

Le infezioni nel paziente  
critico:  
agenti infettivi,  
diagnostica di laboratorio ,  
indicazioni pratiche di  
interazione con il  
microbiologo

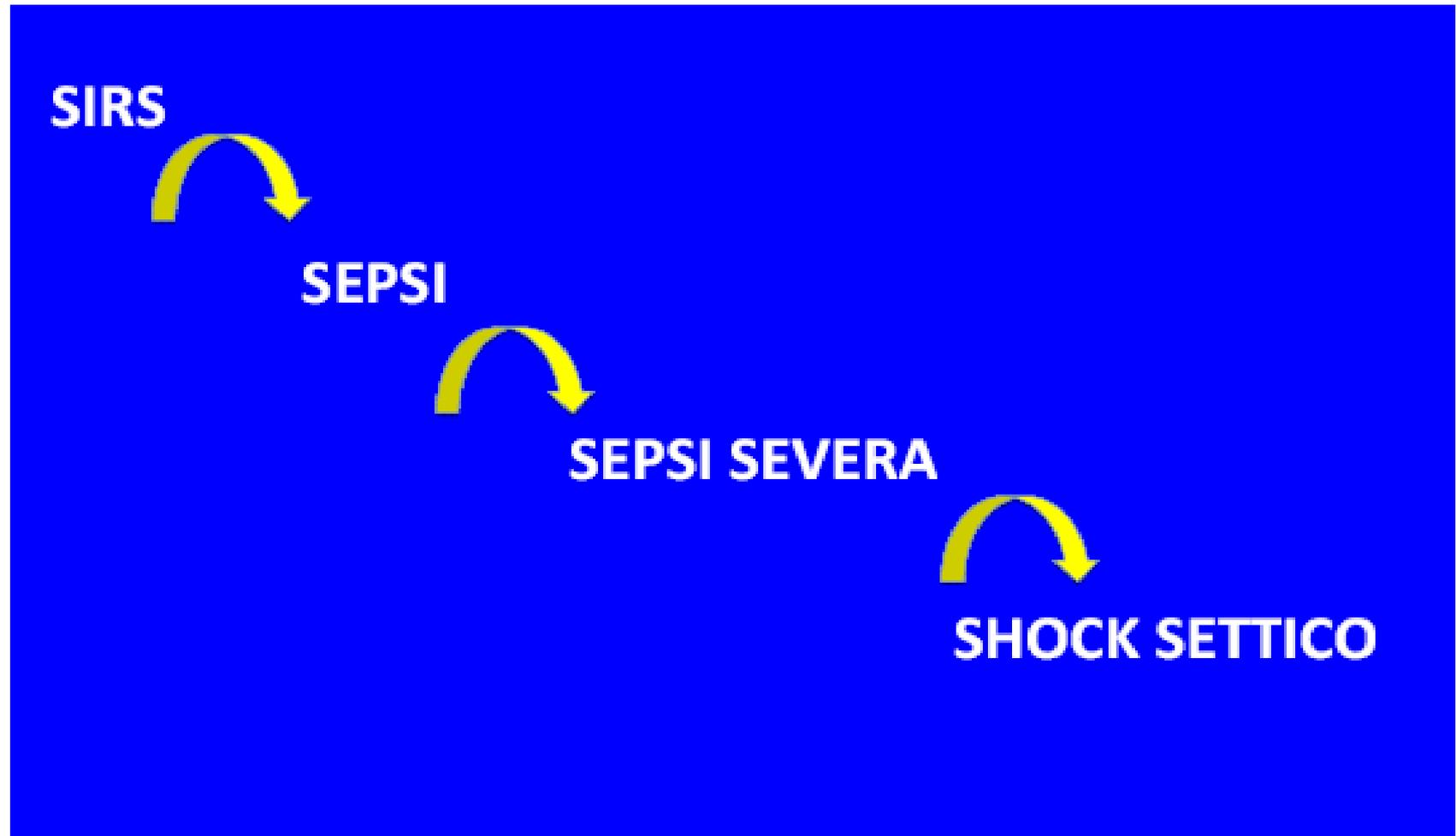


Tiziana Quirino

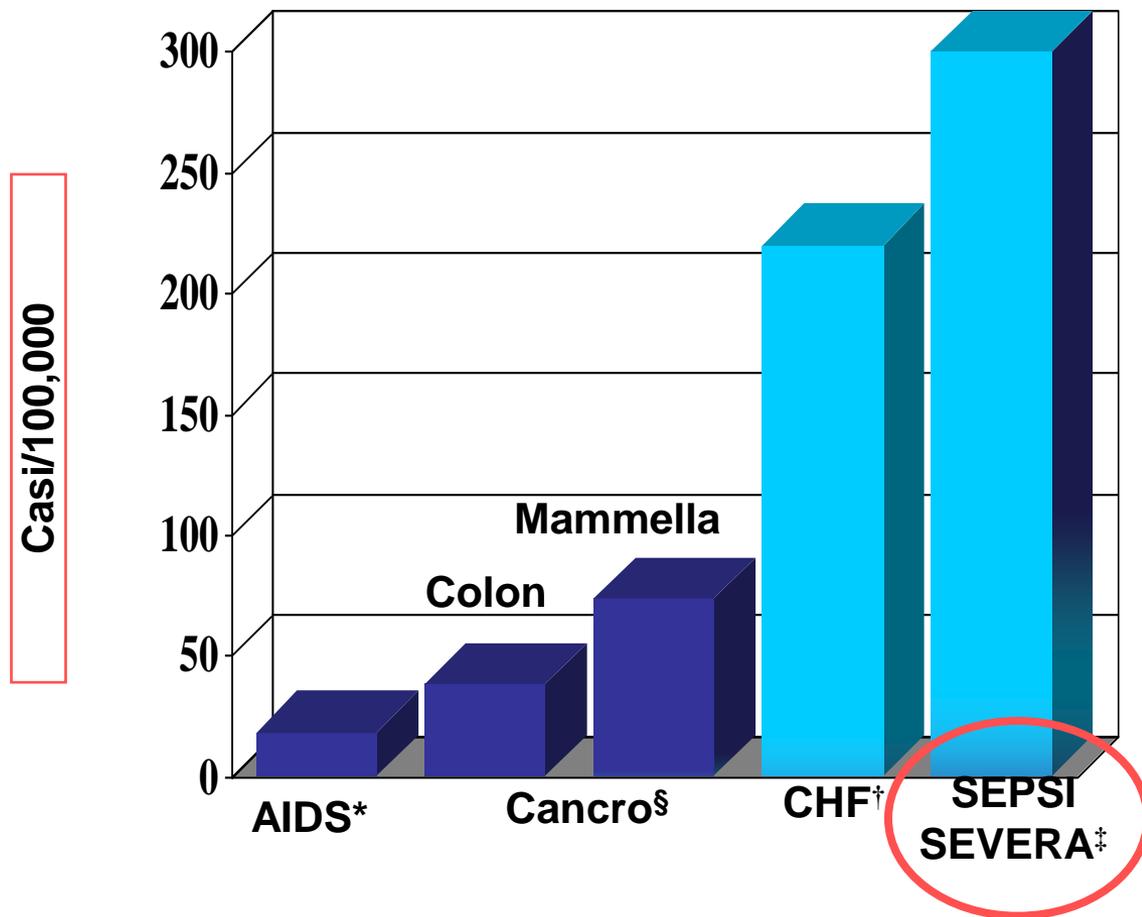
*U.O. Malattie Infettive*

*Azienda Ospedaliera Busto Arsizio*

