



# Fisiopatogenia y diagnóstico de la ventriculitis asociada a drenaje ventricular externo

## Análisis de la formación de biopelículas bacterianas sobre el drenaje ventricular externo. Utilidad del sTREM-1 en el diagnóstico de la ventriculitis asociada a drenaje ventricular externo

Mónica Gordón Sahuquillo

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) i a través del Dipòsit Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) y a través del Repositorio Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service and by the UB Digital Repository ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

## FISIOPATOGENIA Y DIAGNÓSTICO DE LA VENTRICULITIS ASOCIADA A DRENAJE VENTRICULAR EXTERNO.

Análisis de la formación de biopelículas bacterianas sobre el drenaje ventricular externo. Utilidad del sTREM-1 en el diagnóstico de la ventriculitis asociada a drenaje ventricular externo.

Tesis presentada por

Mónica Gordón Sahuquillo

para optar al grado de Doctor por la Universidad de Barcelona

### **Directores de tesis:**

Alex Soriano Viladomiu, MD, PhD.

Paula Ramírez Gallego, MD, PhD.

**Programa de doctorado:** Medicina

**Línea de investigación:** Fisiopatología de les malalties  
medicoquirúrgiques.

Barcelona, 2015



## **AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS**

EL DR. ALEX SORIANO VILADOMIU, MÉDICO CONSULTOR SENIOR DEL SERVICIO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS DEL HOSPITAL CLÍNICO DE BARCELONA, CERTIFICA:

Que la memoria que lleva por título "*Fisiopatogenia y diagnóstico de la ventriculitis asociada a drenaje ventricular externo. Análisis de la formación de biopelículas bacterianas sobre el drenaje ventricular externo. Utilidad del sTREM-1 en el diagnóstico de la ventriculitis asociada a drenaje ventricular externo.*", presentada por Mónica Gordón Sahuquillo para optar al grado de Doctor por la Universidad de Barcelona, ha sido realizada bajo mi dirección. Una vez finalizada, autorizo su presentación para ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Los estudios que forman parte de esta tesis doctoral pertenecen a una misma línea de investigación y se han recogido en dos artículos originales, publicados en revistas de amplia difusión internacional con un factor de impacto global de 7'584 puntos (Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2013 Nov;32(11):1437-43. Factor de impacto 2013: 2'544; Crit Care. 2014 Oct 20;18(5):567. Factor de impacto 2013: 5'04). Dichos artículos no han sido utilizados para la realización de otra tesis doctoral.

Y para que quede constancia a efectos oportunos, firmo la presente en Barcelona, febrero de 2015.

Dr. Alex Soriano Viladomiu.



## **AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS**

LA DRA. PAULA RAMÍREZ GALLEYMORE, MÉDICO CONSULTOR SENIOR DEL SERVICIO DE MEDICINA INTENSIVA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO Y POLITÉCNICO LA FE (VALENCIA), CERTIFICA:

Que la memoria que lleva por título "*Fisiopatogenia y diagnóstico de la ventriculitis asociada a drenaje ventricular externo. Análisis de la formación de biopelículas bacterianas sobre el drenaje ventricular externo. Utilidad del sTREM-1 en el diagnóstico de la ventriculitis asociada a drenaje ventricular externo.*", presentada por Mónica Gordón Sahuquillo para optar al grado de Doctor por la Universidad de Barcelona, ha sido realizada bajo mi dirección. Una vez finalizada, autorizo su presentación para ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Los estudios que forman parte de esta tesis doctoral pertenecen a una misma línea de investigación y se han recogido en dos artículos originales, publicados en revistas de amplia difusión internacional con un factor de impacto global de 7'584 puntos (Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2013 Nov;32(11):1437-43. Factor de impacto 2013: 2'544; Crit Care. 2014 Oct 20;18(5):567. Factor de impacto 2013: 5'04). Dichos artículos no han sido utilizados para la realización de otra tesis doctoral.

Y para que quede constancia a efectos oportunos, firmo la presente en Barcelona, febrero de 2015.

Dra. Paula Ramírez Galleymore.



—Es el diamante más grande del mundo.

—No —corrigió el gitano—. Es hielo.

José Arcadio Buendía, sin entender, extendió la mano hacia el témpano, pero el gigante se la apartó. "Cinco reales más para tocarlo", dijo. José Arcadio Buendía los pagó, y entonces puso la mano sobre el hielo, y la mantuvo puesta por varios minutos, mientras el corazón se le hinchaba de temor y de júbilo al contacto del misterio. Sin saber qué decir, pagó otros diez reales para que sus hijos vivieran la prodigiosa experiencia. El pequeño José Arcadio se negó a tocarlo. Aureliano, en cambio, dio un paso hacia adelante, puso la mano y la retiró en el acto. "Está hirviendo", exclamó asustado. Pero su padre no le prestó atención. Embriagado por la evidencia del prodigio, en aquel momento se olvidó de la frustración de sus empresas delirantes y del cuerpo de Melquíades abandonado al apetito de los calamares. Pagó otros cinco reales, y con la mano puesta en el témpano, como expresando un testimonio sobre el texto sagrado, exclamó:

—Este es el gran invento de nuestro tiempo.

("Cien años de soledad", Gabriel García Márquez)





## Índice

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>11</b>
<b>ABREVIATURAS</b> .....	<b>15</b>
<b>RESUMEN DEL PROYECTO</b> .....	<b>19</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>23</b>
Ventriculitis asociada a drenaje ventricular externo .....	25
Fisiopatología de la ventriculitis asociada a drenaje ventricular externo .....	26
Factores de riesgo relacionados con la ventriculitis asociada a drenaje ventricular externo .....	29
Diagnóstico de la ventriculitis asociada a drenaje ventricular externo .....	31
Nuevos biomarcadores. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1) .....	34
Estrategias de prevención de la ventriculitis asociada a drenaje ventricular externo .....	36
<b>HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS</b> .....	<b>39</b>
<b>ARTÍCULO 1</b> .....	<b>43</b>
<b>ARTÍCULO 2</b> .....	<b>55</b>
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>67</b>
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>75</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>79</b>





**AGRADECIMIENTOS**



Gracias a la Dra. Paula Ramírez y a Manuel Palomo, que me trajeron hasta aquí. Sobre todo a Paula, tutora, codirectora y tantas veces hermana gemela, porque pocas cosas serían posibles sin ella. Al Dr. Alex Soriano, por aceptar tan generosamente la codirección de esta tesis. A la Dra. Lola Gómez y a la Sección de Microscopio Electrónico del SCSIE de la Universidad de Valencia, por su inestimable ayuda con la parte técnica del proyecto. A Sara, por ser una de las pioneras altruistas en la lucha contra la biopelícula.

A mi familia, por darme la vida y el color de los ojos, por enseñarme a respirar, a andar, a pensar y a vivir, por el periódico y la lectura crítica, por todo, porque nada sería posible sin ellos, ni siquiera yo. A los que ya no están, por seguir estando.

A todo el personal de la UCI del hospital la Fe, por ser la parte más necesaria de esta investigación, porque nunca han dejado de ser un equipo, por todo lo que aprendo de ellos, porque no se puede vivir más a gusto allí. A los servicios de Microbiología e Infecciosas, Eva y compañía, por darnos siempre una respuesta.

Al grupo de Investigación en Infección Respiratoria, en especial a la Dra. Charo Menéndez por recibirme y a Cristina, Esther y Jesús, por ayudar a cargar el peso de la ciencia y las cajas de los ensayos clínicos. Al Instituto de Investigación Sanitaria la Fe, por facilitar una estructura estable desde la que poder trabajar en investigación.

A los amigos y amantes sin los que la biopelícula no tendría sentido: a las mujeres que esperan en la librería Soriano o en la casa de pinturas, a los que creyeron casi siempre en mí o en el salitre azul y a los que tanto tiempo robé, a los que allanaron el final del camino y lo llenaron de música y alcohol. Especialmente a Parvin, por diseñar una portada tan bonita para esta tesis.

Y a Nakata, por ser mi espejo, porque sus defectos son los míos, por enseñarme tanto a cambio de tan poco: compañero, no soy yo la que tiene un perro, tú tienes una persona.





## ABREVIATURAS





AUC: Area under the curve (área bajo la curva)

CDC: Centers for Disease Control and Prevention (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades)

DVE: Drenaje Ventricular Externo

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (enzimoinmunoanálisis de adsorción)

EPS: Exopolisacáridos

Gen *aap*: Accumulation associated protein gen

Gen *ica*: Intercellular adhesion gen cluster

IC: Intervalo de Confianza

LCR: Líquido Cefalorraquídeo

NAV: Neumonía asociada a la ventilación mecánica

PCR: Proteína C Reactiva

PCT: Procalcitonina

QS: Quorum Sensing

sTREM-1: Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos





**RESUMEN DEL PROYECTO**



## RESUMEN DEL PROYECTO

**Introducción:** La ventriculitis asociada a drenaje ventricular externo (DVE) es una grave complicación relacionada con el uso de estos dispositivos. La formación de biopelícula sobre la superficie del DVE es un factor etiopatogénico importante pero nunca ha sido estudiado de forma sistemática. Por otra parte, establecer el diagnóstico de ventriculitis puede resultar complicado en el paciente crítico. Biomarcadores de infección como la forma soluble del triggering receptor expressed on myeloid cells tipo 1 (sTREM-1), liberado localmente en el foco de infección, han sido utilizados con éxito en el diagnóstico de diversas infecciones y podrían ser eficaces en la ventriculitis.

**Hipótesis:** La biopelícula es un factor etiopatogénico clave en la ventriculitis y el uso de DVE impregnados con antibiótico reducirá su formación. El sTREM-1 medido en líquido cefalorraquídeo (LCR) es útil en el diagnóstico de ventriculitis.

**Objetivos:** Analizar la presencia de biopelícula en los DVE y su relación con las complicaciones infecciosas. Comprobar el efecto de los DVE impregnados con antibiótico sobre la formación de biopelícula bacteriana. Comprobar la utilidad del sTREM-1 medido en LCR en el diagnóstico de ventriculitis asociada a DVE.

**Metodología:** Estudio prospectivo de casos consecutivos. Tres veces por semana, cursamos muestras de LCR para análisis citobioquímico, cultivo microbiológico y determinación de cifras de sTREM-1 (mediante ELISA). Una vez retirado, procesamos el DVE para cultivo semicuantitativo (mediante sonicación) y análisis mediante microscopio electrónico de barrido.

**Resultados:** Con el objetivo de analizar la biopelícula, en el primer artículo estudiamos 32 DVEs (56% impregnados en antibiótico). Se diagnosticó ventriculitis en 6 pacientes (19%) y colonización del DVE en 12 pacientes (38%). Detectamos biopelícula en 24 DVEs (75%), más frecuente en pacientes con ventriculitis o colonización bacteriana. El desarrollo de biopelícula sobre los DVEs impregnados vs. no impregnados fue 50% vs. 80% en DVEs de < 7 días ( $P = 0'264$ ) y 88% vs. 89% en DVEs de  $\geq 7$  días ( $P = 0'929$ ).

Con el objetivo de analizar la utilidad del sTREM-1 medido en LCR, en el segundo artículo analizamos 73 pacientes consecutivos. Se diagnosticó ventriculitis asociada a DVE en 6 pacientes y colonización del DVE en 10 pacientes. La mediana de sTREM-1 en LCR en el momento de diagnóstico de ventriculitis fue 4.320 pg/ml (rango intercuartílico, RI: 2.987 – 4.886) vs. 266 pg/ml (RI: 118 – 689);  $p < 0'001$ . No se

observaron diferencias al comparar pacientes colonizados y controles. La determinación de proteínas y glucosa en LCR y el ratio glucorraquia/glucemia fueron también significativamente diferentes ( $p < 0'001$ ).

**Conclusiones:** La formación de biopelícula es un fenómeno común en los DVEs. Los DVE impregnados con clindamicina y rifampicina no lograron evitar la ventriculitis debida a bacterias gramnegativas multirresistentes, pero se observó una tendencia al retraso en el desarrollo de biofilm en los primeros 7 días de permanencia del DVE.

Por otro lado, el sTREM-1 medido en LCR resultó útil para diagnosticar ventriculitis, en similar medida que otros parámetros clásicamente medidos en LCR (proteínas, glucosa). La determinación de sTREM-1 en LCR podría confirmar el diagnóstico de infección en casos dudosos y discriminar entre colonización del DVE e infección.

The image features a background of a microscopic view, likely of biological tissue, showing various cellular structures and fibers. A large, dark, semi-transparent rectangular overlay covers most of the page. In the bottom right corner of this overlay, there is a white L-shaped graphic element. The word "INTRODUCCIÓN" is written in white, uppercase letters within the horizontal part of this L-shape.

## INTRODUCCIÓN

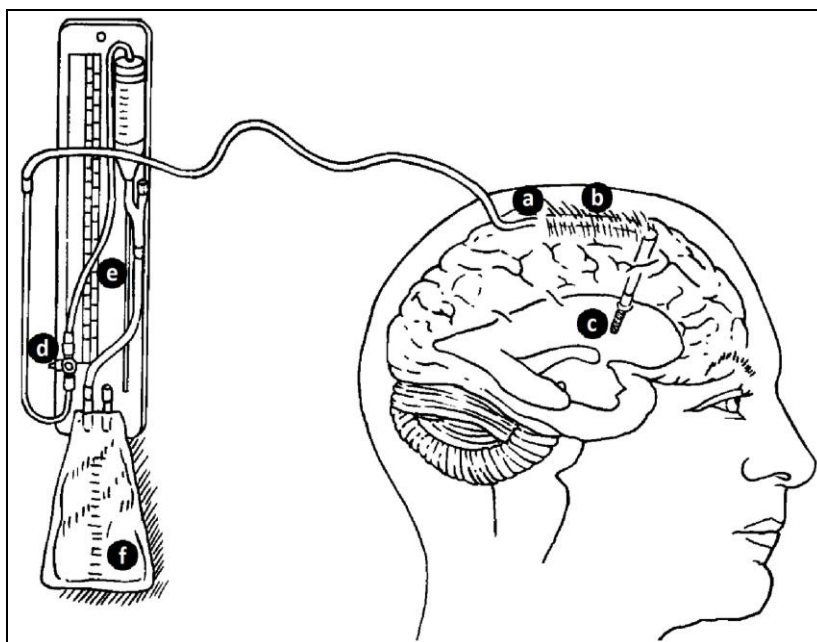




## INTRODUCCIÓN

### Ventriculitis asociada a drenaje ventricular externo.

El empleo de dispositivos de drenaje ventricular externo (DVE) es fundamental para el drenaje de líquido cefalorraquídeo (LCR) en situaciones de hidrocefalia aguda (secundaria a hemorragia subaracnoidea, intraventricular, intracraneal o neoplasias obstructivas), monitorización de la presión intracraneal y administración de medicación intratecal. La ventriculitis asociada a drenaje ventricular externo (DVE) es una complicación de gran importancia en las Unidades de Cuidados Intensivos que atienden a pacientes con patología neuroquirúrgica. Las tasas de ventriculitis oscilan entre 5-20% según series y la importancia de esta infección radica en su difícil diagnóstico (interferido en muchas ocasiones por la propia patología que motivó la colocación del DVE) y en el significativo incremento de morbilidad, estancia hospitalaria y costes asistenciales que supone [1 – 2].



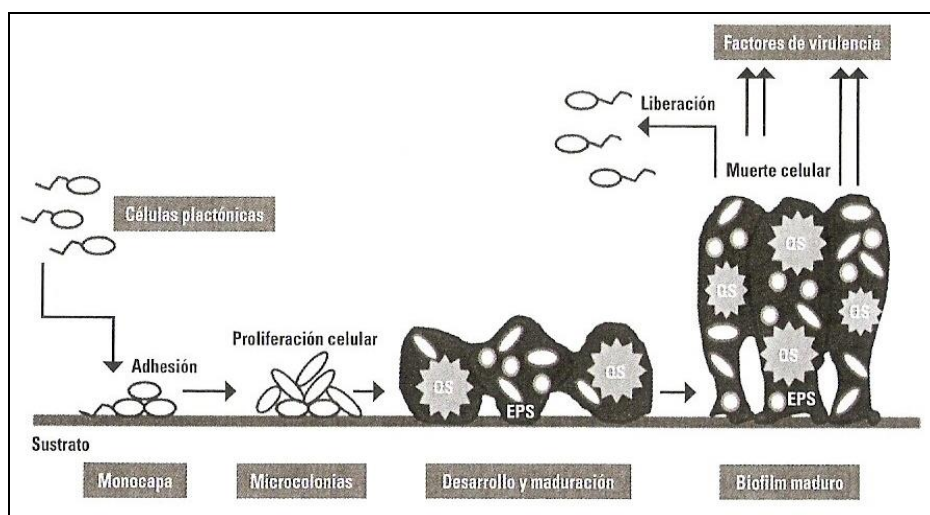
**Figura 1. Esquema de un dispositivo de drenaje ventricular externo.**

En la imagen se distinguen el punto de inserción del catéter en la superficie cutánea (a), el trayecto tunelizado bajo el cuero cabelludo (b), la punta del catéter localizada en los ventrículos laterales (c), la conexión para toma de muestras y administración de medicación (d), el manómetro (e) y la bolsa de drenaje (f).

## Fisiopatología de la ventriculitis asociada a drenaje ventricular externo.

La patogenia de la ventriculitis asociada a DVE no se ha estudiado de forma sistemática hasta la fecha, pero tradicionalmente se acepta el modelo que siguen otras infecciones asociadas a la presencia de un dispositivo invasivo, como la bacteriemia asociada a catéter. Al igual que en este tipo de infecciones, la formación de biopelículas bacterianas sobre la superficie del DVE parece tener un papel fundamental [3 – 5]. Una biopelícula bacteriana se define como un conglomerado de bacterias recubiertas por una matriz de exopolisacáridos y productos de degeneración bacterianos. Dentro de estas estructuras, bacterias y levaduras ven alterada su fisiología y adquieren una serie de propiedades que favorecen la resistencia al tratamiento antimicrobiano y facilitan el desarrollo de infecciones [6].

