

Documento Italiano di Consenso

Procedure di esecuzione, trasporto e conservazione del prelievo per emocoltura in caso di sospetta sepsi

Con il patrocinio di



**Procedure di esecuzione,
trasporto e conservazione
del prelievo per emocoltura
in caso di sospetta sepsi**



Copyright © 2018 by EDRA S.p.A. - Tutti i diritti riservati.
Maggio 2018 - Prima edizione
Settembre 2018 - Ristampa

I diritti di traduzione, di memorizzazione elettronica, di riproduzione e di adattamento totale o parziale con qualsiasi mezzo, compresi i microfilm e le copie fotostatiche, sono riservati per tutti i Paesi. È vietata la riproduzione (totale o parziale) dell'opera con qualsiasi mezzo effettuata e la sua messa a disposizione di terzi, sia in forma gratuita sia a pagamento

Ludovico Baldessin
Chief Business & Content Officer

Susanna Garofalo
Responsabile editoriale

Alessia Scotton
Coordinamento editoriale

Pubblicazione realizzata con il contributo incondizionato di Becton Dickinson Italia SpA.

Edizione riservata per i Sigg. Medici

Fuori commercio

La medicina è una scienza in perenne divenire.

Nelle nozioni esposte in questo volume si riflette lo "stato dell'arte", come poteva essere delineato al momento della stesura in base ai dati desumibili dalla letteratura internazionale più autorevole. È soprattutto in materia di terapia che si determinano i mutamenti più rapidi: sia per l'avvento di farmaci e di procedimenti nuovi, sia per il modificarsi, in rapporto alle esperienze maturate, degli orientamenti sulle circostanze e sulle modalità d'impiego di quelli già in uso da tempo. Gli Autori, l'Editore e quanti altri hanno avuto una qualche parte nella stesura o nella pubblicazione del volume non possono essere ritenuti in ogni caso responsabili degli errori concettuali dipendenti dall'evolversi del pensiero clinico; e neppure di quelli materiali di stampa in cui possano essere incorsi, nonostante tutto l'impegno dedicato a evitarli. Il lettore che si appresti ad applicare qualcuna delle nozioni terapeutiche riportate deve dunque verificarne sempre l'attualità e l'esattezza, ricorrendo a fonti competenti e controllando direttamente sul riassunto delle caratteristiche del prodotto allegato ai singoli farmaci tutte le informazioni relative alle indicazioni cliniche, alle controindicazioni, agli effetti collaterali e specialmente alla posologia.

EDRA S.p.A.
Via G. Spadolini 7
20141 Milano, Italia
Tel. 02 88184.1
Fax 02 88184.302

Finito di stampare nel mese di settembre 2018 presso Jona srl -
Paderno Dugnano (MI)

Board scientifico

Francesca De Plato

Dirigente Farmacista presso l'Ospedale "Mazzini" di Teramo
Referente Nazionale Area scientifico-culturale SIFO "Rischio chimico e biologico"

Carla Fontana

Dipartimento di Medicina Sperimentale e Chirurgia, Università di Roma Tor Vergata
Laboratorio Microbiologia, Policlinico di Tor Vergata, Roma

Giovanni Gherardi

Professore associato di Microbiologia, Laboratorio di Microbiologia, Dipartimento di Medicina, Università Campus Bio-Medico, Roma

Gaetano Pierpaolo Privitera

Direttore, Dipartimento di Ricerca Traslazionale e delle Nuove Tecnologie in Medicina e Chirurgia, Università di Pisa
Direttore, UOC Igiene ed Epidemiologia Universitaria e Coordinatore Area Funzionale Rischio Clinico,
Azienda Ospedaliera-Universitaria Pisana

Vincenzo Puro

Dipartimento di Epidemiologia e di Ricerca Preclinica, Direttore ad interim UOC Infezioni emergenti e riemergenti
e Centro di riferimento AIDS, INMI L. Spallanzani, Roma
Coordinatore SIROH

Roberto Rigoli

Vicepresidente AMCLI, Direttore Dipartimento di Patologia Clinica, ULSS n. 2 Marca Trevigiana

Bruno Viaggi

Dipartimento di Anestesia, Neuroranimazione e Terapia intensiva, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Firenze
Membro del Gruppo Italiano per la Valutazione degli Interventi in Terapia Intensiva (GiViTI), Istituto Mario Negri, Milano

Pierluigi Viale

Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, UO Malattie Infettive, Policlinico di S. Orsola, Bologna

Indice

1. INTRODUZIONE	7
2. ESECUZIONE DELLE EMOCOLTURE: CONCETTI GENERALI	9
A chi e quando eseguire un'emocoltura	9
Numero di campioni e volume di sangue da prelevare	10
Come eseguire un'emocoltura: modalità operative	11
Inoculo dei flaconi e trasporto dei campioni	14
3. CORRETTE PROCEDURE DI ESECUZIONE E TRASPORTO DEL PRELIEVO PER EMOCOLTURA	16
Preparazione al prelievo	16
Antisepsi della cute	18
Volume di sangue da prelevare	20
Tecnica e sicurezza del prelievo	22
Terreno da utilizzare	23
Tempistiche di trasporto del campione	24
4. CONCLUSIONI	26
BIBLIOGRAFIA	28
<hr/>	
APPENDICE – FARMACI VS BIOCIDI	30
BIBLIOGRAFIA	35

1. INTRODUZIONE

L'emocoltura rappresenta l'esame primario per la diagnosi delle infezioni del torrente circolatorio e una componente essenziale della gestione clinica del paziente con sepsi (definita come una disfunzione d'organo pericolosa per la vita causata da una alterata risposta all'infezione [1]). L'isolamento colturale di batteri o funghi dal sangue possiede un importante valore diagnostico (conferma la valutazione clinica generale), prognostico e terapeutico (al fine della scelta della terapia basata sull'identificazione dell'agente infettivo e sulla sua sensibilità ai farmaci antimicrobici).