# La «cascata» del paziente critico

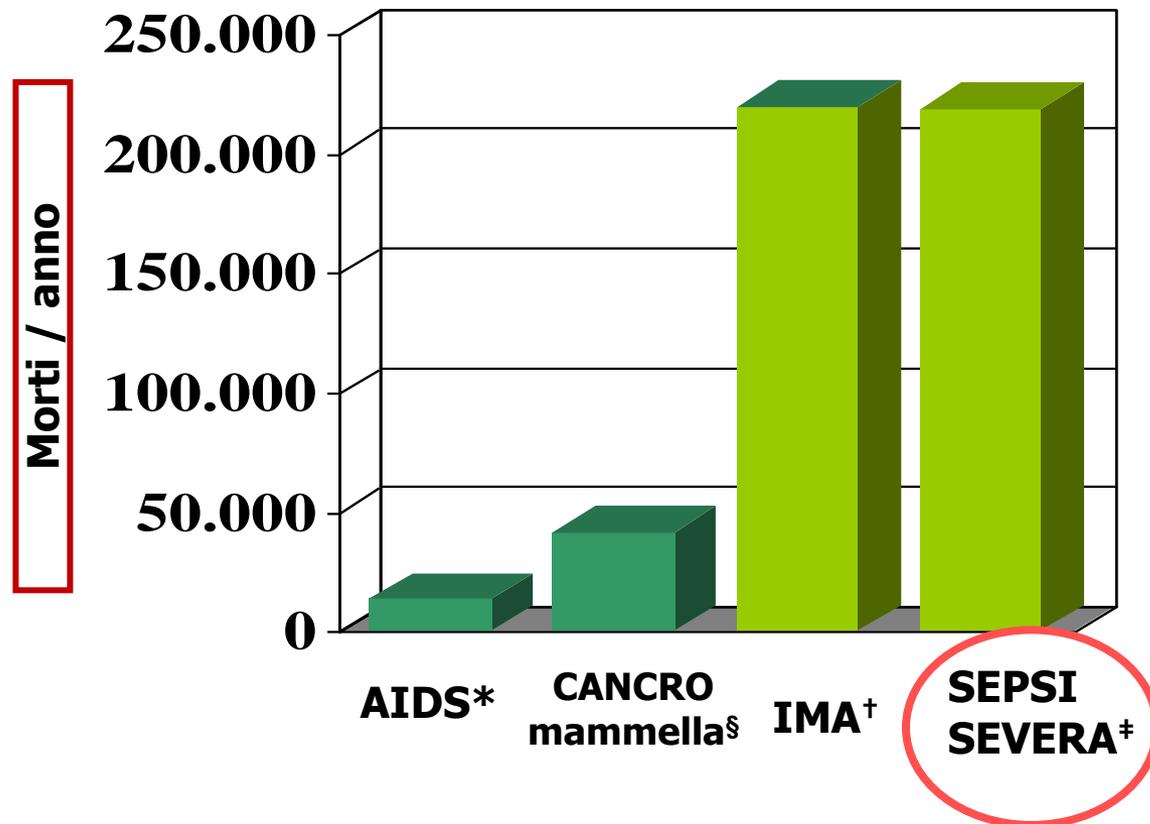


# SEPSI SEVERA: confronto con altre patologie INCIDENZA



National Center for Health Statistics, 2001. §American Cancer Society, 2001. \*American Heart Association. 2000.  
‡Angus DC et al. *Crit Care Med.* 2001;29:1303-10