Este fenómeno se ha estudiado con detalle en los catéteres venosos centrales. En las primeras 24 horas de colocación de un catéter es posible detectar sobre su superficie externa la presencia de biopelículas de microorganismos procedentes de la superficie cutánea [6 – 7]. A partir del 10<sup>o</sup> día, la colonización endoluminal iguala o supera a la exoluminal, con bacterias que en su mayoría proceden de la manipulación de las conexiones [7 – 8].



**Figura 2. Esquema de formación y funcionamiento de la biopelícula.**

La figura, adaptada de Ramírez et al [9], muestra las diferentes etapas de la formación de la biopelícula bacteriana: adhesión de las células plactónicas a la superficie del dispositivo, segregación de la matriz de exopolisacáridos (EPS) que facilita la adhesión intercelular y al sustrato, comunicación intercelular (quorum sensing, QS) y liberación de los microorganismos al torrente circulatorio.

La dificultad para identificar *in vivo* las infecciones relacionadas con la presencia de biopelículas bacterianas ha llevado a establecer los siguientes criterios diagnósticos [10 – 11]:

Criterio 1) Las bacterias patógenas están asociadas a una superficie. El término “asociadas” permite incluir en la definición los agregados bacterianos no necesariamente adheridos firmemente a la superficie.

Criterio 2) El examen directo del tejido infectado demuestra la presencia de agregados celulares bacterianos incluidos en una matriz, que suele estar formada por productos bacterianos y del huésped.

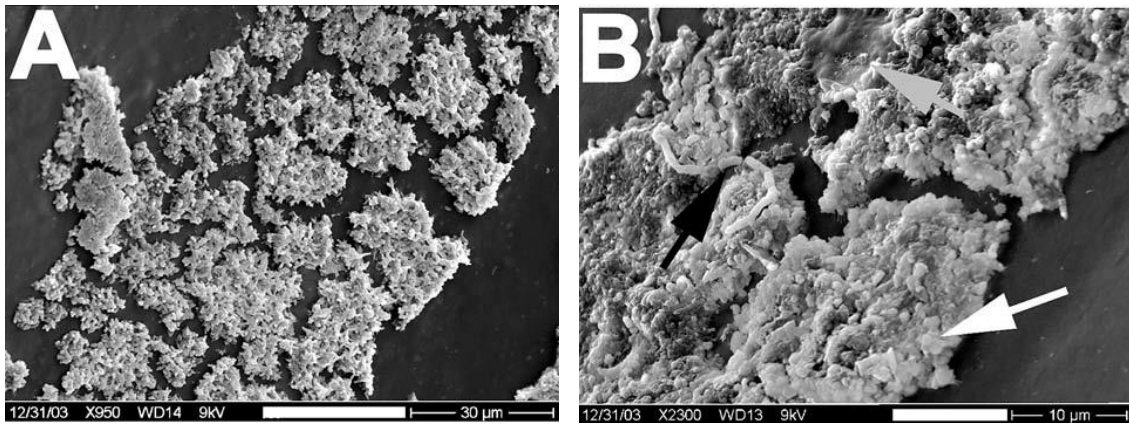
Criterio 3) La infección está localizada en un sitio concreto en el huésped.

Criterio 4) El tratamiento antibiótico resulta ineficaz, a pesar de que la bacteria sea sensible en su forma planctónica. En ausencia de cultivo, la resistencia al tratamiento antibiótico también se puede demostrar mediante la presencia de bacterias vivas en la observación directa de la biopelícula después de la tinción específica de viabilidad.

Criterio 5) Resultados negativos del cultivo microbiológico a pesar de la elevada sospecha clínica de infección, ya que las bacterias localizadas en el interior de la biopelícula pueden ser difíciles de detectar mediante muestras convencionales.

Criterio 6) El sistema de defensas del huésped es incapaz de eliminar la biopelícula, lo que se demuestra mediante la detección de agregados celulares bacterianos en áreas del tejido infectado y células inflamatorias asociadas.

La mayoría de trabajos publicados en la literatura actual sugieren de manera indirecta la posible implicación de la biopelícula bacteriana en la ventriculitis asociada a DVE. Existe suficiente evidencia científica sobre el importante papel que juega la biopelícula en el desarrollo de infecciones asociadas a otros procedimientos neuroquirúrgicos, como es el caso de la instrumentación espinal, neuroestimuladores o derivaciones ventriculoperitoneales de LCR (Figura 3) [3].



**Figura 3. Biopelícula bacteriana sobre la superficie interna de una derivación ventriculoperitoneal infectada. Imágenes de microscopía electrónica de barrido.**

Las imágenes, adaptadas de Braxton et al [3], muestran a pequeños aumentos una capa de bacterias en forma de bacilo sobre la superficie interna de la derivación ventriculoperitoneal (A). A mayores aumentos (B) es posible identificar la biopelícula formado por cadenas de bacilos (flecha negra) y posibles cocos (flecha blanca). En cultivo microbiológico se aislaron *Corynebacterium* spp y *Staphylococcus epidermidis*.

Stoodley et al [5] describieron en 2010 por primera vez la formación de biopelícula sobre la superficie del DVE de un paciente con datos clínicos sugestivos de infección y cultivos de LCR repetidamente negativos, basándose en los criterios diagnósticos anteriormente expuestos [10 – 11]. Stevens et al [4] estudiaron 62 estafilococos coagulasa-negativa aislados de muestras de LCR de 46 pacientes con ventriculitis asociada a DVE y observaron que el 71,4% de las cepas eran portadoras de genes implicados en la formación de biopelícula (gen *ica* y *aap*). Diferentes ensayos clínicos han demostrado además una reducción en las tasas de ventriculitis con la utilización de DVE impregnados con antibióticos [12 – 14], teóricamente en relación con su capacidad para evitar la formación de una biopelícula en su superficie, aunque este efecto nunca se ha demostrado *in vivo*.

Es necesario un estudio sistemático sobre la formación de biopelícula en la superficie del DVE a lo largo de su tiempo de permanencia, para poder confirmar su importancia en el desarrollo de la ventriculitis asociada a DVE y diseñar mejores estrategias de prevención, diagnóstico precoz y tratamiento.

## **Factores de riesgo relacionados con la ventriculitis asociada a drenaje ventricular externo.**

Existen diferentes factores descritos en la literatura científica a los que se atribuye un incremento del riesgo de desarrollo de ventriculitis asociada a DVE, relacionados fundamentalmente con la patología de base que motiva la colocación del DVE, las circunstancias de colocación del DVE y la manipulación del catéter:

- *Patología neurológica que motiva la colocación del DVE:* numerosos autores han detectado una mayor tasa de infección entre los pacientes con hemorragia intraventricular, lo que se atribuye al caldo de cultivo que representa el sangrado intraventricular y que favorecería el crecimiento bacteriano [1].
- *Otros procedimientos neuroquirúrgicos asociados:* varios trabajos demuestran un aumento de la tasa de infecciones entre los pacientes que, además de la inserción del DVE, precisan la realización de una craneotomía [1].
- *Tunelización del catéter de DVE:* la mayoría de autores recomiendan sistemáticamente la tunelización subcutánea del catéter de DVE, con el objetivo de alejar el punto de entrada en el sistema ventricular del punto de inserción en la superficie cutánea. Aunque sin significación estadística, Korinek et al [15] analizaron un grupo de 10 pacientes con ventriculitis asociada a DVE y 99 controles y detectaron una mayor frecuencia de DVE no tunelizados entre los pacientes que desarrollaron infección (30% vs 14'1%).
- *Fugas de LCR alrededor del catéter de DVE o tras su retirada:* Korinek et al [15] constataron un 50% de fugas de LCR en los pacientes que desarrollaron ventriculitis asociada a DVE (n = 10) vs. 6'8% en el resto de pacientes (n = 147);  $P < 0'001$ .
- *Manipulación del catéter:* la pérdida de la estanqueidad y de esterilidad del sistema de LCR mediante la realización de lavados con suero fisiológico en caso de disfunción del catéter o la irrigación con soluciones antibióticas ha demostrado un aumento en la tasa de infecciones asociadas [1, 15].

- *Tiempo de permanencia del DVE:* el papel que el tiempo de permanencia del DVE juega en el desarrollo de infecciones asociadas es una de las grandes controversias actuales. Numerosos estudios han demostrado un aumento del riesgo de ventriculitis entre los 5 y 10 días de permanencia del DVE [1, 15]. No obstante, Korinek et al [15] presentaron en su trabajo un grupo de 67 pacientes con más de 10 días de DVE (hasta 42 días) sin infección asociada, por lo que concluyeron que el tiempo de permanencia no es un factor de riesgo con una adecuada manipulación del DVE.
- *Múltiples DVE:* varios autores han demostrado un aumento en la incidencia de ventriculitis asociada a DVE en pacientes que requieren inserción de más de un catéter. Lo et al [16] realizaron un estudio retrospectivo de 199 pacientes portadores de DVE, entre los que se diagnosticaron 21 infecciones asociadas, y detectaron un 6% de infecciones entre los pacientes portadores de un primer DVE frente a 14'6% en los pacientes con un segundo DVE y hasta 33% en los pacientes que precisaron tres o más DVE ( $P = 0'007$ ).

### **Diagnóstico de la ventriculitis asociada a drenaje ventricular externo.**

Es fundamental realizar un diagnóstico precoz de la ventriculitis asociada a DVE que permita iniciar a tiempo un tratamiento antibiótico apropiado, tomar decisiones sobre la retirada o cambio del drenaje ventricular y reducir la morbimortalidad. No obstante, realizar un diagnóstico apropiado de ventriculitis en un paciente crítico suele ser difícil.

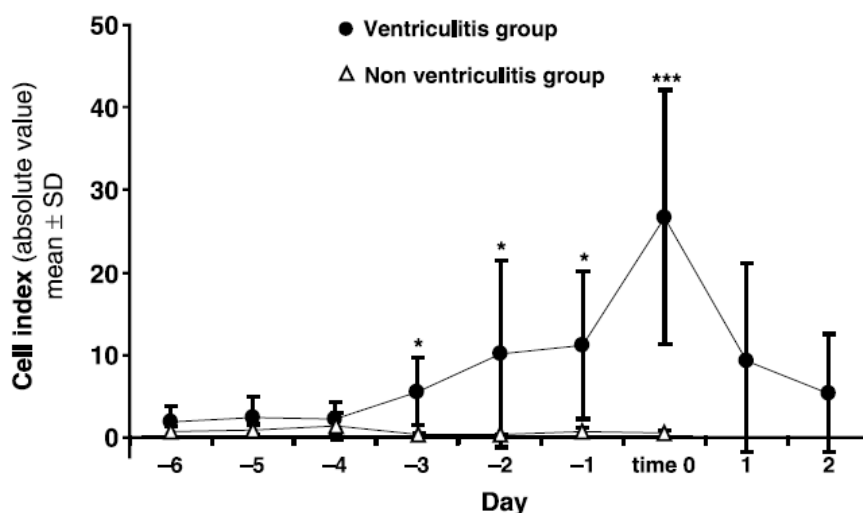
Con frecuencia, la clínica neurológica queda solapada con la clínica de la patología que ha motivado la colocación del DVE o con el uso de medicación sedante. Muttaiyah et al [17] evaluaron un grupo de 60 pacientes portadores de DVE, 10 de ellos con diagnóstico de ventriculitis, y no encontraron diferencias en cuanto a la mediana de temperatura [37'4°C (37'1 – 39'1) vs. 37'4°C (36'6 – 40'3);  $P = 0'52$ ] o la escala de coma de Glasgow (GCS) [13 (3 – 15) vs. 13 (3 – 15);  $P = 0'39$ ].

Otros datos analíticos (fiebre, leucocitosis, aumento de proteína C reactiva o procalcitonina en sangre) son inespecíficos y pueden aparecer como respuesta a la patología neurológica inicial que motivó el ingreso en UCI o bien como consecuencia de cualquier otra infección, como la neumonía por aspiración o la neumonía asociada a la ventilación mecánica. La ventriculitis asociada a DVE, como el resto de infecciones asociadas a biopelículas, suele ser una infección localizada [10 – 11] y hay trabajos que demuestran la poca utilidad de otros biomarcadores séricos en estos casos [18]. Berger et al [19] analizaron una serie de 34 pacientes y detectaron valores significativamente más elevados de procalcitonina (PCT) y proteína C reactiva (PCR) en los 5 pacientes con diagnóstico de ventriculitis asociada a DVE (PCT  $4'7 \pm 1'0$  vs.  $0'2 \pm 0'01$  ng/ml,  $P < 0'001$ ; PCR  $134 \pm 29$  vs.  $51 \pm 4$  mg/L,  $P = 0'005$ ). No obstante, otros autores como Martinez et al [20] compararon un grupo de 15 pacientes con diagnóstico de ventriculitis asociada a DVE y 10 pacientes con meningitis adquirida en la comunidad, con peores resultados (para un punto de corte  $\geq 1$  ng/ml para el diagnóstico de ventriculitis, obtuvieron una especificidad de 77% y sensibilidad de 68%).

El análisis citológico de LCR puede ser útil, aunque en ocasiones resulta interferido por la presencia de sangre intraventricular, que provoca una reacción inflamatoria secundaria que Schade et al [21] denominaron “meningitis aséptica”. Parámetros como la pleocitosis o las cifras de glucosa o proteínas en LCR no han demostrado ser útiles como marcadores de ventriculitis asociada a DVE [17, 21 – 22]. Autores como Pfausler et al [23] proponen el cálculo del “índice celular”, basado en la relación entre leucocitos y eritrocitos en LCR y en sangre periférica. Este parámetro ha mostrado buenos



resultados en la predicción de ventriculitis asociada a DVE (Figura 4), aunque en ocasiones la gran cantidad de sangrado intraventricular no permite diferenciar entre las cifras de leucocitos y eritrocitos en LCR y dificulta el cálculo de este índice.



**Figura 4. Evolución temporal de la mediana del índice celular.**

Adaptado de Pfausler et al [23], la gráfica muestra la evolución temporal del índice celular en 7 pacientes con ventriculitis asociada a DVE (círculos negros) y 6 pacientes sin ventriculitis (triángulos). El día 0 representa el momento de diagnóstico de la infección.

El resultado del cultivo, prueba de referencia, puede demorarse hasta 48-72 horas y pueden aparecer problemas de tipo falso negativo (frecuente uso de antibióticos) o falso positivo (contaminación de la muestra en el momento de la extracción). Del mismo modo, un resultado positivo tampoco permitiría diferenciar entre colonización e infección del DVE [1] y, aunque trabajos como el de Hetem et al [24] han detectado una fuerte asociación entre la colonización del DVE y el desarrollo de una infección secundaria, podría tratarse de dos entidades clínicamente diferenciadas.

Así pues, no existe un consenso sobre los criterios diagnósticos de ventriculitis. Según los CDC (Centers for Disease Control and Prevention) de Atlanta, el diagnóstico requiere un cultivo de LCR positivo o existencia de datos de infección y deterioro neurológico, junto a la decisión del médico encargado de iniciar un tratamiento antibiótico dirigido [25]. No obstante, autores como Lozier et al [1] eligen una combinación de parámetros más exhaustiva (Tabla 1). Es necesario por tanto diseñar

nuevas estrategias de diagnóstico precoz y consensuar la definición idónea de ventriculitis asociada a DVE.

<b>Término</b>	<b>Definición</b>
Contaminación	Cultivo y/o tinción de Gram de LCR positivos de forma aislada. Análisis citobioquímico de LCR (recuento celular, glucosa, proteínas) no patológico.
Colonización de la ventriculostomía	Múltiples cultivos y/o tinciones de Gram de LCR positivos. Análisis citobioquímico de LCR (recuento celular, glucosa, proteínas) no patológico. Ausencia de otros síntomas clínicos (aparte de fiebre)
Sospecha de infección asociada a la ventriculostomía	Progresivo descenso de los niveles de glucosa en LCR. Aumento de la cifra de proteínas en LCR. Aumento de la pleocitosis en LCR. Ausencia de cultivos y/o tinciones de Gram de LCR positivos.
Infección asociada a la ventriculostomía	Progresivo descenso de los niveles de glucosa en LCR. Aumento de la cifra de proteínas en LCR. Aumento de la pleocitosis de LCR. Uno o más cultivos y/o tinciones de Gram de LCR positivos. Escasez de datos clínicos (aparte de fiebre).
Ventriculitis	Bajos niveles de glucosa en LCR. Elevadas cifras de proteínas en LCR. Pleocitosis de LCR. Fiebre. Signos clínicos de meningitis, incluyendo rigidez de nuca, fotofobia, descenso del nivel de conciencia, convulsiones u otros.

**Tabla 1. Infecciones del sistema nervioso central en pacientes portadores de ventriculostomía.**

Definición de las diferentes complicaciones infecciosas que pueden ocurrir en pacientes portadores de ventriculostomía. Adaptado de Lozier et al [1].

### **Nuevos biomarcadores. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1).**

El *triggering receptor expressed on myeloid cells* (TREM-1) es una inmunoglobulina que se expresa en los fagocitos ante el estímulo de bacterias y hongos y participa en la mediación de la respuesta inflamatoria [26]. Los neutrófilos de los tejidos infectados expresan en su superficie el TREM-1 y su forma soluble (sTREM-1) puede ser encontrada en los fluidos corporales correspondientes [27]. Numerosos trabajos han evaluado su utilidad en el diagnóstico de neumonía en pacientes sometidos a ventilación mecánica [28 – 29], la meningitis extrahospitalaria [30 – 31], la sepsis grave [32] o el síndrome de distress respiratorio agudo en pacientes con patología abdominal [33], con muy buenos resultados.