L'incidenza di sepsi è elevata in tutto il mondo, con 1.200.000 casi riportati all'anno in Europa, dei quali 157.000 fatali [2]. È possibile tuttavia che questi dati siano sottostimati, a causa di un ricorso alle emocolture non sempre ottimale, per ragioni culturali e organizzative. La morbilità e la mortalità attribuibili alla sepsi sulla popolazione generale sono comunque alte, tanto che essa rientra tra le prime sette cause di morte in Europa e Nord America [2]. Dal punto di vista eziologico, l'evoluzione degli ultimi anni ha visto una riduzione delle sepsi da Gram-positivi e da *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) e una parallela ascesa delle infezioni da Gram-negativi (*Klebsiella*, *Pseudomonas*, *E. coli*, *Acinetobacter*) e da *Candida* (in particolare da *C. parapsilosis*, *glabrata* e *krusei*). Le infezioni del tratto respiratorio rappresentano la più comune origine della sepsi nel mondo occidentale (pari al 35% del totale), incluso un gran numero di infezioni delle vie aeree inferiori e *infection-related ventilator-associated complications* (IVAC). L'origine urinaria appare in riduzione, pur rappresentando circa un quarto dei casi. Una quota minore di episodi di sepsi è a partenza dal tratto gastrointestinale o dalla cute e tessuti molli (11% ognuno) [3,4].

Nei pazienti settici, la diagnosi veloce e accurata della batteriemia e della fungemia ha un impatto critico sulla prognosi, poiché l'avvio tempestivo di una terapia antibiotica mirata (entro le 24-48 ore) aumenta significativamente le possibilità di sopravvivenza (la letalità associata all'infezione si riduce del 20-30%), oltre a prevenire l'uso indiscriminato di farmaci antinfettivi, riducendo i costi economici e il rischio di sviluppo di resistenze. L'emocoltura, pertanto, rappresenta il miglior strumento per la diagnosi di sepsi in tutte le sue manifestazioni, da eseguire, in caso di sospetto clinico, il più precocemen-

te possibile e ponendo in essere accorgimenti di ordine tecnico, metodologico e organizzativo in grado di ridurre i tempi di esecuzione e di trasmissione dei risultati al clinico. Tuttavia, indagini effettuate nella realtà italiana hanno messo in evidenza una notevole variabilità di comportamenti nelle modalità di prelievo e nelle procedure diagnostiche microbiologiche [5], sottolineando la necessità di indicazioni autorevoli e standardizzate per l'esecuzione delle emocolture nel nostro Paese, oltre che di una adeguata opera di informazione e formazione di tutto il personale sanitario coinvolto. Da questo punto di vista, occorre ricordare che la maggioranza dei casi di sepsi avviene nella comunità, coinvolgendo i medici di medicina generale (MMG) e i reparti di Pronto Soccorso (PS). È essenziale, quindi, che le strutture di PS vengano coinvolte nell'opera di sensibilizzazione sull'importanza critica dell'esecuzione ottimale di emocolture nel paziente settico.

D'altra parte, un'emocoltura deve essere eseguita solo in risposta a un bisogno clinico, nei pazienti con una sospetta batteriemia, mentre l'esecuzione di emocolture di routine è generalmente sconsigliata. Vi sono numerosi segni e sintomi che possono suggerire una batteriemia, i quali andranno sempre integrati all'interno di un giudizio clinico complessivo, ma i principali indicatori da prendere in considerazione nella valutazione di un paziente con sospetta batteriemia o sepsi sono:

- temperatura corporea al di fuori del range di normalità;
- segni focali di infezione;
- anomalie della frequenza cardiaca (aumentata), della pressione sanguigna (ridotta o aumentata) o della frequenza respiratoria (aumentata);
- brividi;
- numero di globuli bianchi aumentato o molto basso;
- comparsa di confusione.

Va sempre tenuto presente però che i segni di sepsi possono essere minimi o assenti nei bambini molto piccoli e nei pazienti anziani [6]. Nei pazienti con possibile sepsi, le emocolture andranno eseguite subito dopo la comparsa del sospetto clinico e prima della somministrazione della terapia antibiotica.

