodo delle doppie emocolture si usano le bottiglie aerobiche associate allo strumento Bact/Alert in mancanza delle provette speciali tipo Isolator.

5- Strumenti

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore: Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.

Solo nel caso si applichi il metodo della doppia emocoltura (da CVC e da sangue periferico) ,si usa l'apparecchio per il monitoraggio e l'incubazione delle emocolture in continuo Bact/Alert.

6- Procedimento Dettagliato

Esiste una correlazione fra il numero dei microrganismi isolati dal catetere e il rischio di infezione catetere correlata.E' questo il fondamento del perché facciamo la coltura del catetere.

Distinguiamo fra tecniche qualitative, semi quantitative e quantitative.

1) Tecnica qualitativa

Consiste nella introduzione del catetere in un brodo di arricchimento (TS broth) incubato 16-24 h.E' sconsigliata perché un singolo batterio contaminante può risultare in una cultura falsamente positiva.

2) Tecnica semiquantitativa

La tecnica del "rollamento" della punta del catetere consiste nel "rollare" la punta del catetere sulla superficie di un Agar sangue 4-5 volte che va incubata *overnight*.La soglia numerica deve essere superiore a 15 UFC. Questo metodo è limitato perché recupera solo batteri della superficie esterna del catetere e non isola batteri che sono immersi nello strato di *biofilm* all'interno o all'esterno .Inoltre nei cateteri a lungo termine, la superficie interna è la fonte principale della colonizzazione da cui parte l'infezione.La tecnica semiquantitativa può essere usata nella coltura dei cateteri inseriti recentemente (< 1 settimana) perché il catetere è comunemente colonizzato da un microrganismo della pelle lungo la superficie esterna.

3) Tecnica quantitativa

La punta del catetere viene *vortexata* in brodo o meglio sonicata .Seguono diluizioni serial della brodocoltura iniziale con media delle varie conte di colonie.E' raccomandata per cateteri inseriti da più di 1 settimana nei quali la diffusione intraluminale dal giunto è il meccanismo dominante della colonizzazione.Il valore soglia di 100 UFC /mL, accompagnato dai segni di infezione locale o sistemica , è indicativa di infezione catetere correlata.E' superiore al metodo semiquantitativo.La sensibilità della sonicazione è dell'80% mentre il metodo del "roll plate" è del 60%.

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore: Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.

4) Tecnica della doppia emocoltura

Non prevede rimozione del catetere. Nel metodo quantitativo (emocoltura quantitativa) il numero dei batteri isolati dal sangue ottenuto da un catetere venoso centrale (CVC) deve essere almeno 5 volte superiore al numero di batteri in una concomitante coltura del sangue periferico. I pazienti sospetti di avere una infezione catetere-correlata devono avere 2 set di campioni di sangue, uno prelevato dal catetere e uno dalla vena periferica. Il valore predittivo positivo di questa tecnica è di 60-70% mentre il valore predittivo negativo è superiore al 98%. Questo significa che una doppia positività della emocoltura richiede ancora una interpretazione clinica ma il risultato negativo esclude praticamente l'infezione catetere correlata. Chiaramente è preferibile nei pazienti per i quali la rimozione del catetere è indesiderabile a causa del limitato accesso vascolare.

Questa tecnica viene eseguita secondo 2 metodi:

a) metodo quantitativo

Un campione di sangue è ottenuto dal giunto del catetere centrale e l'altro da una venipuntura periferica. Richiede in pratica delle provette speciali del tipo Isolator® che non abbiamo nel nostro laboratorio. Quando il campione di sangue ottenuto dal CVC dà una conta colonie 5-10 volte più grande di quella del sangue ottenuto per via periferica, è predittivo di infezione catetere correlata. Nei cateteri tunnelati, per i quali il metodo è molto accurato, una coltura quantitativa del sangue da CVC che dà almeno 100 UFC/mL è diagnostico senza essere accoppiata a un campione di sangue periferico.

b) metodo qualitativo

Correla bene con il metodo quantitativo. Questa tecnica è facilmente usufruibile nei laboratori che hanno sistemi automatici di monitoraggio delle emocolture in continuo (nel nostro caso abbiamo il Bact/Alert®). Un campione di sangue è prelevato dal CVC e un altro dalla vena periferica. Se la crescita è rilevata nel sangue prelevato dal CVC almeno 2 ore prima di una emocoltura prelevata dalla vena periferica allo stesso tempo (differenza di tempo nella positivizzazione) si dimostra l'origine dal catetere dell'infezione. La sensibilità è intorno al 91% e la specificità di questo metodo è del 94%.

5) Infezione correlata al fluido di infusione

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore: Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.

E' definita come l'isolamento dello stesso germe dalla soluzione di infusione e da una emocoltura , con nessuna altra origine di infezione. Se i sintomi cominciano subito dopo l'inizio di una infusione, si puo' immaginare che sia la somministrazione di fluido IV contaminato l'origine della infezione.

6) Coltura dell'essudato al sito di inserzione

Se ci sono segni di infezione locale , ogni essudato al sito di uscita del catetere , deve essere inviato , per mezzo di una siringa o di un tampone, al laboratorio che effettuerà una colorazione di Gram e una coltura.

7- Calcoli

Non applicato

8- Controllo di qualità interno

Settimanalmente sono inoculati campioni batterici con profili fenotipici conosciuti per verificare la efficacia dei mezzi di coltura utilizzati.

9- Valori di riferimento, interpretazione, valori critici

- ➔ per la coltura semiquantitativa positività per > 15 UFC nel segmento del catetere
- ➔ per la coltura quantitativa positività > 100 UFC del segmento del catetere
- ➔ per la doppia coltura quantitativa (emocoltura da catetere e da sangue periferico) isolamento dello stesso organismo (identità di specie e antibiogramma) con un rapporto $>5:1$ (CVC rispetto a sangue periferico)
- ➔ per la doppia coltura qualitativa la positività si ha per una coltura di sangue da CVC ottenuta almeno 2 ore prima di una emocoltura positiva da sangue periferico venoso.

10- Linearità e limite di rilevamento

Non applicato

11- Limitazioni del metodo

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore: Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.

Raccolta inadatta, uso di mezzi di coltura disidratati o scaduti, temperatura di incubazione differente da 35-37°C .

12- Riferimenti bibliografici

-Leonard A. Mermel, Barry M. Farr, R. J. Sherertz, I.I. Raad, N. O' Grady, J. S. Harris, D. E. Craven: Guidelines for the management of intravascular catheter-related infections. Clinical Infectious disease 2001;32:1249-1272.

-S.O. Heard: Catheter-related infection:Diagnosis, Prevention and treatment.Ann Acad Med Singapore 2001;30:419-429.

-K.M. Bullard, D.L. Dunn: Diagnosis and treatment of bacteremia and intravascular catheter infections. 1996 by Excerpta medica, Inc. Am J Surg. 1996;172 (suppl 6A):13S-19S

-I. I. Raad, H.A. Hanna:Intravascular catheter-related infections. Arch Intern Med. 2002;162:871-878.

-G. Miragliotta:Le infezioni da catetere vascolare.Monografie di Documenta. Edizioni scientifiche Biolife .

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore:Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.