Gibot et al [28] analizaron la utilidad del sTREM-1 en el diagnóstico de la neumonía en un grupo de pacientes sometidos a ventilación mecánica, 84 de ellos con neumonía adquirida en la comunidad o asociada a ventilación mecánica (NAV) y 64 controles sin neumonía. La cifra de sTREM-1 medida en lavado broncoalveolar resultó muy superior en el grupo de casos y un punto de corte de sTREM-1 de 5 pg/ml obtuvo una sensibilidad de 98% y una especificidad de 90%, con un área bajo la curva (AUC) de 0'93 (95% intervalo de confianza (IC), 0'92 – 0'95). Aunque sin significación estadística, la cifra de sTREM-1 fue mayor entre los pacientes que fallecieron.

Determann et al [29] realizaron un seguimiento de 28 pacientes sometidos a ventilación mecánica e identificaron 9 casos de NAV. El análisis del sTREM-1 medido en suero no mostró diferencias significativas, mientras que en lavado broncoalveolar sí existieron. Con un punto de corte de 200 pg/ml, muy superior al establecido por Gibot et al [28], la capacidad diagnóstica del sTREM-1 presenta una sensibilidad de 75% y especificidad de 84%, AUC 0'83 (95% IC 0'71 – 1'00). Mediante el seguimiento seriado de los pacientes, los autores pudieron observar como la cifra de sTREM-1 en el lavado broncoalveolar aumentaba progresivamente durante los 6 días previos al diagnóstico de la NAV, desde una media de 155 pg/ml hasta un máximo de 894 pg/ml en el día del diagnóstico. Todos los pacientes respondieron adecuadamente al tratamiento antibiótico, con el consiguiente descenso de la cifra de sTREM-1 en lavado broncoalveolar.

La medición de sTREM-1 en LCR también ha dado buenos resultados. Determann et al [30] estudiaron un grupo de 100 pacientes con meningitis comunitaria (bacteriana en 92 casos y viral en 8 casos) y 9 controles sanos. La mediana de sTREM-1 fue 82

pg/ml (rango: 0 – 988) en los pacientes con meningitis bacteriana frente a 0 pg/ml (rango: 0 – 48) en los pacientes con meningitis viral y 0 pg/ml (rango: 0 – 36) en los controles. Un punto de corte de 20 pg/ml mostró una sensibilidad de 73% y una especificidad de 77% en el diagnóstico de meningitis bacteriana, AUC 0'82 (95% IC, 0'74 – 0'90). En el grupo de pacientes con meningitis bacteriana, las cifras elevadas de sTREM-1 también se asociaron mayor mortalidad: entre los supervivientes (n = 68), la mediana de sTREM-1 en el momento del diagnóstico fue 73 pg/ml (rango: 0 – 449), mientras que en los pacientes que no sobrevivieron (n = 24) fue 151 pg/ml (rango: 0 – 988) ( $P=0'02$ ).

Bishara et al [31] evaluaron un grupo de 21 pacientes con sospecha clínica de meningitis, 9 de ellos con cultivo positivo y 12 con cultivo negativo. Las cifras de sTREM-1 medido en LCR fueron mayores en el grupo de pacientes con meningitis bacteriana (mediana 128 pg/ml, rango: 0 – 484) y 0 pg/ml en los pacientes con cultivo negativo. A diferencia de Determann et al [30], estos autores detectaron valores de sTREM-1 más elevados entre los pacientes que sobrevivieron (129 pg/ml, rango: 63 – 484 vs. 35 pg/ml, rango: 0 – 176;  $P=0'219$ ).

En el caso de infecciones localizadas como la NAV o la meningitis, el valor diagnóstico y pronóstico del sTREM-1 se ha comprobado exclusivamente en fluidos locales (lavado broncoalveolar o LCR) y no en plasma, debido a la presencia de barreras naturales como la barrera alveolo-capilar o la hemato-encefálica, que dificultarían el paso de la molécula al torrente sanguíneo. Determann et al [29] determinaron en su trabajo las cifras sistémicas de sTREM-1, pero no observaron cambios a lo largo del tiempo ni en los pacientes del grupo de NAV ni en los controles. Únicamente los estudios en pacientes con sepsis como el de Gibot et al [32] han demostrado valores sistémicos de sTREM-1 elevados y en su trabajo, cifras superiores a 60 ng/ml mostraban buena correlación con el diagnóstico de infección, con una sensibilidad de 96% y una especificidad de 89%, AUC 0.97 (95% IC, 0'94 – 1'00).

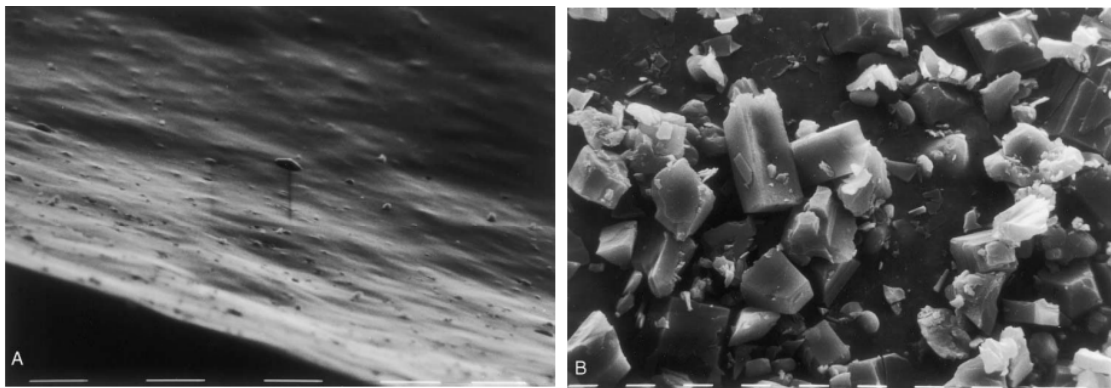
Los buenos resultados obtenidos por el sTREM-1 en el caso de infecciones bacterianas localizadas hacen de esta molécula un biomarcador muy atractivo para el diagnóstico de infecciones relacionadas con la biopelícula bacteriana.

### **Estrategias de prevención de la ventriculitis asociada a drenaje ventricular externo.**

En los últimos años se están planteando diversas estrategias para la prevención de infecciones asociadas a dispositivos invasores. Trabajos recientes recomiendan paquetes de medidas que habitualmente pasan por protocolizar el lugar y la técnica de inserción del DVE, reducir la manipulación del drenaje en caso de disfunción, limitar la toma de muestras de LCR a la sospecha clínica de infección asociada y no realizar cambios rutinarios del DVE. Korinek et al [15] establecieron un protocolo de inserción y manejo de los DVE y lograron una reducción de 16 casos de ventriculitis en el periodo de control (n = 161 DVE, 131 pacientes) hasta 10 casos en el periodo de estudio (n = 216 DVE, 175 pacientes). Leverstein-van Hall et al [34] detectaron un incremento de 13% a 26'6% casos de ventriculitis a lo largo de un año y establecieron una estrategia basada en el establecimiento de protocolos escritos de higiene y asepsia para la inserción, manipulación y retirada del DVE, limitación de la toma de muestras a través del DVE al mínimo imprescindible por sospecha clínica de infección, retirada del catéter de DVE en caso de infección y, en la medida de lo posible, intentar mantener un periodo libre de DVE, con lo que lograron reducir un 40% la incidencia de ventriculitis asociada a DVE. Flint et al [35] consiguieron una reducción del 9'8% al 0'8% (p 0'001) mediante el seguimiento de protocolos de inserción y manejo del DVE al estilo de los presentados por Pronovost [36] y el uso de catéteres impregnados.

Otros autores como Chatzi et al [37] incluían recientemente entre su paquete de medidas preventivas una estrategia tan controvertida como es el recambio profiláctico del DVE a partir del séptimo día de permanencia. Ensayos clínicos aleatorizados como el realizado por Wong et al [38] no lograron una reducción de las tasas de infección entre los pacientes aleatorizados a la estrategia de recambio profiláctico del DVE cada 5 días (n = 51, 7'8% ventriculitis) frente al grupo de pacientes en los que el DVE únicamente se cambiaba en caso de disfunción (n = 52, 3'8% ventriculitis), p 0'5. El trabajo publicado por Chatzi et al [37] partía de una incidencia de ventriculitis superior a la descrita en la literatura científica (28%) y lograban una reducción hasta el 10'5%, mediante una estrategia basada fundamentalmente en el manejo estéril del catéter de DVE y políticas de control universal de la infección tipo Pronovost [36], que por sí mismas ya han demostrado una clara reducción de la incidencia de otro tipo de infecciones asociadas a dispositivos invasivos. Por tanto, a la luz de estos resultados, la evidencia para el recambio profiláctico del DVE continúa siendo insuficiente [39].

Además de la elaboración de estos protocolos para el momento de inserción y manipulación, se están desarrollando nuevos mecanismos para dificultar la colonización bacteriana en forma de biopelícula. Un ejemplo son los ya mencionados catéteres de drenaje ventricular externo impregnados en antibiótico [12 – 14, 35]. El efecto de estos catéteres sobre la formación de biopelícula se ha comprobado en trabajos *in vitro*, pero nunca ha sido estudiado *in vivo* [40]. Los antibióticos más comúnmente utilizados son rifampicina, clindamicina y minociclina, dirigidos frente a las bacterias grampositivas, etiología más frecuente de la ventriculitis asociada a DVE. No obstante, la creciente emergencia de bacterias gramnegativas multirresistentes, como *Acinetobacter baumannii*, podría limitar la eficacia de estos catéteres [41].



**Figura 5. Superficie de un catéter de drenaje ventricular de silicona y uno impregnado en antibiótico. Imágenes de microscopio electrónico de barrido.**

Adaptada de Kockro et al [40], la imagen A muestra la superficie irregular de un catéter de drenaje ventricular de silicona, que favorecería la adherencia bacteriana. La imagen B muestra la superficie de un catéter impregnado en rifampicina, con cristales de diferentes formas y tamaños.





## HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS





## **HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS**

### **Hipótesis.**

1. Las bacterias pueden colonizar la superficie de los drenajes ventriculares externos en forma de biopelícula y, a partir de la misma, liberarse al sistema ventricular y producir una infección. El uso de catéteres de drenaje ventricular externo impregnados con rifampicina-clindamicina dificultaría el asentamiento bacteriano y la formación de biopelículas en la superficie de dichos catéteres.
2. En caso de ventriculitis bacteriana en pacientes portadores de un drenaje ventricular observaremos un incremento significativo en la cifra de sTREM-1 medido en LCR.

### **Objetivos.**

1. Analizar la presencia de biofilm en los drenajes ventriculares externos.
2. Comprobar el efecto del uso de catéteres de drenaje ventricular externo impregnados con rifampicina-clindamicina sobre la colonización y formación de biopelículas bacterianas en la superficie de los drenajes ventriculares externos.
3. Evaluar la influencia del tiempo de permanencia del DVE en la prevalencia de colonización y formación de biopelículas sobre la superficie del catéter.
4. Analizar la influencia de los aspectos anteriores en los drenajes relacionados con un episodio de ventriculitis.
5. Comprobar la utilidad del sTREM-1 en el diagnóstico de la ventriculitis asociada al uso de drenaje ventricular externo.
6. Observar los cambios en las cifras de sTREM-1 medido en LCR en los pacientes diagnosticados de ventriculitis en función de la evolución clínica.





ARTÍCULO 1



## ARTÍCULO 1

“Assessment of the in vivo formation of biofilm on external ventricular drainages”.

*Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2013 Nov;32(11):1437-43.

### RESUMEN.

La formación de biopelículas bacterianas sobre los drenajes ventriculares externos (DVEs) se ha postulado como el principal mecanismo patogénico de la ventriculitis asociada a DVE. Sin embargo, nunca se ha estudiado sistemáticamente la presencia de biopelícula sobre la superficie de los DVEs y el efecto *in vivo* de los DVEs impregnados con antibióticos nunca se ha evaluado. El objetivo de este estudio fue medir la prevalencia de formación de biopelícula sobre los DVEs y analizar la influencia de los DVE impregnados en antibióticos sobre la formación de biopelículas bacterianas en la superficie del catéter y posterior desarrollo de ventriculitis.

Se incluyeron en el estudio pacientes consecutivos portadores de DVE. Se realizaron cultivos de vigilancia de LCR dos veces por semana. El diagnóstico de colonización o ventriculitis asociada a DVE se realizó siguiendo los criterios propuestos por Lozier et al [1]. Los DVE retirados fueron cultivados mediante técnicas bacteriológicas estándar y examinados mediante microscopio electrónico de barrido.

Incluimos en el estudio 32 DVEs, 18 de los cuales (56%) eran catéteres impregnados en antibiótico. Se detectó biopelícula en 24 DVEs (75%) y se diagnosticó ventriculitis en 6 pacientes (19%) y colonización del DVE en 12 pacientes (38%). Todos los casos de ventriculitis fueron debidos a bacterias gramnegativas. La presencia de biopelícula fue más frecuente en DVEs provenientes de pacientes con ventriculitis o colonización bacteriana. Los DVE impregnados no evitaron la ventriculitis o la colonización, pero el desarrollo de biopelícula sobre estos dispositivos en comparación con los no impregnados varió según el tiempo de permanencia del DVE y osciló entre 50% vs. 80% en aquellos de < 7 días de permanencia ( $P = 0'264$ ) y 88% vs. 89% en catéteres de  $\geq 7$  días ( $P = 0'929$ ).

En conclusión, la formación de biopelícula es un fenómeno común en los DVEs. Los DVE impregnados disponibles actualmente (impregnados con clindamicina y rifampicina) no lograron evitar la ventriculitis debida a bacterias gramnegativas multirresistentes, pero se observó una tendencia al retraso en el desarrollo de biofilm.



## Assessment of the *in vivo* formation of biofilm on external ventricular drainages

P. Ramírez · M. Gordón · A. Soriano · S. Gil-Perotin · V. Martí ·  
E. M. Gonzalez-Barbera · M. T. Sanchez-Aguilar · J. A. Simal · J. Bonastre

Received: 11 April 2013 / Accepted: 8 May 2013  
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013

**Abstract** Biofilm formation on external ventricular drainages (EVDs) has been postulated as the main pathogenic mechanism for EVD-associated ventriculitis. However, biofilm on EVDs has never been systematically studied and the *in vivo* effect of antibiotic-impregnated EVDs on biofilm has not been assessed. The aim of this study was to measure the prevalence of biofilm formation on EVDs and to analyze the influence of antibiotic-impregnated EVD on the risk of biofilm formation and ventriculitis. Consecutive patients with EVDs were included in the study. Surveillance cerebrospinal fluid (CSF) cultures were performed twice a week. Withdrawn EVDs were cultured using standard bacteriologic techniques and examined under a scanning electron microscope. We collected 32 EVDs, 18 of which (56 %) were antibiotic-impregnated EVDs. Biofilm was present on 24 EVDs (75 %), ventriculitis was diagnosed in 6 patients (19 %), and colonization occurred in 12 patients (38 %). All cases of

ventriculitis were due to Gram-negative bacteria. Biofilm was more frequent on EVDs originating from patients with ventriculitis or bacterial colonization. Impregnated EVDs did not avoid ventriculitis or colonization, but biofilm development on these devices depended on the time from insertion and varied from 67 % for those used for <7 days to 88 % for those used for  $\geq 7$  days ( $p=0.094$ ). In conclusion, biofilm is a common phenomenon on EVDs. Currently available impregnated EVDs could not avoid ventriculitis due to multidrug-resistant Gram-negative bacteria, but a trend of delayment of biofilm development was observed.

### Introduction

Ventriculitis associated to external ventricular drainages (EVDs) is one of the most important complications related to the use of these devices. EVD-associated ventriculitis has a variable incidence, ranging from 5 to 20 %, and entails a high morbidity and mortality [1, 2]. Biofilm formation on EVDs has been postulated as the main pathogenic mechanism of ventriculitis [3].

Studies have been performed in order to assess the advisable time of EVD use and the effectiveness of different materials to avoid biofilm formation. Routine change of the EVD catheter has not demonstrated a clear benefit on ventriculitis prevention and is not currently recommended [4, 5]. Silver-impregnated EVDs have shown a decrease of EVD-related ventriculitis, although the available scientific evidence is still scarce [6, 7]. Similar results have been found for antibiotic-impregnated EVDs [8–11]. This type of EVD successfully avoided biofilm formation *in vitro*, but this effect has not been corroborated *in vivo* [12]. As Gram-positive bacteria are the microorganisms more frequently involved in ventriculitis, rifampicin, clindamycin, and minocycline have been the most frequently used antibiotics. However, the emergence of

P. Ramírez (✉) · M. Gordón · S. Gil-Perotin · V. Martí ·  
M. T. Sanchez-Aguilar · J. Bonastre  
Department of Intensive Care Medicine,  
Hospital Universitari i Politècnic la Fe, Bulevar Sur s/n,  
46026 Valencia, Spain  
e-mail: ramirez\_pau@gva.es

P. Ramírez  
Centro de Investigación Biomedica En Red-Enfermedades  
Respiratorias (CibeRes, CB06/06/0028),  
Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

A. Soriano  
Infectious Medicine, Hospital Clinic, Barcelona, Spain

E. M. Gonzalez-Barbera  
Department of Microbiology,  
Hospital Universitari i Politècnic la Fe, Valencia, Spain

J. A. Simal  
Department of Neurosurgery,  
Hospital Universitari i Politècnic la Fe, Valencia, Spain

Published online: 25 May 2013

 Springer



multidrug-resistant Gram-negative bacteria, such as *Acinetobacter baumannii*, as a common etiology of ventriculitis could limit the efficacy of these devices [13].

In order to assess the prevalence of ventriculitis and biofilm formation on EVDs, and to analyze the influence of antibiotic-impregnated EVD on the risk of biofilm formation and ventriculitis, we prospectively collected and processed all EVDs placed in neurocritical patients in our intensive care unit (ICU).

## Methods

### Patients

This study was approved by our institutional ethics board and an informed consent was obtained from the patients or their relatives. Over a period of 12 months, we prospectively recorded all patients that were consecutively admitted to our ICU and required the insertion of an EVD. We did not include the same patient if a second EVD was inserted. Recommended maneuvers to prevent EVD-related ventriculitis were performed in all our patients [1].