Altrettanto importante, ai fini clinici e di costi sanitari, è lo svolgimento corretto dell'intera procedura di esecuzione di un'emocoltura, allo scopo di ridurre la contami-

nazione del campione e l'incidenza di "falsi positivi". La frequenza di contaminazioni delle emocolture (definite come isolamento di un microrganismo introdotto nella coltura durante il prelievo e/o il processamento del campione e che non era presente nel sangue del paziente al momento del prelievo o comunque non implicato nell'infezione in atto [7]) non dovrebbe essere superiore al 3%, secondo le raccomandazioni internazionali [8]. L'esecuzione di corrette procedure di antisepsi della cute e di inoculo del campione sono indicate per ridurre il rischio di introdurre nella coltura i più comuni contaminanti (*Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Propionibacterium* spp., stafilococchi coagulasi-negativi, *Aerococcus* spp., *Micrococcus* spp.) [7].

Molti aspetti procedurali sono critici per una corretta esecuzione dell'emocoltura, fra i quali la tempistica del prelievo, la quantità di sangue prelevata, il trasporto dei flaconi al laboratorio di Microbiologia, tutte procedure che, da quanto esposto sopra, risulta essenziale che

siano standardizzate e adeguatamente eseguite. Partendo da quanto disponibile nelle linee guida internazionali, e utilizzando le conoscenze e le esperienze cliniche di un Board di esperti nel campo, il presente documento si propone di essere una guida pratica per il clinico su quando e come eseguire un prelievo per emocolture nel paziente con una sospetta sepsi. Nella prima parte del documento sono riportate brevemente le evidenze presenti in letteratura e le indicazioni delle principali linee guida internazionali, mentre nella seconda parte sono presenti le Raccomandazioni pratiche fornite dagli esperti del Board per la corretta esecuzione delle diverse fasi dell'esame emoculturale. Il valore del presente documento, da sottolineare, risiede proprio nel fatto di includere al suo interno l'intero processo operativo, dal prelievo sanguigno alla consegna del campione per la valutazione microbiologica, fornendo così al clinico una guida completa e puntuale di riferimento ad oggi non ancora disponibile nella letteratura italiana ed europea.

2. ESECUZIONE DELLE EMOCOLTURE: CONCETTI GENERALI

Sebbene l'esame emoculturale rappresenti una procedura diagnostica apparentemente semplice, essa coinvolge numerose figure professionali (clinico curante, infettivologo, microbiologo, intensivista, farmacista, referenti del rischio clinico ecc.), accanto a una serie di modalità e materiali la cui qualità va ottimizzata e standardizzata. La maggior parte delle linee guida esistenti è dedicata ai criteri di decisione clinica e alla diagnosi microbiologica, mentre minori indicazioni sono disponibili come riferimento per l'intero processo operativo, dal prelievo di sangue per emocoltura alla consegna per la valutazione.

Gli elementi che condizionano questo processo, fra i quali in particolare quelli che riguardano l'esecuzione del prelievo, l'inoculo dei flaconi e il loro trasporto per

l'analisi al laboratorio di Microbiologia, possono essere distinti in:

aspetti clinici:

- momento del prelievo
- intervallo tra i prelievi
- rapporto con la terapia antibiotica

e aspetti tecnici:

- prodotti impiegati per l'antisepsi della cute e per il prelievo
- modalità tecnica di prelievo
- volume di sangue prelevato
- numero di emocolture eseguito
- modalità di conservazione e trasporto del campione
- sicurezza degli operatori.

A chi e quando eseguire un'emocoltura

Nell'**identificazione del paziente** con sospetta infezione del torrente circolatorio sostenuta da batteri e funghi, per il quale è indicata l'esecuzione di un'emocoltura, accanto alla febbre e al brivido devono essere presi in considerazione altri parametri, fra i quali la pressione sanguigna e la frequenza cardiaca, il numero di globuli bianchi e i marcatori biologici di infiammazione (quali PCR, procalcitonina [PCT] e determinazione dei lattati). Fra questi, una particolare utilità, soprattutto nei pazienti con infezioni da Gram-negativi, appare possedere la determinazione della PCT, i cui valori assoluti e cinetica di cambiamento possono aiutare il clinico nella diagnosi e nella gestione della terapia antibiotica in atto [9,10]. Al contrario, la febbre non è assolutamente un fattore discriminante di per sé, poiché alcuni pazienti possono essere normo- o ipotermici anche nella fase batteriemicca [11].

Sulla **scelta del momento** più adatto in cui eseguire il prelievo, al fine di ottimizzare la probabilità di isolare dei patogeni dal sangue, le indicazioni sperimentali in letteratura sono limitate. È stato comunque dimostrato che la pratica di eseguire un'emocoltura alla comparsa del brivido e del rialzo termico rapido non incrementa il tasso di positività dell'esame [12], dato giustificato dall'osservazione che, dopo l'ingresso dei batteri in circolo, vi è una latenza di circa un'ora prima della comparsa di brivido o febbre [13]. Anche la pratica, comune, di ottenere i cam-