# SEPSI SEVERA: confronto con altre patologie MORTALITA'



National Center for Health Statistics, 2001. §American Cancer Society, 2001. \*American Heart Association. 2000.  
‡Angus DC et al. *Crit Care Med.* 2001;29:1303-10

Special Article

## Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008

Crit Care Med 2008 Vol. 36, No. 1

### **Ricerca della fonte settica:**

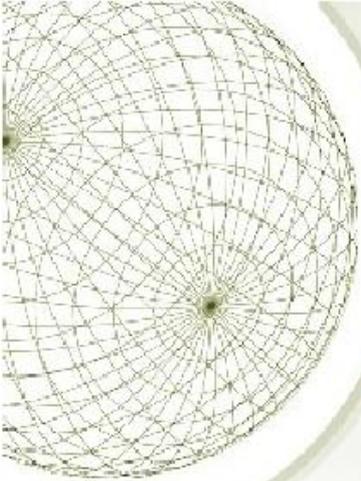
**uno specifico sito di infezione dovrebbe essere individuato il più rapidamente possibile (entro le prime 6 ore di presentazione)**

#### *Source identification and control*

- A specific anatomic site of infection should be established as rapidly as possible (1C) and within first 6 hrs of presentation (1D)
- Formally evaluate patient for a focus of infection amenable to source control measures (e.g. abscess drainage, tissue debridement) (1C)
- Implement source control measures as soon as possible following successful initial resuscitation (1C) (exception: infected pancreatic necrosis, where surgical intervention is best delayed) (2B)
- Choose source control measure with maximum efficacy and minimal physiologic upset (1D)
- Remove intravascular access devices if potentially infected (1C)

# Indicazioni cliniche per la ricerca della fonte settica:

- Disuria, urine torbide, dolore al fianco
- Tosse produttiva, dolore toracico, dispnea
- Dolore localizzato +/- flogosi cute o articolazioni
- Cefalea con rigor nucale, alterazione del sensorio, otodinia
- Dolore addominale, diarrea, vomito, distensione addominale