**External ventricular drainages** Neurosurgeons could choose between conventional EVD (silicone) or impregnated EVD (Bactiseal®, Codman Johnson & Johnson, Raynham, MA, USA). Bactiseal® is an EVD with antibiotics impregnated throughout the silicone material, with 0.15 % clindamycin and 0.054 % rifampicin [14].

### Definitions

**Biofilm** Clusters or microcolonies of bacteria, encased in an extracellular matrix and adherent to the EVD surface [15].

**Colonization** A positive cerebrospinal fluid (CSF) or EVD culture, in the absence of abnormal CSF findings or clinical signs and symptoms of infection [5].

**EVD-related ventriculitis** A positive CSF culture accompanied by abnormal CSF findings and appropriate clinical signs and symptoms [5].

### Variables and outcome measures

Clinical variables were collected daily starting on the day of admission. We recorded the following data using a standardized form: (a) relative to the patient: demographics (age, sex), comorbidities (heart failure, cerebrovascular, neoplastic, renal, or liver diseases), immunological state, cause of

EVD insertion, antibiotic treatment, admission and release dates, dates of initiation and end of EVD, diagnosis of ventriculitis and other hospital-acquired infections; (b) relative to CSF samples (microbial isolates in CSF); (c) relative to EVDs: type of EVD, microbial isolated on EVD culture, and presence and extension of biofilm on EVDs.

### CSF samples

We performed surveillance sampling of CSF twice a week. The sample was analyzed (cytobiochemistry) and qualitatively cultured. If ventriculitis was suspected, we obtained an extra CSF sample before antibiotic administration (when possible).

### Processing of EVD

Upon extraction, we collected EVDs, avoiding external contamination. After rinsing with sterile saline to eliminate CSF or blood, a 1-cm-long cross-sectional intracranial segment was divided into two portions for both electron microscopy and aerobic/anaerobic cultures. Biofilm was obtained by EVD sonication under sterile conditions. Samples were cultured using standard bacteriologic techniques. For scanning electron microscopy (SEM), the section of the EVD was fixed in a mixture of 4 % paraformaldehyde–2.5 % glutaraldehyde in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) for 1 h at room temperature. All samples were maintained at 4 °C and, previous to SEM examination, they were sequentially processed: washed and dehydrated with crescent ethanol concentrations, dried with liquid CO<sub>2</sub>, mounted, sputter-coated, and examined under a Hitachi (S-4100) scanning electron microscope (SCSIE, University of Valencia, Valencia, Spain).

### Statistical analyses

All statistical analyses were performed with the SPSS v.15 software. The  $\chi^2$  test was used for categorical variables, and the Student's *t* or Mann–Whitney tests were used for continuous variables. We considered  $p < 0.05$  (95 % confidence interval) as being statistically significant.

## Results

We included 32 patients in our study. The demographic and clinical data are depicted in Table 1. More than half of the EVDs were impregnated with rifampicin and clindamycin ( $n = 18$ ; 56 %). The mean duration of use was 8 days (interquartile range, IQR: 6–12). The reasons for EVD withdrawal were resolution of hydrocephalus ( $n = 13$ ; 40 %), insertion of a new EVD ( $n = 7$ ; 22 %), or death ( $n = 12$  (38 %).

There was evidence of EVD colonization in 12 cases. Seven surveillance CSF cultures were positive and the

**Table 1** Demographic data and clinical data

	Global (n = 32)	EVD-related ventriculitis			Type of EVD		
		Yes (n=6)	No (n=26)	p-Value	Impregnated (n=18)	Non-impregnated (n=14)	p-Value
Females	20 (63 %)	3 (50 %)	17 (65 %)	0.483	11 (61 %)	9 (64 %)	0.854
Age (years)	64 (51–74)	62 (50–66)	66 (53–75)	0.229	61 (50–67)	74 (59–78)	0.142
<b>Comorbidities</b>							
Diabetes mellitus	6 (19 %)	0	6 (23 %)	0.192	5 (28 %)	1 (7 %)	0.138
Arterial hypertension	24 (75 %)	5 (83 %)	19 (73 %)	0.601	13 (72 %)	11 (79 %)	0.681
Tobacco consumption	8 (25 %)	1 (16 %)	7 (27 %)	0.601	7 (40 %)	1 (7 %)	0.040
Anticoagulant therapy	5 (16 %)	1 (16 %)	4 (15 %)	0.938	3 (17 %)	2 (14 %)	0.854
<b>Acute event</b>							
Intraventricular hemorrhage	32 (100 %)	6 (100 %)	25 (96 %)	0.625	17 (94 %)	14 (100 %)	0.370
GCS score	4 (6–10)	4 (6–10)	6 (4–11)	0.636	6 (5–11)	6 (4–9)	0.897
Prophylaxis at EVD insertion	26 (81 %)	6 (100 %)	20 (77 %)	0.192	15 (83 %)	11 (79 %)	0.732
Prolonged antibiotherapy	25 (78 %)	6 (100 %)	19 (73 %)	0.150	12 (67 %)	13 (93 %)	0.075
SDD	15 (47)	15 (47)	9 (35)	0.004	9 (50)	6 (43)	0.688
Prolonged mechanical ventilation	25 (78 %)	6 (100 %)	19 (73 %)	0.150	12 (67 %)	13 (93 %)	0.075
Impregnated EVD	18 (56 %)	3 (50 %)	15 (58 %)	0.732			
Duration of EVD	8 (6–12)	16 (12–19)	7 (6–10)	0.024	7 (6–11)	9 (6–17)	0.239
EVD used for >7 days	17 (53 %)	6 (100 %)	11 (42 %)	0.011	8 (44 %)	9 (64 %)	0.265
Permanent ventricular shunt	2 (6 %)	0	2 (8 %)	0.483	1 (6 %)	1 (7 %)	0.854
<b>Outcomes</b>							
Other nosocomial infections	13 (40 %)	3 (50 %)	10 (39 %)	0.604	7 (39 %)	6 (43 %)	0.821
VAP	10 (31 %)	2 (33 %)	8 (31 %)	0.903	5 (28 %)	5 (36 %)	0.631
ICU length of stay	6 (12–17)	18 (16–25)	10 (5–15)	0.037	10 (7–16)	15 (5–18)	0.191
ICU mortality	16 (50 %)	3 (50 %)	13 (50 %)	1	9 (50 %)	7 (50 %)	1
Hospital mortality	18 (56 %)	4 (66 %)	14 (54 %)	0.481	10 (56 %)	8 (57 %)	0.982

GCS Glasgow Coma Scale; SDD selective digestive decontamination; VAP ventilator-associated pneumonia

Data are expressed as median (interquartile range) or n (%)

microorganism isolated was coagulase-negative staphylococci (CNS) in six of them and *Escherichia coli* in the remaining patient, but in any patient, it predicted the development of ventriculitis. Five EVD catheter cultures were also positive to CNS (n=3), *Propionibacterium acnes* (n=1), or *Candida* spp. (n=1) in the absence of signs or symptoms of infection.

EVD-related ventriculitis was diagnosed in 6 patients (29 %). The mean time from EVD insertion to ventriculitis diagnosis was 12.5 days (IQR: 11–16.5). Five cases of ventriculitis were due to *A. baumannii* and one case was due to *Klebsiella pneumoniae*. In four of these six cases, the same microorganism was isolated from the EVD catheter culture (67 %).

#### Biofilm on EVDs

Biofilm formation was present in 75 % (n=24) of the EVDs. Biofilm extension varied from scarce formations (n=13;

54 %) to dispersed clusters (n=5; 21 %) or confluent abundant biofilm matrices extended on the inner surface of EVDs (n=6; 25 %) (Table 2) (Fig. 1a–d). When biofilm was observed, microorganisms could frequently be observed on the surface of the biofilm (Fig. 1b, d).

Biofilm was more frequent on EVDs originating from patients with ventriculitis and from colonized patients (100 % and 75 %, respectively vs. 64 %; p=0.217). EVDs used for ≥7 days (n=14; 44 %) had a higher incidence of ventriculitis (35 % vs. 0 %; p=0.011) and biofilm was more frequently observed (88 % vs. 67 %; p=0.094).

#### Influence of impregnated vs. non-impregnated EVDs on the risk of ventriculitis, colonization, and biofilm formation

We collected 18 impregnated EVDs (Bactiseal®) and 14 non-impregnated EVDs. The clinical characteristics of patients in both groups were similar (Table 1). EVD

**Table 2** Biofilm analysis and microbial findings

Case no.	Biofilm	Event	EVD	EVD culture
1	Dispersed clusters	<i>A. baumannii</i> ventriculitis	Normal	–
2	Absent	–	Normal	–
3	Scarce	–	Impregnated	–
4	Confluent	<i>A. baumannii</i> ventriculitis	Impregnated	<i>A. baumannii</i>
5	Scarce	–	Impregnated	–
6	Absent	–	Impregnated	–
7	Confluent	–	Impregnated	–
8	Scarce	<i>K. pneumoniae</i> ventriculitis	Impregnated	<i>K. pneumoniae</i>
9	Scarce	–	Normal	–
10	Scarce	–	Impregnated	–
11	Dispersed clusters	<i>A. baumannii</i> ventriculitis	Normal	–
12	Absent	–	Impregnated	–
13	Absent	–	Impregnated	–
14	Dispersed clusters	<i>A. baumannii</i> ventriculitis	Normal	<i>A. baumannii</i>
15	Absent	–	Impregnated	–
16	Dispersed clusters	<i>A. baumannii</i> ventriculitis	Impregnated	<i>A. baumannii</i>
17	Scarce	CNS in EVD culture	Impregnated	CNS
18	Dispersed clusters	CNS in CSF	Normal	–
19	Absent	CNS in CSF	Normal	–
20	Scarce	CNS in CSF	Normal	–
21	Confluent	–	Impregnated	–
22	Absent	CNS in CSF	Normal	CNS
23	Confluent	–	Normal	–
24	Scarce	–	Normal	<i>P. acnes</i>
25	Confluent	–	Impregnated	<i>Candida</i> spp.
26	Scarce	<i>E. coli</i> in CSF	Normal	–
27	Absent	–	Normal	CNS
28	Scarce	CNS in CSF	Impregnated	CNS
29	Scarce	–	Normal	CNS
30	Confluent	CNS in CSF	Normal	–
31	Scarce	–	Impregnated	–
32	Scarce	–	Impregnated	–

CNS coagulase-negative staphylococci; EVD external ventricular drainage; CSF cerebrospinal fluid

duration until removal or ventriculitis diagnosis was 9 days (IQR: 6–17) for non-impregnated EVDs and 7 days (IQR: 6–11) for impregnated EVDs ( $p=0.239$ ). There were no differences in the reasons for EVD withdrawal between impregnated and non-impregnated EVDs (Table 3).

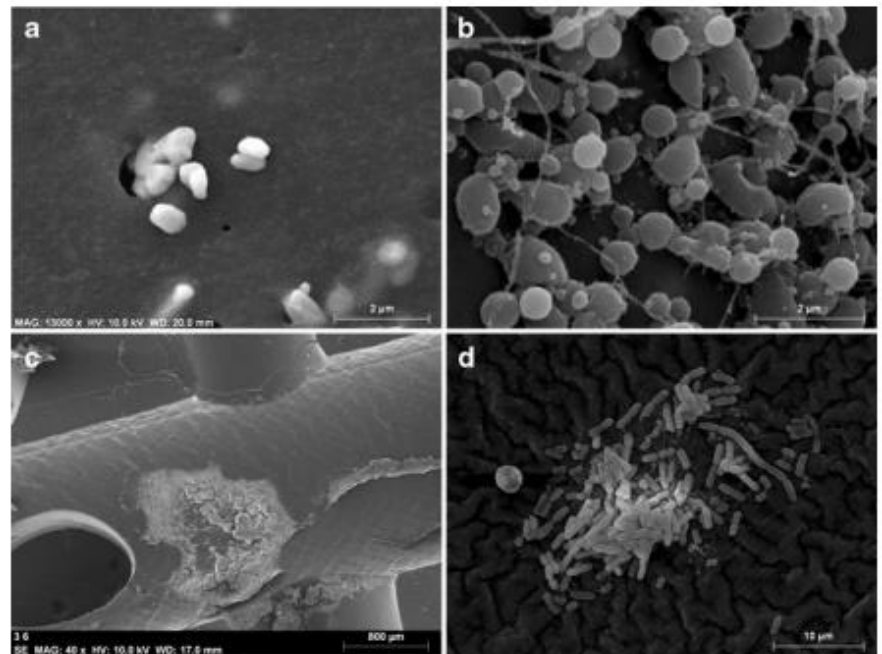
Colonization by CNS was similar between the two groups. Although not statistically significant, biofilm was more frequent on non-impregnated EVDs (86 %) than on antibiotic-impregnated EVDs (67 %) ( $p=0.217$ ). Among EVDs removed within the first 7 days, the prevalence of biofilm was 50 % for impregnated EVDs and 80 % for non-impregnated EVDs ( $p=0.264$ ). The prevalence of biofilm on those EVDs removed after 7 days was 88 % and 89 % for impregnated and non-impregnated EVDs, respectively ( $p=0.929$ ).

The mean time from EVD insertion to ventriculitis diagnosis was similar between non-impregnated and impregnated EVDs. Ventriculitis was more frequent in non-impregnated EVDs (43 %) than in impregnated EVDs (21 %), without reaching statistical significance ( $p=0.354$ ). Bacteria causing ventriculitis were resistant to antibiotics enclosed in Bactiseal® EVDs. The results related to impregnated and non-impregnated EVDs are summarized in Table 3.

## Discussion

Our results show a high prevalence of biofilm formation on EVDs. All EVDs originating from patients with ventriculitis showed biofilm, but it was also present on EVDs removed

**Fig. 1** **a** Antibiotic-impregnated external ventricular drainage (EVD) (Bactiseal®), showing antibiotic release in the inner surface (13,000×). **b** Biofilm on EVD related to coagulase-negative staphylococci (CNS) colonization (15,000×). **c** Biofilm on EVD related to *Acinetobacter baumannii* ventriculitis (40×). **d** Biofilm on EVD related to *A. baumannii* ventriculitis (2,500×)



for other reasons. We observed a delay in biofilm formation in impregnated EVDs but, after 7 days in use, the presence of biofilm was similar. Due to the etiology of our infections (Gram-negative bacteria), antibiotic-impregnated EVDs could not avoid ventriculitis development. Another interesting finding of our study is the lack of efficacy of surveillance CSF cultures in detecting bacterial colonization preceding the infection.

Colonization and biofilm formation is nearly a universal phenomenon on invasive devices, such as endotracheal tubes (ETTs) and indwelling central venous catheters (CVCs) [16–19]. This is the first time that EVDs have been systematically studied in order to analyze the presence of biofilm. Like

for other devices, we have found a high prevalence of biofilm (74 %). Although our sample size was small and the results did not reach statistically significant differences, impregnated EVDs reduced biofilm formation during the first 7 days of use. This result is consistent with previous findings from several studies. In an experimental model of antibiotic-impregnated endovascular catheters, it was found that there was a loss of minocycline concentration by day 7 [20]. A decrease in the zone of inhibition against different bacteria in rifampicin-/minocycline-impregnated catheters by day 7 has also been described [21].

Concerning ventriculitis, the failure of impregnated EVDs in avoiding infection could be explained because

**Table 3** Outcomes related to impregnated EVDs and non-impregnated EVDs

	Type of EVD		p-Value
	Impregnated (n = 18)	Non-impregnated (n =14)	
Duration of EVD <sup>a</sup>	7 (6–11)	9 (6–17)	0.239
EVD used for >7 days	8 (44)	9 (64)	0.265
Reason for EVD withdrawal:			0.234
Resolution	7 (39)	6 (43)	
Exchange	5 (28)	2 (14)	
Death	6 (33)	6 (43)	
Biofilm	12 (67)	12 (86)	0.217
Biofilm on EVDs used for >7 days	7 (88)	8 (89)	0.929
Bacterial colonization	3 (22)	9 (64)	0.067
Ventriculitis	3 (17)	3 (21)	0.858
Mean time until ventriculitis (±SD)	15±5	13±2	0.660

SD standard deviation  
Data are expressed as median (interquartile range) or n (%), unless otherwise specified  
<sup>a</sup>Duration of EVD until withdrawal or ventriculitis diagnosis

the pathogens involved were resistant to clindamycin and rifampicin (*A. baumannii* and *K. pneumoniae*). Some studies analyzed the efficacy of antibiotic-impregnated EVDs [8–11] and found a reduction in bacterial colonization and ventriculitis due to staphylococci with EVDs loaded with potent antistaphylococcal and antibiofilm agents, such as minocycline and rifampicin [8–11]. The increasing presence of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in device-related infections has made necessary the evaluation of new biomaterials impregnated with antibiotics active against these bacteria, such as colistin-impregnated beads to prevent multidrug-resistant *A. baumannii* implant-associated osteomyelitis [22]. The same strategy could be adopted in EVD ventriculitis to design new EVDs pointed towards these bacteria [13].

We have found a high prevalence of ventriculitis related to an *A. baumannii* outbreak in our ICU during this study. Preventive measures have reduced the presence of these bacteria and have diminished significantly the incidence of nosocomial infections. Even in this specific epidemiological context, surveillance cultures of CSF (at least with the planned periodicity) did not anticipate the diagnosis and etiology of the ventriculitis.

Our study has several limitations. The main drawback of our study is the number of patients included; however, this is the first time that in vivo biofilm formation on EVDs has been systematically studied. The fact that there was an outbreak of multidrug-resistant Gram-negative did not allow us to evaluate the effectiveness of antistaphylococcal impregnated EVDs. As described in previous studies, we analyzed only a 1-cm cross-section of the intracranial portion of the EVD, so we can only estimate the real percentage of occupation of the whole catheter; moreover, the absence of biofilm in this section cannot assure the complete integrity of the EVD (at a low probability rate).