pioni di sangue per emocoltura a intervalli di 30-60 minuti non è supportata dall'evidenza, poiché non sono state osservate differenze in termini di capacità di isolamento microbiologico se tutti i campioni vengono prelevati contemporaneamente o a intervalli prestabiliti nell'arco delle 24 ore [14]. Per queste ragioni, la maggior parte delle linee guida esistenti raccomanda l'esecuzione di tutte le emocolture simultaneamente o entro un breve intervallo di tempo [7,11,15], in particolare quando vi sia la necessità clinica di iniziare una terapia antibiotica empirica [8]. Il razionale per l'utilizzo di una "single-sampling strategy" (SSS, prelevare cioè l'intero volume di sangue da un singolo prelievo e suddividerlo in 4-6 bottiglie) si basa sulla possibilità di ridurre il tasso di contaminazione limitando il numero dei prelievi, limitare il carico di lavoro e il rischio occupazionale degli operatori, diminuire i costi e ridurre il disagio per i pazienti, ragioni per le quali questa strategia è stata proposta come modalità di scelta da alcuni autori [16]. Fanno eccezione i pazienti con sospetta endocardite batterica subacuta o altre infezioni endovascolari (ad es. legate al catetere), nei quali l'esecuzione a intervalli regolari di emocolture per un periodo di 24 ore (eventualmente ripetuto in caso di negatività) può essere utile per documentare una batteriemia continua [7,11].

In ogni caso, in tutte le raccomandazioni viene ribadito che l'emocoltura va eseguita prima dell'inizio della

terapia antibiotica empirica: il mancato isolamento microbiologico nelle colture può avvenire entro minuti o ore dopo la prima dose di antimicrobico. L'isolamento di un patogeno permette di considerare la possibilità di una successiva *de-escalation* della terapia antimicrobica, con riduzione della pressione di selezione antibiotica, minori effetti collaterali e minori costi [17]. Diversi studi retrospettivi hanno suggerito che l'ottenimento

di emocolture prima dell'inizio del trattamento antibiotico è associato a un migliore esito dei pazienti [18]. Se, nel bilanciamento fra rischio e beneficio, è necessario iniziare rapidamente una terapia antibiotica prima che sia possibile eseguire emocolture in un paziente critico, vi sono indicazioni per l'esecuzione del prelievo subito prima di una nuova somministrazione, quando le concentrazioni di farmaco nel sangue sono al minimo [11].

Numero di campioni e volume di sangue da prelevare

Più importante della tempistica, ai fini dell'isolamento di germi patogeni, è stato dimostrato essere il **volume di sangue** prelevato, che appare la variabile maggiormente determinante in numerosi studi condotti in pazienti adulti con batteriemia e fungemia. Li et al. hanno dimostrato che l'incremento da 20 ml a 40 ml del volume di sangue posto in coltura aumenta la resa diagnostica del 20%, mentre l'incremento da 40 a 60 ml porta un ulteriore aumento del 10%, indipendentemente dalle modalità di raccolta del campione (simultanea o con prelievi seriali entro le 24 ore) [14]. In generale, nei pazienti adulti, la probabilità di isolare il patogeno in caso di sepsi aumenta in proporzione diretta con il volume di sangue prelevato da 20 a 30 ml, volume oltre il quale l'aumento è ancora presente ma non più direttamente proporzionale ai volumi coltivati [14]. La proporzione diretta fra volume di sangue prelevato e probabilità di identificare patogeni appare essere valida anche nei pazienti pediatrici, anche se i dati disponibili in questa popolazione sono limitati. Come con-

sequenza di queste osservazioni, le linee guida esistenti raccomandano il **prelievo di 20-30 ml di sangue per ogni set (prelievo emoculturale completo: 4-6 flaconi con un singolo prelievo di 40-60ml di sangue)** nei pazienti adulti [7,8,11], mentre nei bambini più piccoli sono state suggerite tabelle che riportano il volume di sangue da prelevare al peso e all'età (Tabella 1) [8], tenendo sempre presente che questo non dovrebbe superare l'1-4,5% del volume ematico totale del paziente [7,11].

Il sangue raccolto con ogni prelievo viene generalmente suddiviso per inoculare due flaconi: uno per la ricerca di germi aerobi e uno per gli anaerobi. Questa pratica era stata messa in discussione nei decenni scorsi sulla base di studi che riportavano una riduzione dell'incidenza di batteriemie da batteri anaerobi obbligati, suggerendo quindi l'utilizzo dei flaconi specifici solo in casi selezionati e utilizzando di routine solo i flaconi per germi aerobi [19,20]. Tuttavia, questi dati non sono mai stati validati, in particolare per quanto riguarda l'identificazione dei pazienti da

Tabella 1. Volumi di sangue raccomandati per l'emocoltura nei pazienti pediatrici [8]

Peso del paziente (kg)	Volume ematico totale del paziente (ml)	Volume di sangue per coltura raccomandato (ml)		Volume totale per coltura (ml)	% del volume ematico totale
		Set di colture n. 1	Set di colture n. 2		
≤1	50-99	2	...	2	4
1,1-2	100-200	2	2	4	4
2,1-12,7	>200	4	2	6	3
12,8-36,3	>800	10	10	20	2,5
>36,3	>2200	20-30	20-30	40-60	1,8-2,7

Quando vengono raccolti 10 ml di sangue o meno, dovrebbe essere inoculata una singola bottiglia per germi aerobi.