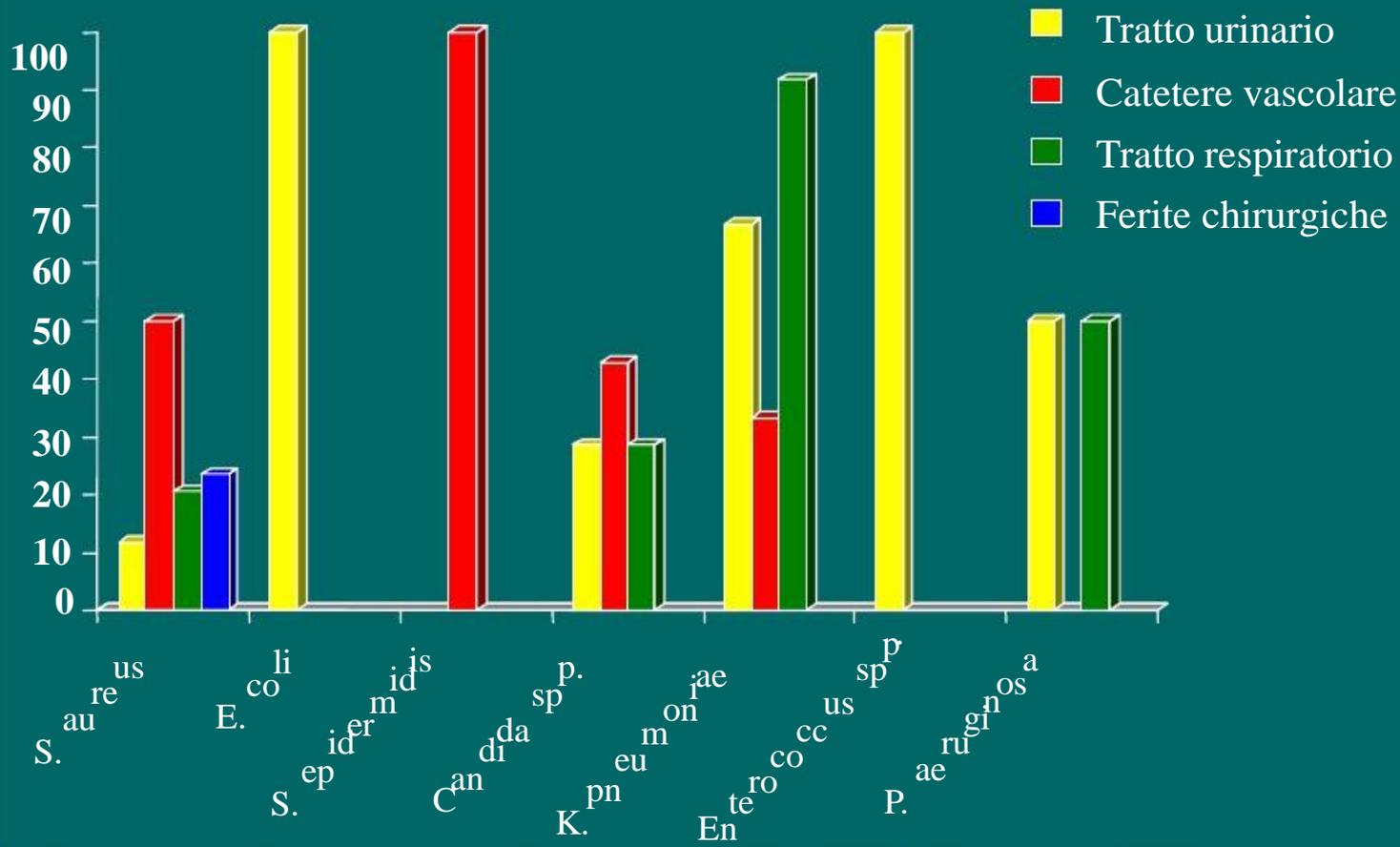


## *Sepsi*

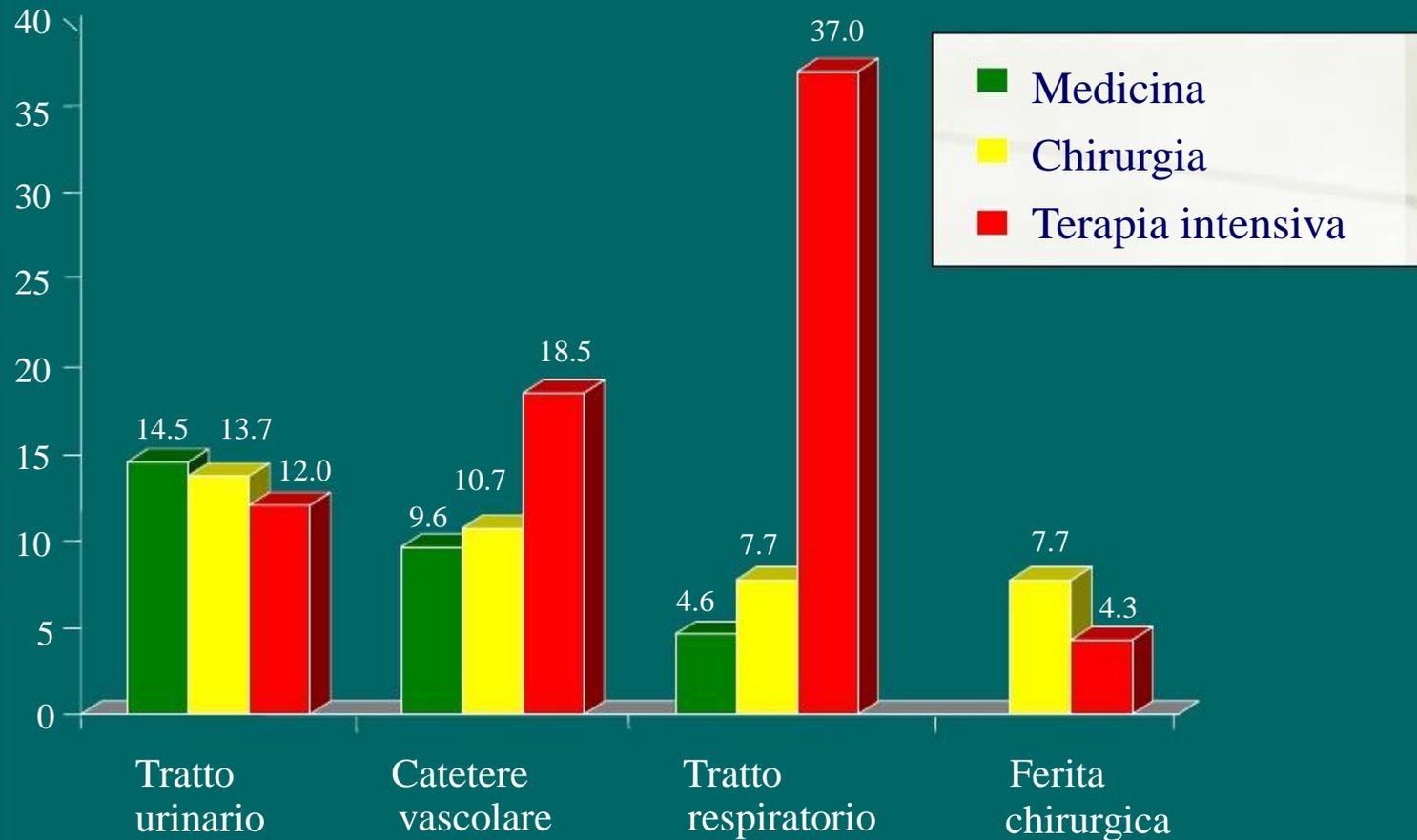
### *Ricerca della sede di infezione*

- ◆ Infezione intra-addominale
  - ◆ Pus
  - ◆ Lavaggio peritoneale
- ◆ Infezione urinaria
  - ◆ Urine
- ◆ Polmonite
  - ◆ Urine
  - ◆ Escreato
- ◆ Infezione di cute e tessuti molli
  - ◆ Biopsie
  - ◆ Pus

## Microrganismi responsabili di BSI e sedi di infezione primaria



## Batteriemie: fonti di infezione



Special Article

## Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008

Crit Care Med 2008 Vol. 36, No. 1

### **Diagnostica microbiologica:**

**prelevare al più presto 2 o più emocolture (prima di cominciare la terapia antibiotica) insieme a colture eseguite a partire da altri siti secondo le indicazioni cliniche**