## Conclusions

In conclusion, biofilm is a common phenomenon on external ventricular drainages (EVDs). In agreement with other studies in different invasive devices, impregnated EVDs delay biofilm formation in the first 7 days of use. However, they could not significantly reduce the rate of ventriculitis because the pathogens were resistant to the antibiotics loaded into the EVDs. In the future, it would be necessary to develop EVDs loaded with antibiotics active against multidrug-resistant pathogens that are increasing worldwide. In addition, surveillance cultures were not able to predict ventriculitis due to Gram-negative bacteria.

**Conflict of interest** The authors declare that they have no conflict of interest.

## References

- Beer R, Lackner P, Pfausler B, Schmutzhard E (2008) Nosocomial ventriculitis and meningitis in neurocritical care patients. *J Neuro* 255:1617–1624
- Braxton EE Jr, Ehrlich GD, Hall-Stoodley L et al (2005) Role of biofilms in neurosurgical device-related infections. *Neurosurg Rev* 28:249–255
- Fux CA, Quigley M, Worel AM et al (2006) Biofilm-related infections of cerebrospinal fluid shunts. *Clin Microbiol Infect* 12:331–337
- Lo CH, Spelman D, Bailey M, Cooper DJ, Rosenfeld JV, Brecknell JE (2007) External ventricular drain infections are independent of drain duration: an argument against elective revision. *J Neurosurg* 106:378–383
- Lozier AP, Sciacca RR, Romagnoli MF, Connolly ES Jr (2002) Ventriculostomy-related infections: a critical review of the literature. *Neurosurgery* 51:170–181
- Fichtner J, Güresir E, Seifert V, Raabe A (2010) Efficacy of silver-bearing external ventricular drainage catheters: a retrospective analysis. *J Neurosurg* 112:840–846
- Lackner P, Beer R, Broessner G et al (2008) Efficacy of silver nanoparticles-impregnated external ventricular drain catheters in patients with acute occlusive hydrocephalus. *Neurocrit Care* 8:360–365
- Harrop JS, Sharan AD, Ratliff J et al (2010) Impact of a standardized protocol and antibiotic-impregnated catheters on ventriculostomy infection rates in cerebrovascular patients. *Neurosurgery* 67:187–191
- Honda H, Jones JC, Craighead MC, Diringer MN, Dacey RG, Warren DK (2010) Reducing the incidence of intraventricular catheter-related ventriculitis in the neurology-neurosurgical intensive care unit at a tertiary care center in St Louis, Missouri: an 8-year follow-up study. *Infect Control Hosp Epidemiol* 31:1078–1081
- Wong GK, Ip M, Poon WS, Mak CW, Ng RY (2010) Antibiotics-impregnated ventricular catheter versus systemic antibiotics for prevention of nosocomial CSF and non-CSF infections: a prospective randomised clinical trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 81:1064–1067
- Zabramski JM, Whiting D, Darouiche RO et al (2003) Efficacy of antimicrobial-impregnated external ventricular drain catheters: a prospective, randomized, controlled trial. *J Neurosurg* 98:725–730
- Kockro RA, Hampl JA, Jansen B et al (2000) Use of scanning electron microscopy to investigate the prophylactic efficacy of rifampin-impregnated CSF shunt catheters. *J Med Microbiol* 49:441–450
- Lyke KE, Obasanjo OO, Williams MA, O'Brien M, Chotani R, Perl TM (2001) Ventriculitis complicating use of intraventricular catheters in adult neurosurgical patients. *Clin Infect Dis* 33:2028–2033
- Bayston R, Lambert E (1997) Duration of protective activity of cerebrospinal fluid shunt catheters impregnated with antimicrobial agents to prevent bacterial catheter-related infection. *J Neurosurg* 87:247–251
- Parsek MR, Singh PK (2003) Bacterial biofilms: an emerging link to disease pathogenesis. *Annu Rev Microbiol* 57:677–701
- Raad I, Costerton W, Sabharwal U, Sacilowski M, Anaissie E, Bodey GP (1993) Ultrastructural analysis of indwelling vascular

- catheters: a quantitative relationship between luminal colonization and duration of placement. *J Infect Dis* 168:400–407
17. Sottile FD, Marrie TJ, Prough DS et al (1986) Nosocomial pulmonary infection: possible etiologic significance of bacterial adhesion to endotracheal tubes. *Crit Care Med* 14:265–270
  18. Inglis TJ, Millar MR, Jones JG, Robinson DA (1989) Tracheal tube biofilm as a source of bacterial colonization of the lung. *J Clin Microbiol* 27:2014–2018
  19. Passerini L, Lam K, Costerton JW, King EG (1992) Biofilms on indwelling vascular catheters. *Crit Care Med* 20:665–673
  20. Tambe SM, Sampath L, Modak SM (2001) In vitro evaluation of the risk of developing bacterial resistance to antiseptics and antibiotics used in medical devices. *J Antimicrob Chemother* 47:589–598
  21. Raad I, Reitzel R, Jiang Y, Chemaly RF, Dvorak T, Hachem R (2008) anti-adherence activity and antimicrobial durability of anti-infective-coated catheters against multidrug-resistant bacteria. *J Antimicrob Chemother* 62:746–750
  22. Crane DP, Gromov K, Li D et al (2009) Efficacy of colistin-impregnated beads to prevent multidrug-resistant *A. baumannii* implant-associated osteomyelitis. *J Orthop Res* 27(8):1008–1015





**ARTÍCULO 2**





## ARTÍCULO 2

“Diagnosing external ventricular drain-related ventriculitis by means of local inflammatory response: soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1”.

*Crit Care*. 2014 Oct 20;18(5):567.

### RESUMEN.

**Introducción:** La ventriculitis asociada a drenaje ventricular externo (DVE) es una de las complicaciones infecciosas más graves asociadas al uso de DVEs. Establecer un diagnóstico precoz y certero puede ser complicado en pacientes críticos. El objetivo de este estudio fue evaluar la utilidad de la determinación del soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1) en líquido cefalorraquídeo (LCR) en el diagnóstico de ventriculitis.

**Métodos:** Estudio prospectivo observacional de 73 pacientes consecutivos con DVEs. Se obtuvieron muestras de LCR para cultivo, análisis citobioquímico y determinación de sTREM-1 tres veces por semana. El diagnóstico de ventriculitis precisó una combinación de criterios microbiológicos, citobioquímicos y clínicos.

**Resultados:** 73 pacientes consecutivos fueron incluidos en el estudio. Se diagnosticó ventriculitis asociada a DVE en 6 pacientes y colonización del DVE en 10 pacientes. Los pacientes sin hallazgos clínicos o microbiológicos fueron considerados controles. La mediana de sTREM-1 en LCR en el momento de diagnóstico de ventriculitis fue 4.320 pg/ml (rango intercuartílico, RI: 2.987 – 4.886) vs. 266 pg/ml (118 – 689);  $p < 0'001$ . No se observaron diferencias entre pacientes colonizados y controles. El mejor punto de corte de sTREM-1 para el diagnóstico de ventriculitis fue 2.388'79 pg/ml (sensibilidad 100%, especificidad 98'5%, valor predictivo positivo 85'71%, valor predictivo negativo 100%). La determinación de proteínas y glucosa en LCR y el ratio glucorraquia/glucemia fueron también significativamente diferentes ( $p < 0'001$ ). Los biomarcadores séricos no resultaron útiles para diagnosticar ventriculitis asociada a DVE. Estos resultados se confirmaron mediante un estudio de casos y controles con pacientes con ventriculitis (casos) y sin ventriculitis (controles) emparejados por edad, comorbilidades, escalas de gravedad y tiempo de permanencia del DVE ( $p 0'004$ ).

**Conclusiones:** El sTREM-1 medido en LCR resultó útil para diagnosticar ventriculitis, en similar medida que otros parámetros clásicamente medidos en LCR (proteínas, glucosa). La determinación de sTREM-1 en LCR podría confirmar el diagnóstico de infección en casos dudosos y discriminar entre colonización del DVE e infección.



RESEARCH

Open Access

# Diagnosing external ventricular drain-related ventriculitis by means of local inflammatory response: soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1

Monica Gordon<sup>1</sup>, Paula Ramirez<sup>1,2\*</sup>, Alex Soriano<sup>3</sup>, Manuel Palomo<sup>1</sup>, Cristina Lopez-Ferraz<sup>1</sup>, Esther Villarreal<sup>1</sup>, Salome Meseguer<sup>1</sup>, Maria Dolores Gomez<sup>4</sup>, Carlos Folgado<sup>1</sup> and Juan Bonastre<sup>1</sup>

## Abstract

**Introduction:** External ventricular drainage (EVD)-related ventriculitis is one of the most severe complications associated with the use of EVDs. Establishing an early and certain diagnosis can be difficult in critically ill patients. We performed this prospective study to evaluate the usefulness of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1) determination in cerebrospinal fluid (CSF) in the diagnosis of ventriculitis.

**Methods:** A prospective observational study was conducted of 73 consecutive patients with EVD. Samples of CSF for culture, cytochemical analysis and sTREM-1 determination were extracted three times a week. Ventriculitis diagnosis required a combination of microbiological, cytochemical and clinical criteria.

**Results:** Seventy-three consecutive patients were included. EVD-related ventriculitis was diagnosed in six patients and EVD-colonization in ten patients. Patients without clinical or microbiological findings were considered controls. The median CSF sTREM-1 was 4,320 pg/ml (interquartile range (IQR): 2,987 to 4,886) versus 266 pg/ml (118 to 689);  $P < 0.001$ . There were no differences when comparing colonized-patients and controls. The best cut-off sTREM-1 value for the diagnosis of ventriculitis was 2,388.79 pg/ml (sensitivity 100%, specificity 98.5%, positive predictive value 85.71%, negative predictive value 100%). CSF proteins, glucose and the ratio CSF/serum glucose were also significantly different ( $P = 0.001$ ). Serum biomarkers were not useful to diagnose EVD-related infection. These results were confirmed by a case-control study with ventriculitis patients (cases) and non-ventriculitis (control subjects) matched by age, comorbidities, severity scales and EVD duration ( $P = 0.004$ ).

**Conclusions:** CSF sTREM-1 was useful in the diagnosis of ventriculitis, in a similar measure to classical CSF parameters. Furthermore, CSF sTREM-1 could prove the diagnosis in uncertain cases and discriminate between EVD-colonization and infection.

## Introduction

External ventricular drains (EVD) are commonly used in critical care units for the treatment of acute obstructive hydrocephalus (subarachnoid hemorrhage, intracranial hemorrhage or brain tumors), for intracranial pressure monitoring or for the administration of intrathecal

medication. Compared with other potential adverse effects, EVD-related ventriculitis is one of the most important complications associated with the use of these devices. According to the literature, the incidence rate of EVD-related ventriculitis ranges from 5% to 20% and it is mainly due to gram-positive cocci (*Staphylococcus epidermidis* or *Staphylococcus aureus*), but gram-negative bacteria such as *Pseudomonas aeruginosa* or *Acinetobacter baumannii* have also been found as causal agents. EVD-related ventriculitis has consequences not only in terms of mortality but also, more importantly, on the

\* Correspondence: ramirez\_pau@gva.es

<sup>1</sup>Department of Intensive Care Medicine, Hospital Universitario y Politécnico la Fe, Avda de Fernando Abril Martorell, n.106, 46026 Valencia, Spain

<sup>2</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red-Enfermedades Respiratorias (CibeRes, CB06/06/0028), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain  
Full list of author information is available at the end of the article



© 2014 Gordon et al.; licensee BioMed Central Ltd. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly credited. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

development of severe neurological sequelae. Therefore, an early recognition and an appropriate treatment are indispensable [1,2].

Clinical diagnosis of EVD-related ventriculitis is based on the presence of a neurological impairment, which often is not easily detectable in patients with severe brain injury. On the other hand, infectious signs such as fever or high leucocyte count could be due to other nosocomial complications [3]. Finally, the usual compartmentalization of an infection such as ventriculitis makes it unable to trigger a systemic inflammatory response expressed by serum biomarkers such as C-reactive protein or procalcitonin. Moreover, those biomarkers would be inefficient in discriminating between ventriculitis and other inflammatory situations [4,5].

Due to these factors, the study of cerebrospinal fluid (CSF) remains the key to the diagnosis of EVD-related ventriculitis. However, meningeal irritation due to the presence of blood degradation products could affect glucose, proteins and leucocyte count measurements in CSF [6,7]. The calculated cell-index in CSF could help in the diagnosis, but can fluctuate and a clear cut-off value for proven infection has not been established [2,8]. Recent studies suggest the role of different cytokines measured in CSF in the diagnosis of EVD-related ventriculitis, but this finding has not yet been validated [9]. Finally, microbiological CSF culture is nowadays the most reliable diagnostic tool, but its results can be delayed for up to 48 hours and false positive or negative results are possible.

In the last years, new molecules are being tested to help in the early diagnosis of several infections. Triggering receptor expressed on myeloid cells (TREM)-1 is one of these new biomarkers under study. TREM-1 is a transmembrane glycoprotein of the immunoglobulin superfamily, which is expressed on the surface of neutrophils, macrophages and mature monocytes when they infiltrate infected tissues. In the presence of lipopolysaccharide and other microbial products, TREM-1 amplifies the synthesis of proinflammatory cytokines such as TNF $\alpha$  [10-12]. Its soluble form (sTREM-1) measured in plasma or other body fluids has shown good accuracy in diagnosing bacterial infections. A high serum level of sTREM-1 has been demonstrated in patients with sepsis [13] and patients with pneumonia present with high levels of sTREM-1 in bronchial lavage fluid [14,15]. Recently, Bishara [16] and Determann [17] analyzed the value of CSF sTREM-1 in patients with bacterial meningitis and proved its diagnostic usefulness and its prognostic value [16,17].

sTREM-1 has never been evaluated in central nervous system infections related to the presence of invasive devices such as EVDs. We hypothesized the usefulness of sTREM-1 determination in CSF in the diagnosis of EVD-related ventriculitis. We designed this study with

the aim of evaluating the accuracy of sTREM-1 levels in CSF as a diagnostic tool for EVD-related ventriculitis.

## Methods

### Study design

This prospective observational study was conducted in the Intensive Care Unit (ICU) of Hospital Universitario y Politécnico la Fe (Valencia, Spain), a 21-bed medical ICU. We included consecutive adult patients who were admitted during a three-year period (from April 2008 to March 2011) and required the neurosurgical insertion of an EVD. Previously, informed consent was obtained from patients or from their relatives. The study was approved by the Ethical Committee for Clinical Research of the Hospital Universitario y Politécnico La Fe (Valencia, Spain).

### Data collection protocol

On admission, we recorded data related to demographics, medical history, current disease and indication for placement of EVD, type of EVD, antibiotic therapy (as surgical prophylaxis at the moment of EVD insertion or as continued treatment), the presence of other invasive devices and severity scales (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (APACHE II)). Daily, we performed a clinical surveillance for the presence of any infection, which included clinical examination, analysis of temperature and hemodynamic parameters, and a blood test with leukocyte count, C-reactive protein (CRP) and procalcitonin (PCT) determination.

At admission and three times a week, we took samples of CSF for cytological and biochemical analysis, microbiological qualitative culture and sTREM-1 determination.

If any other kind of infection was suspected, samples of blood, tracheal aspirate, urine, surgical wound or other possible samples were collected for microbiological culture. The diagnosis of an infection different from EVD-related ventriculitis was made according to the Centers for Disease Control and Prevention criteria [18].

### Definitions

#### *EVD-related ventriculitis and EVD colonization*

According to criteria proposed by Lozier in 2002 [1], the diagnosis of EVD-related ventriculitis required (1) a positive culture of CSF, (2) a pathologic cytological and biochemical CSF analysis (leukocytosis, high levels of proteins and/or low levels of glucose) and (3) suggestive signs and symptoms, without another apparent cause (fever, neck stiffness, photophobia, altered mental status or seizures). The finding of a positive CSF culture without other clinical or cytochemical data of infection, and not followed by EVD-related ventriculitis development, was considered as colonization of the EVD [1].

### Study of inflammatory markers

Blood samples were centrifuged (1,500 rpm, 10 minutes) and serum was frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$ . PCT was measured by TRACE (Time-Resolved Amplified Cryptate Emission) technology in a Kryptor analyzer (Brahms Diagnostica, Berlin, Germany). Measurement of CRP was performed with an immunoturbidimetric method using a commercial kit (Tina-quant CRP, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

CSF samples were centrifuged (1,500 rpm, 10 minutes) to remove formed elements, and the supernatant was frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$  until required for analysis. Levels of sTREM-1 were determined by immunoassay with a combination monoclonal/polyclonal antibody of the immunoglobulin G1 (IgG1) type raised against TREM-1 (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA).

### Statistical analysis

Patients were classified in three groups: 1) EVD-related ventriculitis; 2) EVD-colonization; and 3) controls (without microbiological findings in CSF and without clinical suspicion of EVD-related infection or colonization). Categorical variables were compared using the Chi square and the Fisher's exact tests when appropriate. Comparison of numerical and categorical variables was performed with the Student's *t* or the Mann-Whitney *U* tests when the second was dichotomic; analysis of variance (ANOVA) or the Kruskal-Wallis *H* test were carried out for variables with more than two categories. The statistical significance was set at 0.05 (95% confidence interval). Biomarkers were assessed (sensitivity and specificity) for their ability to diagnose EVD-related ventriculitis and EVD colonization. Data from the day coinciding with the median of EVD-days until the diagnosis of EVD-related ventriculitis were analyzed in the case of controls. Receiver operating characteristic (ROC) curves were made to determine the optimal cut-off values to diagnose EVD-related ventriculitis and to evaluate the general discriminative capacity of these indices. Results are expressed as medians with interquartile (25% to 75%) ranges (IQR) in parenthesis, unless otherwise stated.

As a result of the potential bias derived from the association between EVD-related infection risk and time of EVD duration, we also performed a case-control study with ventriculitis patients (cases) and non-ventriculitis (and also non-colonized) patients (control subjects) matched by age, comorbidities, severity scales and EVD duration to adjust ventriculitis and non-ventriculitis patients for these parameters.

All recorded data were analyzed using the statistical program SPSS 17.0.