selezionare per la coltura di anaerobi, mentre d'altra parte è stata riportata una migliore identificazione di stafilococchi e membri della famiglia delle *Enterobacteriaceae*, oltre che di anaerobi, con l'uso di una combinazione di flaconi per aerobi/anaerobi [21]. Attualmente, quindi, le raccomandazioni riportate nelle linee guida suggeriscono l'uso dei due tipi tradizionali di flaconi per i pazienti adulti [7]. Per i pazienti pediatriche (per i quali sono anche disponibili flaconi appositi che prevedono l'immissione di ridotte quantità di sangue), un singolo flacone per germi aerobi può essere inoculato quando il volume di sangue prelevato è inferiore a 10 ml [8]. Poiché le infezioni da batteri anaerobi sono rare nei bambini, alcuni autori raccomandano l'uso di soli flaconi per germi aerobi nella popolazione pediatrica, riservando i flaconi per anaerobi ai soli pazienti ad alto rischio (infezioni croniche orali o dei seni, celluliti, pazienti con segni e sintomi addominali, ferite da morso, flebiti settiche e pazienti neutropenici in trattamento con steroidi) [7]. Inoltre, poiché i funghi patogeni vengono coltivati quasi esclusivamente nei flaconi per aerobi, nei pazienti con sospetta fungemia, se non vengono utilizzati flaconi specifici per la crescita di funghi, alcune linee guida raccomandano l'esecuzione di almeno un set di emocoltura utilizzando due flaconi per aerobi invece della classica combinazione di aerobi e anaerobi [8]. Un secondo aspetto determinante per assicurare una maggiore sensibilità dell'esame è il numero di set di emocolture eseguite durante ogni episodio settico. Generalmente, negli adulti con sospetta batteriemia viene raccomandato di eseguire da un **minimo di 2 a un massimo di 3** [7,11] o 4 [8] **set di emocolture** (4-6/8 flaconi), a intervalli più o meno ravvicinati (o anche simultaneamente, come discusso sopra). L'esecuzione di un solo prelievo nei pazienti adulti viene fortemente sconsigliata, a causa dell'insufficienza del volume di sangue analizzato, con conseguente aumento dei risultati falsi negativi e difficoltà nell'identificazione dei falsi positivi [11]. Queste indicazioni poggiano sui risultati di diversi studi che hanno indagato il numero ottimale di emocolture necessario per identificare una batteriemia o fungemia, riportando una probabilità di isolare il patogeno in caso di sepsi pari all'80-91% con un solo prelievo e del 99% e oltre con due

o tre prelievi [22,23]. Più recentemente, utilizzando sistemi di coltura automatizzati (CMBCS) invece che manuali, sono state osservate percentuali del 65%, 80% e 96% con uno, due o tre set di emocolture, rispettivamente [24]. È possibile che la minore sensibilità osservata in questo ultimo studio sia da collegare, oltre che ai diversi sistemi di coltura utilizzati, alle differenti definizioni di vero positivo e di coltura contaminata [7].

Le linee guida generalmente sconsiglierebbero l'esecuzione di routine di singole emocolture come coltura di sorveglianza (pratica spesso seguita nei pazienti ricoverati in Terapia Intensiva o in reparti di Ematologia), perché considerate di scarso valore clinico e associate a un aumento dei costi [11]. Tuttavia, trattandosi comunque di costi incrementali non significativi, nell'ambito della gestione di un paziente critico può essere opportuno privilegiare il valore clinico di un'emocoltura positiva che potenzialmente potrebbe non essere rilevata.

Viene comunemente raccomandato che il prelievo per emocoltura sia effettuato da sangue venoso, poiché l'utilizzo di sangue arterioso non aggiunge niente alla sensibilità dell'esame [7,11]. Nei pazienti portatori di cateteri venosi, le linee guida indicano unanimemente che questi non dovrebbero essere utilizzati per prelevare il sangue, tranne che nei pazienti nei quali si sospetti un'infezione associata al catetere stesso (*catheter-related bloodstream infection*, CR-BSI), nel qual caso devono essere eseguiti un prelievo periferico e uno da catetere in parallelo [7,11]. Va tuttavia sottolineato come nella *real life*, specie in alcune categorie di pazienti, quali quelli ricoverati in Unità di Terapia Intensiva o in Ematologia, possa risultare difficile o anche impossibile accedere a una vena periferica od ottenere una adeguata quantità di sangue dal prelievo venoso e si debba quindi in diversi casi ricorrere al prelievo da CVC anche al di fuori delle sospette CR-BSI. Il prelievo da sangue venoso periferico, compatibilmente con le condizioni cliniche, rimane comunque il *gold standard* per l'esecuzione corretta di emocolture. In mancanza di un accesso venoso periferico adeguato, è possibile anche utilizzare sangue arterioso, che non presenta svantaggi dimostrati rispetto a quello venoso in termini di contaminazione e sensibilità.

Come eseguire un'emocoltura: modalità operative

Momento iniziale e critico per ridurre il rischio di contaminazione del campione è la corretta procedura di **anti-**

sepsi della cute. Tutte le linee guida esistenti dedicano notevole attenzione a questo aspetto, poiché le conta-

minazioni e i falsi positivi rappresentano un problema con ricadute cliniche ed economiche significative. La contaminazione può avvenire a partire da una serie di fonti, inclusi la cute del paziente, i presidi e i dispositivi utilizzati per prelevare il campione e trasferirlo nei flaconi per la cultura, le mani dell'operatore e l'ambiente circostante [6]. La causa più frequente di contaminazione del campione è proprio la mancata o impropria antisepsi della cute, anche se una piccola percentuale di batteri che vivono negli strati profondi della cute sopravvive all'antisepsi, soprattutto quando localizzati tra le pieghe cutanee dove l'antisettico non penetra.