#### *Diagnosis*

- Obtain appropriate cultures before starting antibiotics provided this does not significantly delay antimicrobial administration (1C)
  - Obtain two or more BCs
  - One or more BCs should be percutaneous
  - One BC from each vascular access device in place >48 hrs
  - Culture other sites as clinically indicated
- Perform imaging studies promptly to confirm and sample any source of infection, if safe to do so (1C)

# Frequenza di positività di emocolture da pazienti adulti con differenti infezioni

Cellulite acuta	2%
Infezione del piede diabetico/vascolare	10%
Malattia febbrile acuta in neutropenico	20%
Pielonefrite	20%
Polmonite acquisita in comunità	30%
Meningite batterica acuta	50%
Osteomielite acuta	50%
Cellulite necrotizzante	80%
Endocardite batterica	95%
Tromboflebite batterica suppurativa acuta	100%

# Diagnostica microbiologica: l'emocoltura

Esame colturale che si prefigge di rilevare la presenza di microrganismi (batteri, funghi) nel sangue fornendo loro le migliori condizioni di replicazione.

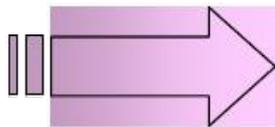
**Per emocoltura si intende la coltura di un campione di sangue ottenuto da una singola venipuntura, indipendentemente dal numero di flaconi in cui il campione viene inoculato.**

## **Nota bene**

Alcuni microrganismi non crescono nei comuni terreni di coltura (virus, protozoi, micobatteri, legionelle, micoplasmi, clamidie)

# Standardizzazione della fase pre-analitica

- Sede di prelievo
- Metodiche di disinfezione
- Numero di prelievi
- Tempi di prelievo
- Volume di sangue prelevato



Mediana di contaminazione	2.5%
- staff dedicato	1.2%
- personale non dedicato	4.8%

# L' emocoltura: procedura di prelievo

## Prelievo da vena periferica

- da prelievo arterioso:  
minore frequenza di positività
- da catetere vascolare:  
maggiore frequenza  
di contaminazione cutanea

## Prelievo da catetere vascolare

per verificare il sospetto clinico di batteriemia correlata al catetere (CRBSI)



# L' emocoltura: procedura di prelievo

## Metodiche di disinfezione:

⇒ prima di procedere all'antisepsi della cute accertarsi che non ci sia sporco visibile (in tal caso procedere al lavaggio della parte con acqua e sapone).

**È preferibile l'utilizzo di clorexidina 2% in soluzione alcolica (Neoxidina).**

⇒ applicare l'antisettico a partire dal punto previsto di prelievo, allontanandosi con movimento circolare fino a 2-3 cm. Ripetere 3 volte la procedura.



# L'emocoltura: procedura di prelievo

## L'antisepsi:

prima di eseguire il prelievo,  
attendere un tempo adeguato;

L'azione del disinfettante è  
tempo-dipendente

(nel caso della clorexidina: 30" -1 min. ).



Disinfettare il tappo del flacone con  
clorexidina 2%

**Non usare mai iodofori, danneggiano la  
membrana del flacone e possono causare  
sia falsi positivi che falsi negativi.**

# L'emocoltura: procedura di prelievo

Volume di sangue ideale  
per venipuntura = 20 ml

10 ml in flacone aerobio  
10 ml in flacone anaerobio

Nella pratica, prelevare da 8 a 10 ml di  
sangue per ogni flacone



Bactec® per  
anaerobi

Bactec® per  
aerobi

# L'emocoltura: procedura di prelievo

## Numero di prelievi utili nell'adulto

L'esecuzione di 2-3 venipunture diverse per ciascun episodio settico (entro 1 ora) prima della terapia antibiotica permette:

- ⇒ diagnosi in > 95% degli episodi settici
- ⇒ supporto a interpretazione di contaminanti

In generale, eseguire più di 3 emocolture non migliora la performance

Se persistono i segni di sepsi, eseguire 2 venipunture aggiuntive nelle successive 24-48 ore

## ⇒ **Volume di sangue coltivato**

- E' la variabile più importante
- Adulti:
  - **Carica batterica <10 CFU/mL di sangue**
  - Ogni mL in più incrementa del 3% la probabilità di positività
  - **Effetto massimo: 20-30 mL per prelievo**
- Bambini:
  - Carica batterica > 100 CFU/mL (spesso > 1000 CFU/mL)
  - Il volume ha scarso impatto
  - 0.5 – 1 mL in genere sufficienti

## L'emocoltura: i tempi di prelievo

La presenza di batteri nel sangue è maggiore in prossimità del picco febbrile

Nessuna differenza tra prelievi simultanei e intervallati (il periodo di intervallo fra i prelievi non incide sulla positività)

### In conclusione

**Prelevare al picco febbrile, prima della terapia antibiotica, non meno di due emocolture (flacone aerobio + anaerobio) da siti venosi differenti**

(se necessario, prelevare le emocolture simultaneamente da braccio dx e braccio sin)

# L' emocoltura: riassumendo

## ■ **Prelievo:**

- **Volume per venipuntura: 20 mL**
- **Volume diviso in 2 flaconi**
  - 10 mL in Flacone Aerobio
  - 10 mL in Flacone Anaerobio

## ■ **Numero di prelievi:**

- **Minimo 2 Venipunture diverse (20 mL ciascuna)**
- **Tempo intercorrente: ininfluyente (contemporanee)**