## Results

### Description of the population

Seventy-three patients who required the insertion of an EVD were admitted to our ICU and all of them were

included in the study. The main reasons for ICU admission were subarachnoid hemorrhage (42.5%) or intracranial hemorrhage (46.6%). A secondary intraventricular hemorrhage was present in 92% of cases. The mean score on the APACHE II scale on the day of admission to the ICU was  $20.3 \pm 6.8$ . EVD-related ventriculitis was diagnosed in six patients (8.2%) and EVD-colonization was detected in ten patients (13.7%). The median of EVD-days until infection or colonization was 11 days (IQR: 8 to 15.5) and 9 days (IQR: 6.75 to 9.25), respectively. Basal characteristics of the study population are described in Table 1.

Median CSF sTREM-1 initial value was 279.3 pg/ml (IQR: 143.6 to 843.8), without statistically significant differences among patients who finally developed EVD-ventriculitis, colonization or controls: 284 pg/ml (IQR: 165 to 930), 194.4 pg/ml (159.8 to 322.4) and 288.6 (IQR: 127.9 to 907.4), respectively;  $P = 0.554$ .

The main characteristics of EVD-related ventriculitis cases are depicted in Table 2. The EVD was replaced in all cases. All patients received parenteral antibiotic therapy and four of them also received intrathecal treatment with amikacin or colistin as adjuvant therapy.

### Microbiological findings

Most cases of EVD-related ventriculitis were due to Gram-negative bacteria (*A. baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *P. eruginosa* or *Enterobacter cloacae*) and only one case due to *S. epidermidis*. Two of these cases were preceded by colonization of the EVD by the same microorganism (Table 2).

EVD-colonization not followed by EVD-ventriculitis was diagnosed in 10 patients, mainly due to coagulase-negative *Staphylococci* (60%) and the rest of the cases due to *Corynebacterium jeikeium*, *A. baumannii*, *Escherichia coli* and *Alternaria alternata*.

### EVD-related ventriculitis diagnosis

Values of the different biomarkers used in the diagnosis of EVD-related ventriculitis are shown in Tables 2 and 3.

In patients with ventriculitis, median serum PCT at diagnosis was 0.32 ng/ml (IQR: 0.18 to 0.64) versus 0.16 ng/ml (IQR: 0.1 to 0.36) for the rest of the patients;  $P = 0.195$  and the median serum CRP was 122.5 mg/dl (IQR: 54.7 to 227) versus 65 mg/dl (IQR: 23 to 150.2);  $P = 0.344$ .

In infected patients, the median of glucose in CSF was 8 mg/dl (IQR: 1 to 19.5) versus 76 mg/dl (IQR: 61 to 88) in non-infected patients;  $P < 0.001$ . The median ratio CSF/serum glucose was 0.083 (0.008 to 0.11) versus 0.627 (0.466 to 0.708);  $P < 0.001$ . There was no difference in the classical cut-off point established for the diagnosis of bacterial meningitis (ratio CSF/serum glucose  $< 0.6$ ) ( $P = 0.057$ ) and the best cut-off point in our sample was 0.21 (sensitivity and specificity 100%). When measured

**Table 1 Patient's characteristics at Intensive Care Unit admission**

Variable	All cases (number = 73)	Ventriculitis (number = 6)	Colonization only (number = 10)	Controls (number = 57)	P
Age	61 ± 12.2	59.3 ± 14.4	65 ± 11.5	60.46 ± 12.15	0.873
Male sex	37 (50.7)	2 (33.3)	5 (50)	30 (52.6)	0.667
Comorbidities					
Hypertension	42 (57.5)	4 (66.7)	6 (60)	32 (56.1)	0.872
Diabetes mellitus	6 (8.2)	0 (0)	1 (10)	5 (8.8)	0.740
Dyslipidemia	25 (34.2)	3 (50)	3 (30)	19 (33.3)	0.683
Smoking	15 (20.5)	2 (33.3)	0 (0)	13 (22.8)	0.186
CIC	9 (12.3)	0 (0)	0 (0)	9 (15.8)	0.237
Previous CVA	13 (17.8)	2 (33.3)	2 (20)	9 (15.8)	0.554
CRl	2 (2.7)	0 (0)	0 (0)	2 (3.5)	0.749
Hepatopathy	2 (2.7)	0 (0)	0 (0)	2 (3.5)	0.749
Neoplasm	3 (4.1)	0 (0)	0 (0)	3 (5.3)	0.645
Immunodeficiency	2 (2.7)	1 (16.7)	0 (0)	1 (1.8)	0.088
APACHE II	20.3 ± 6.8	20.5 ± 6.7	19.3 ± 8.6	20.48 ± 6.58	0.675
Neurological pathology					0.051
SAH	31 (42.5)	3 (50)	5 (50)	23 (40.4)	
ICH	34 (46.6)	3 (50)	2 (20)	29 (50.9)	
Primary IVH	5 (6.8)	0 (0)	1 (10)	4 (7)	
Acute ischemic stroke	2 (2.7)	0 (0)	2 (20)	0 (0)	
Neoplasm	1 (1.4)	0 (0)	0 (0)	1 (1.8)	
Secondary IVH	67 (92)	6 (100)	7 (70)	54 (94.7)	0.024
Type of EVD					0.022
Standard (PVC)	37 (50.7)	3 (50)	6 (60)	28 (49.1)	
Antimicrobial impregnated	31 (42.5)	2 (33.3)	3 (30)	26 (45.6)	
Silver-impregnated	1 (1.4)	1 (16.7)	0 (0)	0 (0)	
Unknown	4 (5.5)	0 (0)	1 (10)	3 (5.3)	
Prophylactic antibiotic therapy	48 (66)	5 (83)	9 (90)	34 (60)	0.112
EVD duration (days)	9.6 ± 5.3	14.8 ± 3.8	11.3 ± 4.9	8.8 ± 5.12	0.019
Other nosocomial infections					0.193
Tracheitis	8 (11)	1 (16.7)	1 (10)	6 (10.5)	
VAP	16 (22)	3 (50)	5 (50)	8 (14)	
CRB	2 (2.7)	0 (0)	0 (0)	2 (3.5)	
UTI	2 (2.7)	0 (0)	1 (10)	1 (1.8)	
ICU mortality	27 (37)	4 (66.7)	1 (10)	22 (38.6)	0.065
30-day mortality	32 (43.8)	4 (66.7)	5 (50)	23 (38.6)	0.426

Data expressed as mean ± standard deviation or number (%), unless otherwise specified. APACHE II, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II; CIC, chronic ischemic cardiomyopathy; CRB, catheter related bacteremia; CRl, chronic renal insufficiency; CVA, cerebrovascular accident; EVD, external ventricular drainage; ICH, intracerebral hemorrhage; IVH, intraventricular hemorrhage; ICU, intensive care unit; PVC, polyvinyl chloride; SAH, subarachnoid hemorrhage; UTI, urinary tract infection; VAP, ventilator-associated pneumonia.

three days before the diagnosis, the ratio CSF/serum glucose did not show differences (median ratio 0.549 (IQR: 0.41 to 0.723) versus 0.59 (IQR: 0.466 to 0.708);  $P = 0.533$ ). The median of proteins in CSF was 500 mg/dl in patients with EVD-related ventriculitis (IQR: 341 to 658.5) versus 70.5 in the rest of the patients (IQR: 25.5 to

145.25);  $P = 0.001$ . The classical cut-off point for bacterial meningitis (CSF proteins >50 mg/dl) did not show differences ( $P = 0.074$ ) between the groups and the best cut-off point in our sample was 267.6 mg/dl (100% sensitivity and 99.87% specificity). There were no differences three days before the diagnosis (median 62 mg/dl (IQR: 43.75

**Table 2 External ventricular drainage-related ventriculitis cases**

Case	Etiology	Preceded by colonization	GCS	Serum leucocytes (mm <sup>3</sup> )	Serum PCT (ng/ml)	CSF neutrophils (mm <sup>3</sup> )	CSF glucose (mg/dl)	CSF proteins (mg/dl)	CSF sTREM-1 (pg/ml)	ICU-mortality
1	<i>A. Baumannii</i>	No	4	20,700	0.2	1,200	8	500	5,532	No
2	<i>K. pneumoniae</i>	No	3	17,800	0.24	*	*	*	4,670	Yes
3	<i>S. epidermidis</i>	No	7	8,100	0.1	6,500	11	552	2,513	Yes
4	<i>S. marcescens</i>	Yes	10	7,600	0.41	1,200	0	765	4,584	Yes
5	<i>P. aeruginosa</i>	No	6	15,200	0.16	215	2	277	3,146	Yes
6	<i>E. cloacae</i>	Yes	7	15,100	0.72	4,076	28	405	4,056	No

\*Data of CSF biochemistry corresponding to patient 2 could not be obtained because of low values of intracranial pressure. CSF, cerebrospinal fluid; GCS, Glasgow Coma Scale; ICU, intensive care unit; PCT, procalcitonin; sTREM-1, soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1.

to 104.25) versus 68 mg/dl (IQR: 44 to 128.9);  $P = 0.688$ ). In most cases, CSF was intensely bloody and a cell-index could not be calculated.

The median CSF sTREM-1 at the moment of ventriculitis diagnosis was 4,320 pg/ml (IQR: 2,987 to 4,886) versus 266 pg/ml (IQR: 118 to 689) in the rest of the cases;  $P < 0.001$ . Patients with intraventricular hemorrhage were analyzed separately and the results were similar: median CSF sTREM-1 4,320 pg/ml (IQR: 2,987 to 4,886) in patients with EVD-related ventriculitis and intraventricular hemorrhage (100%), 307.58 pg/ml (IQR: 144.7 to 644.4) in patients with EV-colonization and intraventricular hemorrhage (70%) and 277.19 pg/ml (IQR: 118 to 720.5) in controls with intraventricular hemorrhage (94.7%);  $P < 0.001$ . There were no differences between cases due to gram-positive versus gram-negative bacteria (2,513.8 pg/ml versus 4,584.4 pg/ml (IQR: 3,601 to 5,101.4);  $P = 0.143$ ). Figure 1 shows the results for the three different groups (EVD-related ventriculitis, EVD-colonization and controls). The best cut-off point of sTREM-1 in CSF for the diagnosis of EVD-related infection was 2,388.79 pg/mL (sensitivity 100%, specificity 98.5%, positive predictive value

(PPV) 85.71%, negative predictive value (NPV) 100% and area under the curve (AUC) 0.995) (Table 4 and Figure 2).

Three days before the diagnosis, the median of sTREM-1 in CSF was 486.2 pg/ml (IQR: 202 to 532.6) in infected patients versus 292.9 pg/ml (IQR: 126 to 603) in the rest of the cases ( $P = 0.423$ ). Cases of EVD-related ventriculitis preceded by colonization did not show a trend in the value of sTREM-1 in CSF (167 pg/ml (IQR: 136 to 197) versus 486 pg/ml (IQR: 339 to 518) in ventriculitis not preceded by colonization;  $P = 0.064$ ).

Values of CSF sTREM-1 and other biomarkers were similar between patients with EVD-colonization and controls (Table 3). Data related to serum PCT and leukocytes or CSF sTREM-1, leukocytes, glucose and proteins were analyzed by means of the Mann Whitney  $U$  test and no differences were found ( $P = 0.932$ ,  $P = 0.550$ ,  $P = 0.459$ ,  $P = 0.317$ ,  $P = 0.747$  and  $P = 0.176$ , respectively).

#### Case-control study

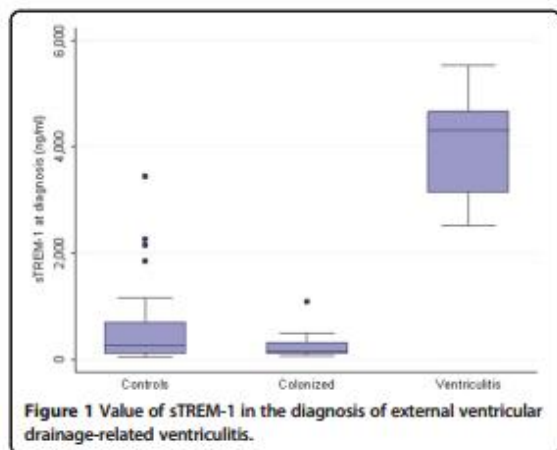
The case-control study confirmed the results. The six cases of EVD-related ventriculitis and the ten cases of

**Table 3 Comparison between different markers in the diagnosis of external ventricular drainage-related ventriculitis**

Variable	Ventriculitis (number = 6)	Colonization only (number = 10)	Controls (number = 57)	$P$
Temperature (°C)	38 (37.35 to 39)	37.8 (37.2 to 38)	37 (36.8 to 38)	0.053
Serum leucocytes (mm <sup>3</sup> )	15,150 (7,975 to 18,525)	13,900 (10,350 to 14,600)	11,500 (10,000 to 15,650)	0.741
Serum PCT (ng/ml)	0.32 (0.18 to 0.64)	0.17 (0.1 to 0.34)	0.16 (0.10 to 0.37)	0.407
Serum CRP (mg/dl)	122.5 (54.7 to 227)	258 (97 to 294)	52 (22 to 102)	0.018
CSF leucocytes (mm <sup>3</sup> )	4,480 (2,988 to 4,886)	13.5 (3 to 643)	89 (8.5 to 629.5)	0.007
CSF neutrophils (mm <sup>3</sup> )	1,200 (707 to 5,288)	16.5 (0 to 993)	102.6 (12 to 610)	0.023
CSF proteins (mg/dl)	500 (341 to 658.5)	23 (19 to 88)	71 (39 to 154)	0.004
CSF glucose (mg/dl)	8 (1 to 19.5)	72.5 (59 to 107.5)	76 (61 to 88)	0.001
Ratio CSF/serum glucose	0.083 (0.008 to 0.11)	0.62 (0.57 to 0.67)	0.63 (0.47 to 0.75)	0.001
CSF sTREM-1 (pg/ml)	4,320 (2,987 to 4,886)	162.37 (105 to 406.8)	268 (117.7 to 724)	<0.001

Data expressed as median (interquartile range). CRP, C-reactive protein; CSF, cerebrospinal fluid; PCT, procalcitonin; sTREM-1, soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1.





EVD-colonization were successfully matched by clinical data, severity scales and time of EVD duration with six and ten controls, respectively. The median value of sTREM-1 in CSF was significantly higher in EVD-related ventriculitis cases (4,320.2 pg/ml (IQR: 2,987.9 to 4,886) versus 745.75 pg/ml (IQR: 261.25 to 997.9);  $P = 0.004$ ). There were no differences in the CSF sTREM-1 value when comparing EVD-colonization and controls (231.24 pg/ml (IQR: 98.4 to 452.7) versus 372.67 pg/ml (IQR: 165.83 to 752.7);  $P = 0.336$ ).

#### Prognostic value of sTREM-1

The global mortality rate due to the neurological pathology was 37% and increased to 43.8% 30 days after ICU discharge. Initial values of sTREM-1 in CSF were higher in patients who later died (670 pg/ml (IQR: 242.7 to 1229.5) versus 202 pg/ml (IQR: 113 to 562.6);  $P = 0.001$ ).

Four of the six EVD-related ventriculitis patients eventually died; there were no statistically significant

differences in the CSF sTREM-1 value (median of sTREM-1 at the moment of diagnosis in non-survivors versus survivors 3,728 pg/ml versus 4,794 pg/ml;  $P = 0.355$ ).

#### Discussion

Our findings show the usefulness of CSF sTREM-1 in the diagnosis of EVD-related ventriculitis and its capacity to discriminate between EVD-colonization and infection, in a similar measure to the classical CSF parameters. Surveillance CSF cultures were useful to detect bacterial colonization preceding the infection in one third of the cases, but sTREM-1 levels did not predict the development of EVD-related ventriculitis in any patient. In addition, higher values of sTREM-1 were related to the overall survival rate but did not show efficacy as a marker of the infection, probably because of the sample size.

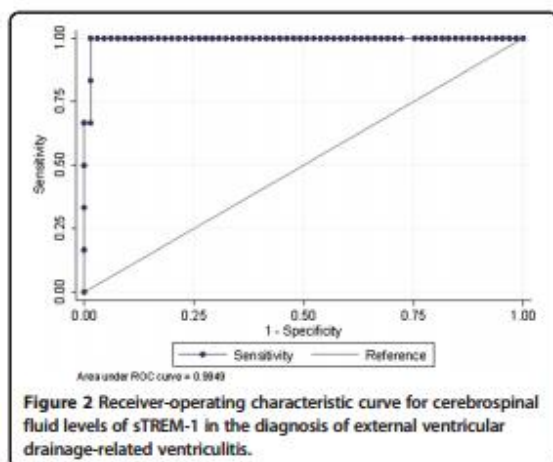
There is scarce information about sTREM-1 behavior in CSF. sTREM-1 values in our series were much higher than those detected in previous studies. Determann *et al.* [16] found a median of sTREM-1 in CSF of 82 pg/ml (range: 0 to 988) in patients with bacterial meningitis versus 0 pg/ml (range: 0 to 36) in controls. Bishara *et al.* [17] obtained higher values (median 128 pg/ml, range: 0 to 484 pg/ml) in patients with bacterial meningitis. As proposed by Schade *et al.* [6], our higher values of sTREM-1 could be the result of the inflammatory reaction secondary to the presence of an intraventricular hemorrhage and the consequent blood degradation process, which was named 'aseptic meningitis'. In fact, 92% of our patients presented with an intraventricular hemorrhage at the moment of ICU admission.