Nel corso degli ultimi 50 anni, numerosi agenti antisettici sono stati utilizzati in clinica, inclusi l'alcool (etilico o isopropilico al 70%), la tintura di iodio, lo iodopovidone, gli iodofori e la clorexidina gluconato. Sulla comparazione dell'efficacia di questi agenti, le conclusioni di una revisione sistematica pubblicata nel 2007 sono state le seguenti [25]:

- la tintura di iodio (idroalcolica) è più efficace della soluzione acquosa di iodopovidone nel ridurre il rischio di contaminazione del campione;
- la soluzione alcolica di clorexidina gluconato è più efficace della soluzione acquosa di iodopovidone;
- gli antisettici alcolici sono più efficaci delle soluzioni acquose;
- l'alcool da solo non è inferiore alle soluzioni a base di iodio.

Inoltre, gli autori si pronunciavano a favore di un possibile beneficio derivante dall'uso di kit antisettici preconfezionati [25].

Una più recente metanalisi di 6 trial clinici ha concluso che la soluzione alcolica di clorexidina è più efficace della soluzione acquosa di iodopovidone nella riduzione dei falsi positivi negli esami emocolturali e che le soluzioni alcoliche sono più efficaci delle soluzioni non alcoliche, anche se il confronto fra prodotti a base di clorexidina e a base di iodio non è ancora conclusivo [26]. Uno studio recente, che ha confrontato l'efficacia di 3 antisettici (soluzione acquosa di iodopovidone 10%, tintura di iodio 2% e clorexidina 2% in alcool isopropilico 70%), ha confermato l'importanza dell'esecuzione della procedura da parte di personale esperto, in quanto questo può ridurre il tasso totale di contaminazione dei campioni, a prescindere dall'antisettico utilizzato [27].

Nella pratica clinica, in caso di utilizzo di iodopovidone è importante che gli operatori rispettino i 2 minuti ne-

cessari affinché venga raggiunto l'effetto antimicrobico massimo. Al contrario, la clorexidina è un agente ad azione rapida (sono sufficienti 30 secondi) e persistente sulla cute. Inoltre, è raramente associata a reazioni allergiche (eventuali reazioni minori di ipersensibilità devono comunque essere segnalate e l'uso successivo di clorexidina dovrebbe essere evitato) [28] e non necessita della pulizia della cute dopo l'esecuzione del prelievo. Sebbene quindi i dati di letteratura siano talvolta discordanti, per l'esecuzione dei prelievi per emocoltura negli adulti e nei bambini (>2 mesi di età) la maggioranza delle linee guida suggerisce l'impiego di clorexidina 2% in soluzione alcolica [6,7,28]. È da sottolineare che, sebbene le linee guida sconsiglino il prelievo di sangue per emocoltura da catetere venoso, quando ciò debba essere eseguito (per esempio nei pazienti con sospetta batteriemia associata a catetere), le modalità di antisepsi sono simili: applicazione di clorexidina gluconato 2% in alcool isopropilico 70% per la disinfezione dei rubinetti o del *port* di accesso. Nei pazienti con sensibilità alla clorexidina può essere utilizzato iodopovidone in soluzione alcolica [28].

Un aspetto da prendere in considerazione è anche la **differenza fra "farmaci" e "biocidi"**. Sebbene un antisettico destinato all'uso su cute integra possa essere registrato come farmaco o come biocida, l'iter produttivo, distributivo e registrativo delle due classi di agenti è significativamente diverso e può far nascere preoccupazioni circa l'uso di biocidi per scopi medici (l'argomento viene approfondito nell'Appendice "Farmaci vs biocidi").

Accanto alla scelta dell'agente antisettico, altrettanto importante per una corretta antisepsi della cute è la tecnica utilizzata per applicare l'antisettico stesso [29]. Vi sono in letteratura indicazioni precise per l'esecuzione dell'antisepsi: applicare clorexidina 2% in alcool isopropilico al 70% facendo uno *scrubbing* sulla cute di 7-8 cm di diametro per 30 secondi e poi attendere un tempo di asciugatura di circa 30 secondi. Il metodo tradizionale di applicare l'antisettico in cerchi concentrici partendo dal sito di iniezione verso l'esterno è stato messo in discussione e la frizione avanti e indietro è oggi considerata in grado di rimuovere meglio gli strati della cute e quindi ridurre più efficacemente la carica batterica dell'epidermide [30]. Da questo punto di vista, inoltre, vi sono evidenze a favore dell'utilizzo di **dispositivi sterili in confezione monouso**, preferibilmente registrati come farmaco, che evitano le contaminazioni dello stesso antisettico e forniscono numerosi altri vantaggi in termini di dosaggio esatto, standardizzazione della procedura e

azione meccanica garantita dal dispositivo di applicazione [6,28,31].