## ■ **Ripetizioni:**

- **2 Venipunture aggiuntive nelle restanti 24-48 ore**
  - Se persistono i segni di sepsi

## ■ **Tempo di incubazione:**

- **5 giorni (= tempo di refertazione del negativo)**

# Uso dei flaconi per anaerobi

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Jan. 2003, p. 213-217  
0095-1137/03/\$08.00+0 DOI: 10.1128/JCM.41.1.213-217.2003  
Copyright © 2003, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 41, No. 1

## Comparison of Recovery of Blood Culture Isolates from Two BacT/ALERT FAN Aerobic Blood Culture Bottles with Recovery from One FAN Aerobic Bottle and One FAN Anaerobic Bottle

Julie A. Riley, Barbara J. Heiter, and Paul P. Bourbeau\*

*Geisinger Medical Laboratories, Danville, Pennsylvania 17822*

Received 22 July 2002/Returned for modification 1 October 2002/Accepted 25 October 2002

- ❖ Gli anaerobi rappresentano meno del 2% del totale delle BSI
- ❖ La coppia flacone aerobio + flacone anaerobio individua un numero maggiore di batteri ( $p = 0.002$ ), cocchi Gram-positivi ( $p = 0.03$ ), *Staphylococcus aureus* ( $p = 0.05$ ), *Enterobacteriaceae* ( $p = 0.02$ ) ed anaerobi ( $p = 0.01$ )

# Sistemi a monitoraggio continuo

Una emocoltura può essere definita "negativa" dopo 5 giorni di incubazione a 35° C in un sistema automatico a monitoraggio continuo

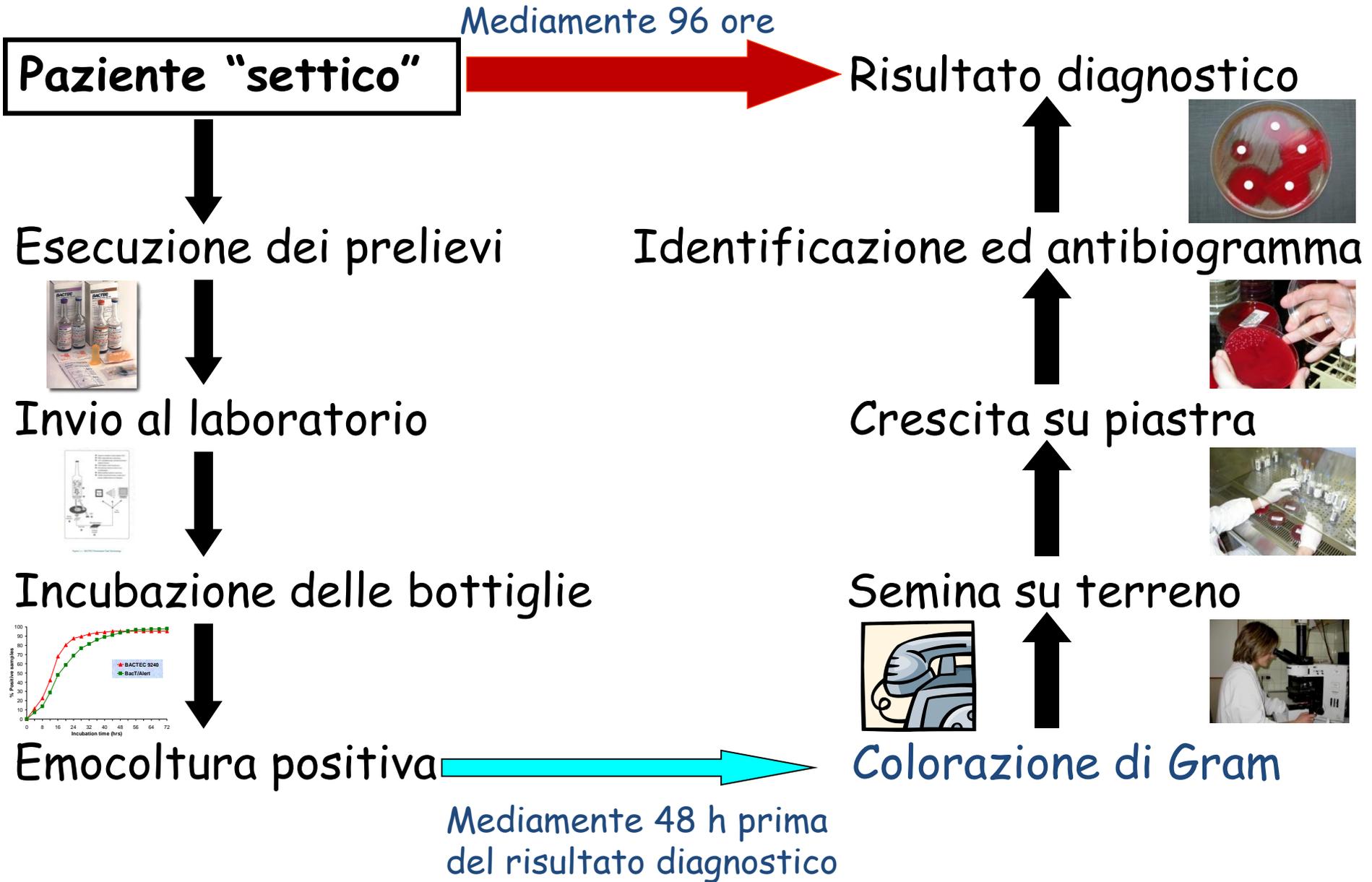
Il 95% dei microrganismi cresce entro 3-4 giorni di incubazione, anche per germi tradizionalmente ritenuti difficili: *Brucella*, HACEK, *Capnocytophaga*, *Campylobacter*.