According to previous studies, CSF pleocytosis and other commonly analyzed CSF parameters, such as glucose or proteins, were not reliable as markers of infection [6,7]. However, in our study the determination of proteins and glucose in CSF and the ratio CSF/serum

**Table 4 Sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of diagnostic tests in the diagnosis of external ventricular drainage-related ventriculitis**

Variable	AUC	Optimum cut-off point	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)	LR +	LR-
Temperature (°C)	0.699	37.7	83.3	65.7	17.86	97.78	2.43	0.25
Serum PCT (ng/ml)	0.7	0.165	75	52	10.71	96.43	1.56	0.48
Serum CRP (mg/dl)	0.674	59	66.7	44.4	7.41	95.24	1.20	0.75
Serum leucocytes (mm <sup>3</sup> )	0.580	15,000	66.7	74.2	19.05	96.08	2.49	0.45
CSF leucocytes (mm <sup>3</sup> )	0.904	1,320	80	83.9	30.77	97.72	4.98	0.24
CSF neutrophils (mm <sup>3</sup> )	0.864	1,041	80	83	33.33	97.50	4.70	0.24
CSF glucose (mg/dl)	0.996	28.5	100	98.2	83.33	100	55	-
CSF proteins (mg/dl)	0.918	267.6	100	87.5	41.67	100	8	-
CSF sTREM-1 (pg/ml)	0.995	2,388.79	100	98.5	85.71	100	66	-

AUC, area under curve; CRP, C-reactive protein; CSF, cerebrospinal fluid; LR +, positive likelihood ratio; LR-, negative likelihood ratio; NPV, negative predictive value; PCT, procalcitonin; PPV, positive predictive value; sTREM-1, soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1.



glucose showed statistically significant differences among those patients with EVD-related infection. Interestingly, the diagnostic cut-off points for CSF parameters were clearly different from those classically established for bacterial meningitis.

Most authors define EVD-related ventriculitis based only on the presence of a positive bacterial CSF culture (4, 5, 7). If patients in our series had been classified according to this criteria, CSF sTREM-1 values would have failed to distinguish between patients with or without positive CSF cultures: 498.6 pg/ml (IQR: 118.4 to 4,056) versus 266 pg/ml (IQR: 117 to 707), respectively;  $P = 0.074$ . These findings suggest a different inflammatory pattern in EVD-related ventriculitis and EVD-colonization and reinforce the need to use a combination of criteria to improve the diagnosis of infection and reduce the number of false positives.

Previous studies have shown conflicting results on the ability of serum biomarkers to identify EVD-related ventriculitis. Berger *et al.* [4] found significantly higher values of serum procalcitonin in patients with ventriculitis (4.7 versus 0.2 ng/mL). On the other hand, Martinez *et al.* [5] obtained poor results (77% specificity and 68% sensitivity) for a cut-off value of  $\geq 1$  ng/ml in patients with ventriculitis. Like these authors, in our series systemic inflammatory biomarkers were unable to diagnose the infection. The lack of accuracy of serum biomarkers in the diagnosis of localized infections has been shown [19]. Luzzani *et al.* studied 800 critically ill patients and showed a clear contrast in serum procalcitonin between localized infections (1.3  $\mu\text{g/L}$  (0.6 to 2)) and those infections with systemic involvement (3.1  $\mu\text{g/L}$  (1.4 to 5.2)) (sepsis, severe sepsis or septic shock).

The significance of sTREM-1 in CSF as a prognostic marker for central nervous system infection is under discussion. Determann *et al.* [16] found higher values

in non-survivors (151 versus 73 pg/ml,  $P = 0.02$ ) while Bishara *et al.* [17] found higher values among patients who survived (129 versus 35 pg/ml,  $P = 0.219$ ). In our sample, we found an association between higher initial values of sTREM-1 and the overall survival rate; but not in the subgroup of patients with EVD-related ventriculitis.

Our study has several limitations. First, the low incidence of EVD-related ventriculitis in our study precludes drawing outright conclusions. Nevertheless, this low incidence is related to the strict EVD-associated ventriculitis diagnostic criteria that we chose. According to the criteria of the Centers for Disease Control and Prevention (18), the diagnosis of ventriculitis can be based only on a positive CSF culture. However, we have used the criteria proposed in 2002 by Lozier *et al.* [1] (including clinical and biochemical CSF data) to reduce the possibility of false positives and improve the accuracy of the diagnosis of ventriculitis. The small sample size could also affect the validity of our case-control study, but results are consistent with the rest of the statistical analysis. In contrast with previous series, we found a predominance of EVD-related ventriculitis due to gram-negative microorganisms. Our data suggest that results could be extrapolated to gram-positive cocci EVD-related ventriculitis, but further studies are needed. Serum sTREM-1 levels were not measured; however, most studies have failed to demonstrate a systemic inflammatory response to EVD-related ventriculitis [2,4].

## Conclusions

In conclusion, CSF sTREM-1 measurement has shown excellent results as a diagnostic tool for EVD-related ventriculitis but in a similar measure to the classical CSF parameters. However, CSF sTREM-1 could reinforce or even prove the diagnosis in uncertain cases. Furthermore, CSF sTREM-1 could be of great interest in validating the diagnosis of colonization versus infection. Finally, CSF sTREM-1 seems to identify those patients with severe brain injury with a worst prognosis.

## Key messages

- The best way to make an appropriate diagnosis of ventriculitis is uncertain.
- We used a combination of microbiological, cytochemical and clinical criteria.
- Classical CSF parameters were useful to guide the diagnosis of ventriculitis.
- sTREM-1 has an excellent diagnostic accuracy in the detection of ventriculitis.
- Ventriculitis and colonization showed differences in CSF inflammatory patterns.

#### Abbreviations

APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II; AUC: area under the curve; CIC: chronic ischemic cardiomyopathy; CRB: catheter related bacteremia; CRI: chronic renal insufficiency; CRP: C-reactive protein; CSF: cerebrospinal fluid; CVA: cerebrovascular accident; EVD: external ventricular drainage; GCS: Glasgow Coma Scale; ICH: intracerebral hemorrhage; ICU: intensive care unit; IgG1: immunoglobulin G 1; IQR: interquartile range; IVH: intraventricular hemorrhage; LR+: positive likelihood ratio; LR-: negative likelihood ratio; NPV: negative predictive value; PCT: procalcitonin; PPV: positive predictive value; PVC: polyvinyl chloride; ROC: receiver operating characteristic; SAH: subarachnoid hemorrhage; sTREM-1: soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1; TNF $\alpha$ : tumor necrosis factor; TRACE: Time-Resolved Amplified Cryptate Emission; UTI: urinary tract infection; VAP: ventilator-associated pneumonia.

#### Competing interests

Vitro S. A. provided some of the reagents used to measure the soluble triggering receptor expressed on myeloid cells (sTREM-1) in cerebrospinal fluid (CSF). The authors declare that they have no competing interests.

#### Authors' contributions

MG and PR designed the study and coordinated it. MG, PR and AS analyzed data and drafted the manuscript. MG, PR, MP, CL and EV participated in the screening, selection and surveillance of patients. SM participated in the extraction of samples and coordinated the nursing staff. MDG determined sTREM-1 values in CSF. CF and JB helped to draft the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

#### Acknowledgments

The writers are indebted to the nursing staff of the Intensive Care Unit of Hospital Universitario y Politécnico la Fe for their help in collecting samples from patients.

#### Author details

<sup>1</sup>Department of Intensive Care Medicine, Hospital Universitario y Politécnico la Fe, Avda de Fernando Abril Martorell, n.106, 46026 Valencia, Spain. <sup>2</sup>Centro de Investigación Biomedica En Red-Enfermedades Respiratorias (CIBERES, CB06/06/0028), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain. <sup>3</sup>Infectious Medicine, Hospital Clinic, Barcelona, Spain. <sup>4</sup>Department of Microbiology, Hospital Universitario y Politécnico la Fe, Valencia, Spain.

Received: 5 May 2014 Accepted: 2 October 2014  
Published online: 20 October 2014

#### References

- Lozier AP, Sciaccia RR, Romagnoli MF, Connolly ES Jr: Ventriculostomy-related infections: a critical review of the literature. *Neurosurgery* 2002, **51**:170-181. discussion 181-2.
- Beer R, Lackner P, Pfäusler B, Schmutzhard E: Nosocomial ventriculitis and meningitis in neurocritical care patients. *J Neurol* 2008, **255**:1617-1624.
- Muttaiyah S, Ritchie S, Upton A, Roberts S: Clinical parameters do not predict infection in patients with external ventricular drains: a retrospective observational study of daily cerebrospinal fluid analysis. *J Med Microbiol* 2008, **57**:207-209.
- Berger C, Schwarz S, Schaebitz WR, Aschoff A, Schwab S: Serum procalcitonin in cerebral ventriculitis. *Crit Care Med* 2002, **30**:1778-1781.
- Martinez R, Gaul C, Buchfelder M, Erguth F, Tschakowsky K: Serum procalcitonin monitoring for differential diagnosis of ventriculitis in adult intensive care patients. *Intensive Care Med* 2002, **28**:208-210.
- Schade RP, Schinkel J, Roelandse FW, Geskus RB, Visser LG, van Dijk JM, Voormolen JH, Van Pelt H, Kuijper EJ: Lack of value of routine analysis of cerebrospinal fluid for prediction and diagnosis of external drainage-related bacterial meningitis. *J Neurosurg* 2006, **104**:101-108.
- Pflisterer W, Mühlbauer M, Czech T, Reinprecht A: Early diagnosis of external ventricular drainage infection: results of a prospective study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003, **74**:929-932.
- Pfäusler B, Beer R, Engelhardt K, Kemmler G, Mohsenipour I, Schmutzhard E: Cell index—a new parameter for the early diagnosis of ventriculostomy (external ventricular drainage)-related ventriculitis in patients with intraventricular hemorrhage? *Acta Neurochir (Wien)* 2004, **146**:477-481.

- Boeer K, Vogelsang H, Deufel T, Pfister W, Kiehntopf M: Immediate diagnosis of ventriculitis: evaluation of parameters independent of microbiological culture. *Acta Neurochir (Wien)* 2011, **153**:1797-1805.
- Bouchon A, Facchetti F, Weigand MA, Colonna M: TREM-1 amplifies inflammation and is a crucial mediator of septic shock. *Nature* 2001, **410**:1103-1107.
- Gibot S, Kolopp-Sarda MN, Béné MC, Bollaert PE, Lozniewski A, Mory F, Levy B, Faure GC: A soluble form of the triggering receptor expressed on myeloid cells-1 modulates the inflammatory response in murine sepsis. *J Exp Med* 2004, **200**:1419-1426.
- Gibot S: Clinical review: role of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 during sepsis. *Crit Care* 2005, **9**:485-489.
- Gibot S, Kolopp-Sarda MN, Béné MC, Cravoisy A, Levy B, Faure GC, Bollaert PE: Plasma level of a triggering receptor expressed on myeloid cells-1: its diagnostic accuracy in patients with suspected sepsis. *Ann Intern Med* 2004, **141**:9-15.
- Gibot S, Cravoisy A, Levy B, Bene MC, Faure G, Bollaert PE: Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells and the diagnosis of pneumonia. *N Engl J Med* 2004, **350**:451-458.
- Determann RM, Millo JL, Gibot S, Korevaar JC, Vroom MB, van der Poll T, Garrard CS, Schultz MJ: Serial changes in soluble triggering receptor expressed on myeloid cells in the lung during development of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med* 2005, **31**:1495-1500.
- Determann RM, Weisfelt M, de Gans J, van der Ende A, Schultz MJ, van de Beek D: Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1: a biomarker for bacterial meningitis. *Intensive Care Med* 2006, **32**:1243-1247.
- Bishara J, Hadari N, Shalita-Chesner M, Samra Z, Ofir O, Paul M, Peled N, Pitlik S, Molad Y: Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 for distinguishing bacterial from aseptic meningitis in adults. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007, **26**:647-650.
- Horan TC, Andrus M, Dudeck MA: CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control* 2008, **36**:309-332.
- Luzzani A, Polati E, Dorizzi R, Rungtatscher A, Pavan R, Merlini A: Comparison of procalcitonin and C-reactive protein as markers of sepsis. *Crit Care Med* 2003, **31**:1737-1741.

doi:10.1186/s13054-014-0567-0

Cite this article as: Gordon et al: Diagnosing external ventricular drain-related ventriculitis by means of local inflammatory response: soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1. *Critical Care* 2014 **18**:567.



DISCUSIÓN



Los resultados de la presente tesis ayudan a esclarecer tres puntos clave en la fisiopatogenia, prevención y diagnóstico de la ventriculitis asociada a DVE. Por un lado, se describe la presencia de biopelícula bacteriana en un elevado número de DVEs, fenómeno que podría estar en relación con la colonización e infección del catéter. Por otro lado, se describe por primera vez el efecto *in vivo* de los catéteres impregnados en antibiótico durante los primeros 7 días de permanencia del DVE. Por último, se demuestran las diferencias a nivel inflamatorio (sTREM-1) entre la colonización e infección del DVE y se pone en evidencia la necesidad de establecer un diagnóstico más preciso de la ventriculitis asociada a DVE. Adicionalmente, parámetros clásicos medidos en LCR como la glucorraquia y proteinorraquia resultan de utilidad diagnóstica en la serie de casos que se presenta en esta tesis doctoral. La toma de muestras de LCR dos o tres veces por semana en condiciones de estricta asepsia no provocó un aumento en la incidencia de ventriculitis con respecto al resto de series publicadas.

El primer trabajo de la presente tesis doctoral muestra la prevalencia de la formación de biopelícula bacteriana sobre la superficie de los DVE. Aunque sin significación estadística, la presencia de biopelícula sobre la superficie del DVE fue mayor en los catéteres relacionados con un episodio infeccioso o de colonización o en aquellos de más de 7 días de permanencia. Estos resultados confirman que el modelo patogénico de la infección asociada a biopelícula puede extrapolarse a la ventriculitis asociada a DVE [4 – 14] y podrían tener importantes repercusiones en el diseño de estrategias de prevención.

La importancia de la formación de biopelícula bacteriana sobre un dispositivo invasivo como el DVE lleva a plantear la utilidad de catéteres impregnados en antibióticos u otras sustancias que eviten o retrasen la adhesión bacteriana a su superficie. Diferentes trabajos y metaanálisis han demostrado la utilidad de los dispositivos impregnados en antibiótico en la prevención de infecciones nosocomiales como la bacteriemia asociada a catéter [42 – 44] o la ventriculitis asociada a DVE [12 – 14, 35, 40] y muchos autores recomiendan su utilización en centros con tasas de infección superiores a las habitualmente descritas. En este sentido, en el primer trabajo se evalúa el efecto *in vivo* de los DVE impregnados en antibiótico (clindamicina y

rifampicina). En una serie de 14 catéteres convencionales de silicona vs. 18 catéteres impregnados, la presencia de biopelícula fue superior entre los catéteres convencionales, fundamentalmente en los primeros 7 días de permanencia. Los episodios de ventriculitis fueron más frecuentes en los pacientes con DVE de más de 7 días de permanencia. Debido a una epidemia de *A. baumannii* durante el periodo del estudio, todos los episodios fueron causados por este microorganismo, sin diferencias en el tipo de catéter de DVE utilizado (impregnado o convencional).

Estos hallazgos pueden tener diferentes explicaciones. Por un lado, estudios previos habían demostrado una reducción en la liberación de antibiótico a partir del 7º día de uso del dispositivo impregnado [45], así como una reducción en la zona de inhibición antibacteriana [46]. Por otro lado, las infecciones asociadas a la presencia de dispositivos invasivos tradicionalmente han sido debidas a cocos grampositivos, comensales cutáneos que alcanzan y colonizan el dispositivo invasivo desde el momento de su inserción. Varios trabajos han demostrado que la importancia de estos microorganismos como agentes etiológicos es máxima en los primeros 7 días de permanencia del dispositivo [6 – 7] y, por este motivo, los catéteres impregnados en minociclina y rifampicina podrían tener su máximo efecto antibiofilm en este periodo. A partir de los 7 días, la formación de la biopelícula bacteriana se relaciona con gérmenes que provienen de la manipulación del catéter y sus conexiones [7 – 8]. Por este motivo, la creciente prevalencia en general de bacterias gramnegativas multirresistentes en las UCIs [41] y la epidemia concreta por *A. baumannii* en el periodo del estudio podrían haber condicionado la eficacia de los DVE impregnados en nuestro trabajo. Algunos autores han intentado recientemente la utilización de biomateriales impregnados en antibióticos activos frente a este tipo de bacterias, como la colistina [47]. El riesgo de adquisición de nuevas resistencias bacterianas, así como la posible toxicidad y la pérdida de la cobertura frente a gérmenes grampositivos hacen necesarios el diseño de estudios concretos con DVE impregnados en antibióticos no convencionales y la adopción de estrategias individualizadas en función de la epidemiología local.

En el primer trabajo de la presente tesis doctoral, la presencia de biopelícula fue superior en los DVE de más de 7 días de permanencia. Tanto en el primer como en el segundo trabajo, se detectaron además mayores tasas de infección y colonización a partir del 7º día de DVE. Estos hallazgos son congruentes con la literatura científica actual [1, 15] y constituyen la base de la recomendación de algunos autores sobre el recambio profiláctico del DVE a partir del 7º - 10º día de permanencia. No obstante,

ensayos clínicos aleatorizados no han demostrado ninguna utilidad en la aplicación de esta controvertida medida [38]. Al igual que los resultados obtenidos por Korinek et al [15], en ninguno de nuestros dos trabajos empleamos el recambio profiláctico del DVE como estrategia preventiva y en ningún caso detectamos tasas de ventriculitis superiores a otras series de casos. Por otro lado, autores como Lo et al [16] sí han demostrado un aumento del riesgo de ventriculitis en los pacientes que precisan la colocación de varios DVE a lo largo de su estancia en UCI. Así pues, la falta de evidencia científica sobre su utilidad y las posibles complicaciones que pueden derivar del procedimiento desaconsejarían el recambio profiláctico del DVE basado únicamente en criterios temporales.

En los últimos años se han publicado numerosos trabajos que basan la prevención de la ventriculitis asociada a DVE en diferentes recomendaciones agrupadas en los llamados “paquetes de medidas” [15, 34 – 35, 37]. Una recomendación muy común incluida en estos paquetes de medidas es limitar la manipulación y pérdida de la estanqueidad del sistema de DVE mediante la reducción de la toma de muestras de LCR al mínimo imprescindible, en casos con sospecha clínica de infección. No obstante, autores como Bogdahn et al [48] no encontraron asociación entre el número de manipulaciones del sistema y el desarrollo de infecciones asociadas. En los dos trabajos que constituyen la presente tesis doctoral, realizamos toma de muestras de LCR de dos a tres veces por semana, sin detectar en ningún caso un aumento en la incidencia de ventriculitis con respecto a otras series.