Sempre ai fini di evitare le possibili contaminazioni, le linee guida sottolineano le seguenti indicazioni:

- **disinfettare il tappo dei flaconi**, che non è sterile, prima dell'inoculo (con un prodotto specifico avente analoga composizione del prodotto usato per l'antisepsi della cute, lasciando agire per lo stesso tempo, o con alcool isopropilico 70%);
- **indossare guanti monouso**, non necessariamente sterili a meno che non sia necessario ripetere la palpazione del sito di prelievo dopo l'antisepsi della cute per la localizzazione della vena [7,11].

L'utilizzo di guanti è parte essenziale della pratica clinica degli operatori sanitari ed ha due scopi principali:

1. proteggere le mani dell'operatore dalla contaminazione di microrganismi, sangue e fluidi corporei;
2. ridurre il rischio di trasmissione di microrganismi allo staff e ai pazienti.

Nell'esecuzione di emocolture, quindi, indossare guanti monouso, della misura adatta, rappresenta una pratica tesa a ridurre il rischio di contaminazione e a garantire la sicurezza dell'operatore. Tuttavia, anche l'uso dei guanti deve avvenire in maniera corretta e specialmente non deve avere un impatto negativo sull'igiene delle mani, come riportato in alcuni studi che hanno osservato una ridotta igiene da parte degli operatori quando vengono utilizzati guanti [32,33]. Le linee guida inter-

nazionali ribadiscono la necessità dell'igiene delle mani prima che i guanti vengano indossati e immediatamente dopo la loro rimozione [6,28]. Le indicazioni per l'utilizzo di guanti fornite dalle linee guida Epic3 sono riassunte nella Tabella 2 [28].

L'esecuzione del **prelievo** deve essere effettuata con sistema a vuoto utilizzando dispositivi dotati di meccanismo di sicurezza per la prevenzione della puntura negli operatori sanitari.

Recentemente, è stato riportato l'uso di dispositivi ISDD (*initial specimen diversion device*), in grado di sequestrare i primi 1,5-2 ml di sangue prelevato (che presumibilmente contengono cellule cutanee e microrganismi contaminanti) per la riduzione delle contaminazioni nei prelievi per emocoltura: in uno studio condotto su 971 soggetti ricoverati in reparti di Emergenza, l'uso dei dispositivi ISDD si è dimostrato in grado di ridurre il tasso di contaminazione dall'1,78%, con la procedura standard, allo 0,22% [34]. Tuttavia, ulteriori studi saranno necessari per convalidare questa tecnica e per confermare che non vi sia un aumentato rischio di emolisi del campione o maggiori tassi di contaminazione.

Quando lo stesso prelievo viene utilizzato per diverse finalità oltre che per emocoltura, i flaconi per emocoltura devono essere inoculati per primi al fine di evitare contaminazioni [11,35].

L'esecuzione corretta del prelievo per emocolture comprende anche tutte le norme necessarie perché la procedura possa essere condotta preservando la **sicurezza dell'operatore** (Decreto 19/2015 che ha recepito la Direttiva 32/2010/UE; Titolo X bis del D.Lgs. 81/2008 e smi). Per comprendere la natura del problema, va sottolineato che sono oltre 60 i patogeni trasmissibili per via ematica (inclusi epatite B, epatite C e HIV) e che le pratiche a maggior rischio di infezione sono quelle che prevedono l'uso di aghi cavi. Negli operatori sanitari (OS) le punture accidentali con aghi o le ferite con oggetti taglienti rappresentano un evento piuttosto frequente; in Europa si registrano circa 1.200.000 infortuni l'anno (Direttiva 2010/32/CE).

Nella realtà nazionale, uno studio AIREPSA (*Associazione Italiana Responsabili Servizi Prevenzione e Protezione in Ambiente Sanitario*) ha evidenziato che gli infortuni a rischio biologico da malattie emotrasmesse (punture, tagli e contaminazioni mucocutanee) rappresentano circa il 40% di tutti gli infortuni negli ambienti ospedalieri [36]. Secondo i dati del progetto SIROH (*Studio Italiano Rischio Occupazionale da HIV e da altri patogeni a*

Tabella 2. Corretto uso dei guanti

I GUANTI DEVONO ESSERE:
▪ utilizzati come strumento monouso
▪ indossati immediatamente prima del contatto col paziente o l'esecuzione della procedura
▪ rimossi appena la procedura è conclusa
▪ cambiati nel passaggio da un paziente a un altro
▪ gettati nel corretto contenitore per rifiuti in accordo con la politica locale

trasmissione ematica), in Italia i 2/3 (65%) delle punture accidentali tra gli operatori sanitari sono riconducibili ad aghi cavi pieni di sangue e il 42% delle sieroconversioni ad almeno uno dei virus HIV, HBV e HCV avviene a seguito di puntura con ago durante l'esecuzione di un prelievo ematico [37]. Inoltre, in un'indagine del 2001, su un totale di 439 punture accidentali da aghi, il 74% risultava causato dal comportamento scorretto dell'operatore e solo il 26% non era prevenibile [38]. Circa l'adesione del personale sanitario italiano alla direttiva UE 2010/32, uno studio recente condotto in 100 Ospedali SIROH, particolarmente impegnati nel-

la prevenzione, riporta un buon tasso di aderenza alle misure preventive riportate nella Direttiva (in particolare il divieto di incappucciare gli aghi e la formazione specifica degli operatori), anche se con necessità di implementare ulteriormente l'utilizzo di strumenti di sicurezza [39]. Ulteriori studi saranno necessari per valutare la situazione negli altri Ospedali italiani, ma è evidente come il tema della sicurezza nell'esecuzione dei prelievi emocolturali abbia una significativa rilevanza epidemiologica e necessiti di essere affrontato con le corrette misure procedurali e di formazione del personale sanitario.