Non è necessario (diversamente a quanto in uso negli anni precedenti) prolungare l'incubazione nel sospetto di endocardite o di brucellosi.

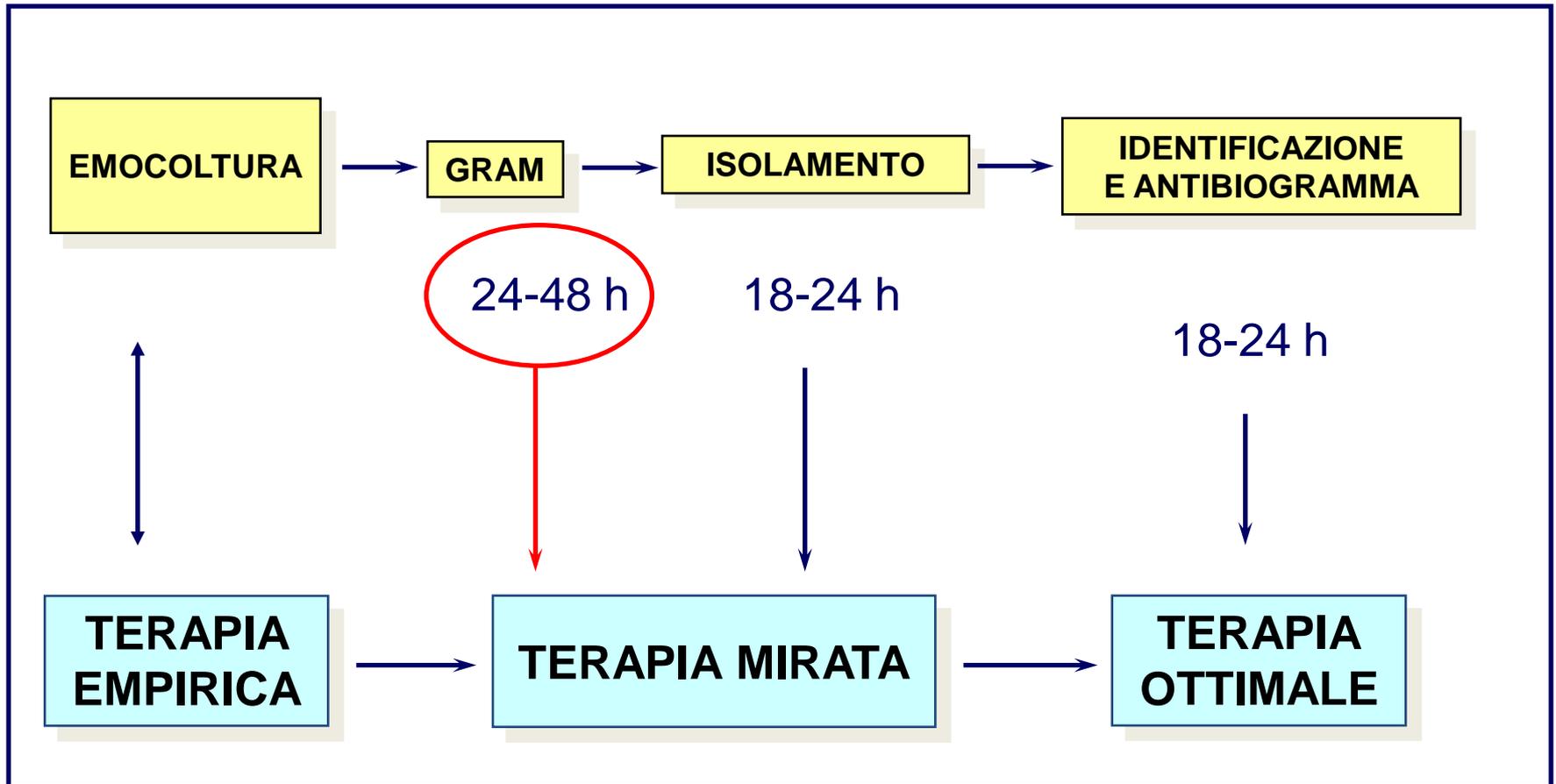
Emocolture e Streptococchi *viridans*  
*S. mitis*, *S. oralis*, *S. salivarius*, ecc.