Todos los paquetes de medidas incluyen entre sus recomendaciones la elaboración de protocolos de higiene y asepsia en el momento de manipulación del DVE, medidas que por sí solas han logrado reducir las tasas de otras infecciones nosocomiales como la bacteriemia asociada a catéter [36]. Cabe plantear por tanto el peso de cada una de las recomendaciones de los paquetes de medidas de la literatura científica actual [15, 34 – 35, 37] y valorar su utilidad. Como muestran nuestros resultados, es muy probable que la toma periódica de muestras de LCR a través del sistema de DVE no sea un problema si se realiza siguiendo unos estrictos protocolos de higiene y asepsia. Por otro lado, dadas las dificultades que el diagnóstico clínico de ventriculitis asociada a DVE plantea en los pacientes críticos, la restricción de la toma de muestras y análisis de LCR a los momentos de sospecha clínica de infección podría suponer que muchos episodios pasaran desapercibidos o se diagnosticaran de manera tardía.



La ventriculitis asociada a DVE es una patología con una elevada morbimortalidad asociada. Es fundamental lograr un diagnóstico precoz y certero que permita instaurar a tiempo el tratamiento apropiado, que normalmente consiste en la combinación de antibioterapia sistémica, posible asociación de antibioterapia intratecal y retirada o recambio del DVE. Numerosos trabajos han demostrado la ineficacia de los parámetros clínicos y sistémicos [17 – 18, 20] y, en este contexto, la determinación de biomarcadores en LCR parece la mejor opción. Mediante el segundo trabajo que constituye la presente tesis doctoral intentamos evaluar la eficacia de un marcador de inflamación local como el sTREM-1 medido en LCR en el diagnóstico de la ventriculitis asociada a DVE. Las cifras iniciales en el momento del evento hemorrágico y colocación del DVE resultaron muy elevadas, en relación con la inflamación secundaria debida a la presencia de sangre intraventricular [21]. En el momento de diagnóstico de ventriculitis asociada a DVE, la cifra de sTREM-1 medido en LCR resultó claramente superior a la del resto de pacientes. Parámetros bioquímicos como la cifra de glucosa y proteínas en LCR también resultaron buenos indicadores de infección, pero con puntos de corte diferentes a los valores habitualmente establecidos para la meningitis comunitaria, lo que parece condicionar los datos negativos de trabajos previos [17, 21 – 22]. Por tanto, el sTREM-1 podría tener utilidad en el diagnóstico complementario de la ventriculitis asociada a DVE.

Más interesante si cabe es el papel del sTREM-1 medido en LCR en el diagnóstico diferencial entre ventriculitis y colonización del DVE. Muchos autores emplean en sus trabajos los criterios diagnósticos de los CDC de Atlanta [25], que precisan únicamente de un cultivo positivo de LCR para el diagnóstico de ventriculitis asociada a DVE. Otros autores como Lozier et al [1] proponen utilizar una combinación de criterios para diferenciar los casos de contaminación en el momento de la toma de la muestra o colonización del DVE. Si en nuestro trabajo se hubieran empleado los criterios de los CDC de Atlanta, los valores de sTREM-1 no hubieran diferido entre casos y controles. No obstante, al utilizar la combinación de criterios propuesta por Lozier [1], las cifras de sTREM-1 muestran diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes que únicamente presentan un cultivo de LCR positivo (colonización del DVE), que se asemejan a la población normal, y los pacientes en los que el cultivo positivo se acompaña de alteraciones en los parámetros bioquímicos de LCR o de clínica sugestiva de infección (ventriculitis asociada a DVE).

Estos hallazgos permiten establecer colonización e infección del DVE como dos entidades claramente diferenciadas, en base a la reacción inflamatoria secundaria que provocan. Es más, del total de pacientes con diagnóstico de colonización del DVE de

nuestros dos trabajos (24 cultivos de LCR y 5 puntas de DVE con cultivo microbiológico positivo), únicamente 2 pacientes desarrollaron una complicación infecciosa secundaria. Estos resultados permiten por tanto individualizar el manejo de cada caso y plantear la estrategia terapéutica más apropiada para cada situación.



The image features a background of a microscopic view, likely of biological tissue, showing various cellular structures and fibers. A large, dark, semi-transparent rectangular overlay covers most of the image. In the lower right corner of this overlay, there is a white L-shaped graphic element. The word "CONCLUSIONES" is written in white, uppercase letters within the horizontal part of this L-shape.

**CONCLUSIONES**



Los resultados obtenidos mediante los dos trabajos que conforman la presente tesis doctoral permiten extraer las siguientes conclusiones:

- La formación de biopelícula bacteriana sobre la superficie de los DVE es un fenómeno muy frecuente.
- La formación de biopelícula parece relacionarse con la colonización e infección del DVE, fundamentalmente a partir del 7º día de permanencia.
- Los DVE impregnados en antibiótico se asocian a un retraso en la formación de biopelícula sobre la superficie del catéter, pero la existencia de un brote de infección por *A. baumannii* (resistente a los antibióticos incluidos en el catéter utilizado) no nos ha permitido evaluar su potencial utilidad profiláctica.
- La ausencia de recambio profiláctico del DVE y la toma periódica de muestras de LCR a través del catéter, en situación de higiene y asepsia, no se relacionaron con mayor incidencia de ventriculitis asociada a DVE en nuestra serie.
- La combinación de: 1) parámetros microbiológicos y 2) parámetros citobioquímicos en LCR o datos clínicos sugestivos de infección permite realizar un diagnóstico más preciso de ventriculitis asociada a DVE.
- La determinación de sTREM-1 en LCR ha demostrado una excelente capacidad diagnóstica en nuestra serie, bien como diagnóstico complementario junto con los parámetros citobioquímicos clásicos, bien como diagnóstico diferencial de infección vs. colonización.
- La ventriculitis asociada a DVE y la colonización del DVE han resultado ser en nuestro trabajo entidades clínicamente diferenciadas en base a su respuesta inflamatoria, lo que permite individualizar la estrategia terapéutica o preventiva en cada caso.





## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS





1. Lozier AP, Sciacca RR, Romagnoli MF, Connolly ES Jr. Ventriculostomy-related infections: a critical review of the literature. *Neurosurgery*. 2008 Feb;62 Suppl 2:688-700.
2. Beer R, Lackner P, Pfausler B, Schmutzhard E. Nosocomial ventriculitis and meningitis in neurocritical care patients. *J Neurol*. 2008 Nov; 255(11): 1617-24.
3. Braxton EE Jr, Ehrlich GD, Hall-Stoodley L, Stoodley P, Veeh R, Fux C, Hu FZ, Quigley M, Post JC. Role of biofilms in neurosurgical device-related infections. *Neurosurg Rev*. 2005 Oct;28(4):249-55.
4. Stevens NT, Greene CM, O'Gara JP, Humphreys H. Biofilm characteristics of *Staphylococcus epidermidis* isolates associated with device-related meningitis. *J Med Microbiol*. 2009 Jul;58(Pt 7):855-62.
5. Stoodley P, Braxton EE Jr, Nistico L, Hall-Stoodley L, Johnson S, Quigley M, Post JC, Ehrlich GD, Kathju S. Direct demonstration of *Staphylococcus* biofilm in an external ventricular drain in a patient with a history of recurrent ventriculoperitoneal shunt failure. *Pediatr Neurosurg*. 2010 Aug;46(2):127-32.
6. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. *Clin Microbiol Rev*. 2002 Apr;15(2):167-93.
7. Raad I, Costerton W, Sabharwal U, Sacilowski M, Anaissie E, Bodey GP. Ultrastructural analysis of indwelling vascular catheters: a quantitative relationship between luminal colonization and duration of placement. *J Infect Dis*. 1993 Aug;168(2):400-7.
8. Passerini L, Lam K, Costerton JW, King EG. Biofilms on indwelling vascular catheters. *Crit Care Med*. 1992 May;20(5):665-73.
9. Ramírez P, García S, Martí V, Gordón M. Fracaso del tratamiento antibiótico en ausencia de resistencia antimicrobiana: ¿biofilms? En: Solé J. Sepsis grave. Medidas para optimizar el tratamiento. 1ª ed. Madrid: Entheos; 2010. p129 – 142.
10. Parsek MR, Singh PK. Bacterial biofilms: an emerging link to disease pathogenesis. *Annu Rev Microbiol*. 2003;57:677–701
11. Hall-Stoodley L, Stoodley P. Evolving concepts in biofilm infections. *Cell Microbiol*. 2009 Jul;11(7):1034-43.

12. Harrop JS, Sharan AD: Impact of a standardized protocol and antibiotic-impregnated catheters on ventriculostomy infection rates in cerebrovascular patients. *Neurosurgery* 2010; 67:187-191.
13. Wong GK, Ip M, Poon WS, Mak CW, Ng RY. Antibiotics-impregnated ventricular catheter versus systemic antibiotics for prevention of nosocomial CSF and non-CSF infections: a prospective randomised clinical trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010; 81: 1064-1067.
14. Zabramski JM, Whiting D, Darouiche RO, Horner TG, Olson J, Robertson C, Hamilton AJ. Efficacy of antimicrobial-impregnated external ventricular drain catheters: a prospective, randomized, controlled trial. *J Neurosurg* 2003; 98: 725-730.
15. Korinek AM, Reina M, Boch AL, Rivera AO, De Bels D, Puybasset L. Prevention of external ventricular drain--related ventriculitis. *Acta Neurochir (Wien)*. 2005 Jan;147(1):39-45; discussion 45-6.
16. Lo CH, Spelman D, Bailey M, Cooper DJ, Rosenfeld JV, Brecknell JE. External ventricular drain infections are independent of drain duration: an argument against elective revision. *J Neurosurg*. 2007 Mar;106(3):378-83.
17. Muttaiyah S, Ritchie S, Upton A, Roberts S. Clinical parameters do not predict infection in patients with external ventricular drains: a retrospective observational study of daily cerebrospinal fluid analysis. *J Med Microbiol*. 2008 Feb;57(Pt 2):207-9.
18. Luzzani A, Polati E, Dorizzi R, Rungatscher A, Pavan R, Merlini A. Comparison of procalcitonin and C-reactive protein as markers of sepsis. *Crit Care Med*. 2003;31:1737-41.
19. Berger C, Schwarz S, Schaebitz WR, Aschoff A, Schwab S. Serum procalcitonin in cerebral ventriculitis. *Crit Care Med*. 2002;30:1778-81.
20. Martínez R, Gaul C, Buchfelder M, Erbguth F, Tschaikowsky K. Serum procalcitonin monitoring for differential diagnosis of ventriculitis in adult intensive care patients. *Intensive Care Med*. 2002;28:208-10.
21. Schade RP, Schinkel J, Roelandse FW, Geskus RB, Visser LG, van Dijk JM, Voormolen JH, Van Pelt H, Kuijper EJ. Lack of value of routine analysis of cerebrospinal fluid for prediction and diagnosis of external drainage-related bacterial meningitis. *J Neurosurg*. 2006;104:101-8.

22. Pfisterer W, Mühlbauer M, Czech T, Reinprecht A. Early diagnosis of external ventricular drainage infection: results of a prospective study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2003;74:929-32.
23. Pfausler B, Beer R, Engelhardt K, Kemmler G, Mohsenipour I, Schmutzhard E. Cell index--a new parameter for the early diagnosis of ventriculostomy (external ventricular drainage)-related ventriculitis in patients with intraventricular hemorrhage? *Acta Neurochir (Wien)*. 2004;146:477-81.
24. Hetem DJ, Woerdeman PA, Bonten MJ, Ekkelenkamp MB. Relationship between bacterial colonization of external cerebrospinal fluid drains and secondary meningitis: a retrospective analysis of an 8-year period. *J Neurosurg*. 2010 Dec;113(6):1309-13.
25. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control*. 2008 Jun;36(5):309-32.
26. Bouchon A, Facchetti F, Weigand MA, Colonna M. TREM-1 amplifies inflammation and is a crucial mediator of septic shock. *Nature* 2001; 410: 1103-7
27. Gibot S, Kolopp-Sarda MN, Béné MC, Cravoisy A, Levy B, Faure GC, Bollaert PE. Plasma level of a triggering receptor expressed on myeloid cells: its diagnosis accuracy in patients with suspected sepsis. *Ann Intern Med* 2004; 141: 9-15
28. Gibot S, Cravoisy A, Levy B, Bene MC, Faure G, Bollaert PE. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells and the diagnosis of pneumonia. *N Engl J Med* 2004; 29: 451-458
29. Determann RM, Millo JL, Gibot S, Korevaar JC, Vroom MB, van der Poll T, Garrard CS, Schultz MJ. Serial changes in soluble triggering receptor expressed on myeloid cells in the lung during development of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med* 2005; 31: 1495-1500
30. Determann RM, Weisfelt M, de Gans J, van der Ende A, Schultz MJ, van de Beek D. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1: a biomarker for bacterial meningitis. *Intensive Care Med*. 2006 Aug;32(8):1243-7.
31. Bishara J, Hadari N, Shalita-Chesner M, Samra Z, Ofir O, Paul M, Peled N, Pitlik S, Molad Y. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 for distinguishing bacterial from aseptic meningitis in adults. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2007 Sep;26(9):647-50.

32. Gibot S, Kolopp-Sarda MN, Béné MC, Cravoisy A, Levy B, Faure GC, Bollaert PE. Plasma level of a triggering receptor expressed on myeloid cells-1: its diagnostic accuracy in patients with suspected sepsis. *Ann Intern Med.* 2004 Jul 6;141(1):9-15.
33. Ramirez P, Kot P, Marti V, Gomez MD, Martinez R, Saiz V, Catala F, Bonastre J, Menendez R. Diagnostic implications of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in patients with acute respiratory distress syndrome and abdominal diseases: a preliminary observational study. *Crit Care.* 2011;15(1):R50.
34. Leverstein-van Hall MA, Hopmans TE, van der Sprenkel JW, Blok HE, van der Mark WA, Hanlo PW, Bonten MJ. A bundle approach to reduce the incidence of external ventricular and lumbar drain-related infections. *J Neurosurg.* 2010 Feb; 112(2):345-53.
35. Flint AC, Rao VA, Renda NC, Faigeles BS, Lasman TE, Sheridan W. A simple protocol to prevent external ventricular drain infections. *Neurosurgery.* 2013 Jun; 72(6):993-9; discussion 999.
36. Pronovost P, Needham D, Berenholtz S, Sinopoli D, Chu H, Cosgrove S, Sexton B, Hyzy R, Welsh R, Roth G, Bander J, Kepros J, Goeschel C. An intervention to decrease catheter-related bloodstream infections in the ICU. *N Engl J Med.* 2006 Dec 28;355(26):2725-32.
37. Chatzi M, Karvouniaris M, Makris D, Tsimitrea E, Gatos C, Tasiou A, Mantzarlis K, Fountas KN, Zakyntinos E. Bundle of measures for external cerebral ventricular drainage-associated ventriculitis. *Crit Care Med.* 2014 Jan; 42(1):66-73.
38. Wong GK, Poon WS, Wai S, Yu LM, Lyon D, Lam JM. Failure of regular external ventricular drain exchange to reduce cerebrospinal fluid infection: result of a randomised controlled trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2002 Dec; 73(6):759-61.
39. Gordon M, Ramirez P. External ventricular drain-related ventriculitis prevention: standard preventive measures still work. *Crit Care Med.* 2014 Jul; 42(7):e543.
40. Kockro RA, Hampl JA, Jansen B, Peters G, Scheihing M, Giacomelli R, Kunze S, Aschoff A. Use of scanning electron microscopy to investigate the prophylactic efficacy of rifampin-impregnated CSF shunt catheters. *J Med Microbiol* 2000; 49: 441-450.
41. Lyke KE, Obasanjo OO, Williams MA, O'Brien M, Chotani R, Perl TM. Ventriculitis complicating use of intraventricular catheters in adult neurosurgical patients. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 2028-2033.

42. Gilbert RE, Harden M. Effectiveness of impregnated central venous catheters for catheter related blood stream infection: a systematic review. *Curr Opin Infect Dis.* 2008 Jun;21(3):235-45.
43. Falagas ME, Fragoulis K, Bliziotis IA, Chatzinikolaou I. Rifampicin-impregnated central venous catheters: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Antimicrob Chemother.* 2007 Mar;59(3):359-69.
44. León C, Ruiz-Santana S, Rello J, de la Torre MV, Vallés J, Alvarez-Lerma F, Sierra R, Saavedra P, Alvarez-Salgado F; Cabaña Study Group. Benefits of minocycline and rifampin-impregnated central venous catheters. A prospective, randomized, double-blind, controlled, multicenter trial. *Intensive Care Med.* 2004 Oct;30(10):1891-9.
45. Tambe SM, Sampath L, Modak SM. In vitro evaluation of the risk of developing bacterial resistance to antiseptics and antibiotics used in medical devices. *J Antimicrob Chemother.* 2001 May;47(5):589-98.
46. Raad I, Reitzel R, Jiang Y, Chemaly RF, Dvorak T, Hachem R. Anti-adherence activity and antimicrobial durability of anti-infective-coated catheters against multidrug-resistant bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 2008 Oct;62(4):746-50.
47. Crane DP, Gromov K, Li D, Søballe K, Wahnes C, Büchner H, Hilton MJ, O'Keefe RJ, Murray CK, Schwarz EM. Efficacy of colistin-impregnated beads to prevent multidrug-resistant *A. baumannii* implant-associated osteomyelitis. *J Orthop Res.* 2009 Aug;27(8):1008-15.
48. Bogdahn U, Lau W, Hassel W, Gunreben G, Mertens HG, Brawanski A. Continuous-pressure controlled, external ventricular drainage for treatment of acute hydrocephalus--evaluation of risk factors. *Neurosurgery.* 1992 Nov;31(5):898-903; discussion 903-4.