Situazione	Interpretazione
Solo 1 coltura positiva su almeno 2 eseguite	Probabile contaminante
Due o più colture positive	Probabile patogeno
Una sola coltura eseguita e positiva	Significato dubbio e da indagare

# Diagramma di flusso



# Emocolture: algoritmo operativo



# Prelievo da catetere vascolare (CRBSI)

## La quantità da prelevare

### ADULTO

Prelevare da 8 a 10 ml di sangue da CVC

(le infezioni da catetere sono sostenute da aerobi)

Prelevare da 8 a 10 ml di sangue da vena periferica

Non è necessario eliminare i primi ml di sangue prelevati

**Tra il prelievo da CVC e da vena periferica non devono trascorrere più di 15 minuti**

## Prelievo da catetere vascolare (CRBSI)

### La sequenza del prelievo

Le due emocolture devono essere prontamente (e contemporaneamente) consegnate in laboratorio, in modo che possano essere inserite allo stesso tempo nel sistema automatico di monitoraggio continuo

Il test è positivo se l'emocoltura da catetere vascolare si positivizza almeno 2 ore prima rispetto a quella da veniperiferica: stesso microrganismo, stesso antibiotipo

## Alcune criticità

### Liquidi, pus, essudati:

- se la quantità di materiale è superiore a 5 ml, inoculare direttamente i flaconi da emocoltura aerobio e anaerobio



- se la quantità di materiale è inferiore a 5 ml, utilizzare un barattolo sterile con tappo a vite. In questo caso sarà più problematica la ricerca degli anaerobi

**Limitare l'esposizione all'aria:  
contenitori più piccoli e pieni**

## Alcune criticità

### Cute e tessuti molli:

- **Biopsia del tessuto o aspirato con ago del margine di avanzamento della lesione**
- **$> 10^5$  CFU/ grammo di tessuto = maggiore probabilità di sviluppare sepsi**

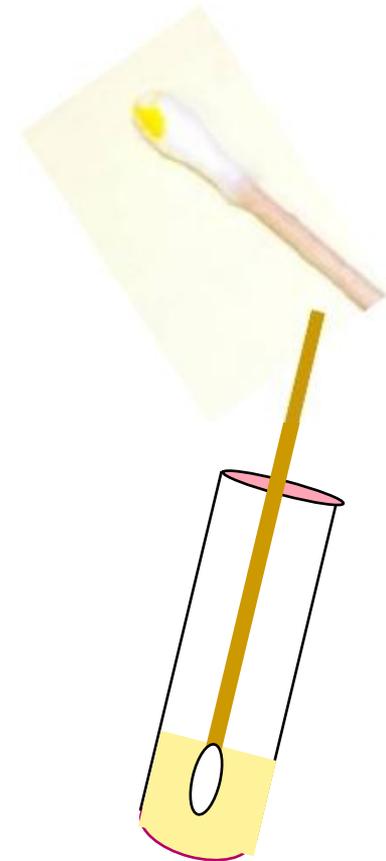
ma...

- **Limite di sensibilità della colorazione di Gram =  $10^5$  CFU**

# Alcune criticità

## Il prelievo mediante tampone presenta alcuni limiti:

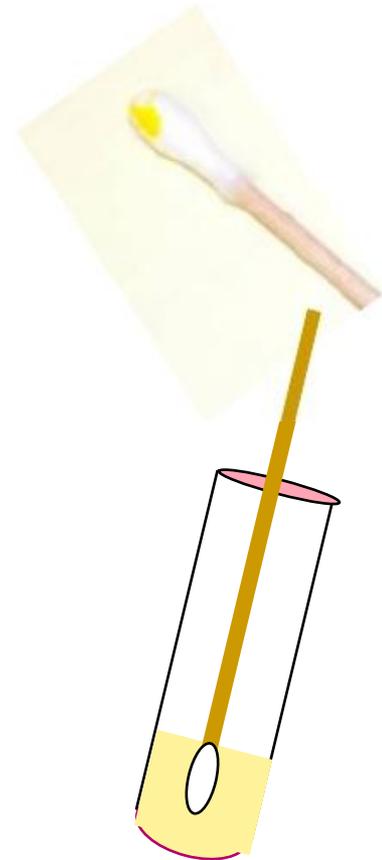
- A. Preleva (anche) flora microbica estranea
- B. Trattiene volumi di campione estremamente piccoli (max 150 microlitri)
- C. Difficile staccare batteri o funghi dalle fibre e trasferirli sui terreni
- D. Inoculo non uniforme da una piastra di semina all'altra



# Alcune criticità

## Eseguire un tampone

- **Solo quando non si può prelevare tessuto**
  - Abbondante irrigazione superficiale con fisiologica sterile (non disinfettanti)
  - Se è asciutta, inumidire i tamponi con fisiologica sterile



# Alcune criticità

## Ferite chiuse e aspirati:

### ■ Disinfettare con:

- Clorexidina 0.2% o Alcool 70%
- 10% iodio-povidone o 1-2% tintura di iodio
- Rimuovere lo iodio con alcool prima di prelevare

### ■ Aspirare con ago e siringa

- Se fallisce, iniettare fisiologica sterile sottocute
- Ripetere aspirazione

# Alcune criticità

## Ferite aperte:

### ■ Preparazione della sede

- Curettare e rimuovere le zone superficiali
- Sciacquare con abbondante fisiologica
- Rimuovere la fibrina con bisturi e tamponi o spugne

### ■ Prelevare una biopsia o un campione da “curettage”

- Dalla base della ferita o dal margine di avanzamento della lesione
- Prelevare tessuto infetto, non fibrina superficiale
- Evitare sempre i tamponi se si può avere una biopsia o un aspirato

# Alcune criticità

## Ferite aperte:

### ■ Prelevare tessuto sufficiente

- Evitare/eliminare le aree necrotiche
- Campioni di 3-4 mm

### ■ Trasporto in

- Provette per trasporto anaerobi (se piccoli)
- Contenitori sterili (se grandi)
  - Occorre evitare che il materiale si essicchi
  - Porre una garza sterile inumidita sul fondo del contenitore



© Can Stock Photo - csp2773949

**Grazie per  
l'attenzione**