Inoculo dei flaconi e trasporto dei campioni

Il **volume di sangue immesso in ogni flacone** per emocoltura rappresenta ancora una volta una variabile critica per la resa diagnostica dell'esame. La necessità di inoculare la giusta quantità di sangue deriva dalle numerose sostanze presenti nel sangue umano in grado di inibire la crescita microbica (complemento, lisozima, fagociti, anticorpi ecc.): per ridurre le concentrazioni di questi fattori e minimizzare la loro attività inibitoria, il sangue dovrebbe essere diluito nel terreno di coltura con un rapporto compreso tra 1:5 e 1:10 [7]. In generale viene raccomandato di immettere circa 8 ml di sangue per flacone, senza superare però i 10 ml [11]. Anche nei casi di problemi legati al prelievo venoso, il volume di sangue inoculato non dovrebbe essere inferiore a 5 ml, mentre va ricordato che volumi eccessivi (>10 ml) possono portare a risultati falsi positivi o falsi negativi. Il mantenimento delle bottiglie in posizione verticale può rappresentare un metodo utile per assicurare che venga inoculata la giusta quantità di sangue [6,11].

Come discusso sopra, viene attualmente raccomandato di **inoculare almeno 4 flaconi** (2 per gli anaerobi e 2 per gli aerobi), tuttavia **in assenza di difficoltà tecniche o altre problematiche l'inoculo di 6 flaconi può essere considerato ottimale** ai fini diagnostici. Rimane ancora aperta la questione dell'utilizzo di terreni selettivi per la coltura dei miceti: le linee guida italiane AMCLI (*Associazione Microbiologi Clinici Italiani*) non riconoscono evidenze scientifiche sufficienti per l'uso di terreni selettivi per i funghi, che tra l'altro richiedono tempi di lavorazione più lunghi, in aggiunta al set aerobio/anaerobio per le ricerche di routine, ma nel caso di indagini per pazienti immunodepressi/oncoematologici potrebbe risultare

utile l'aggiunta di tali flaconi per selezionare l'eventuale presenza di miceti mascherata da una sovrainfezione batterica. Secondo le stesse linee guida, invece, i terreni contenenti resine potrebbero supportare meglio la crescita di stafilococchi (inclusi i contaminanti) e di miceti [11]. Inoltre, essi possono essere utili per aumentare l'identificazione di microrganismi dal sangue di pazienti in trattamento con antibiotici [7].

Il trasporto dei flaconi inoculati al laboratorio per l'incubazione e la relativa **tempistica** sono parte integrante della corretta esecuzione dell'esame e coinvolgono aspetti tecnici e organizzativi. Tutti i microbi crescono, si moltiplicano e muoiono molto rapidamente: se ognuno di questi eventi accade durante il prelievo, il trasporto o la conservazione del campione, i risultati dell'analisi saranno compromessi e la loro interpretazione può essere errata. L'attenzione alla gestione pre-analitica dei campioni microbiologici, in particolare per quanto riguarda il loro arrivo in laboratorio il più presto possibile dopo il prelievo, è quindi critica per l'accuratezza del test [8].

Secondo le linee guida, i flaconi dovrebbero essere incubati immediatamente e comunque entro 1 ora dal prelievo, poiché eventuali ritardi possono ritardare o impedire la crescita microbica. Nell'attesa del trasporto in laboratorio, i flaconi di emocoltura vanno conservati a temperature ottimali, non elevate (non superiori ai 30 °C) e mai refrigerati a 4 °C o congelati [7,11]. In alcune linee guida viene riportata la possibilità, in casi particolari, di mantenere i flaconi a temperatura ambiente fino a un massimo di 16-18 ore, sebbene sia sottolineato come la lunga permanenza all'esterno dei sistemi di incubazione automatica possa causare una mancata

positivizzazione del flacone da parte dello strumento, in quanto la crescita microbica potrebbe aver già raggiunto la fase stazionaria fuori dal sistema e quindi non essere più rilevabile, e per una possibile sofferenza microbica, con conseguente mancata crescita dei microrganismi [11]. Il rispetto dei tempi ottimali richiede una adeguata organizzazione dei reparti, che consenta l'invio dei campioni in Microbiologia appena eseguiti i prelievi (evitando di avere una sola "spedizione" giornaliera, per esempio in serata). Queste problematiche possono essere particolarmente evidenti nei reparti di PS, che come già richiamato precedentemente svolgono un ruolo determinante nell'identificazione dell'agente eziologico prima dell'inizio della terapia antibiotica. In questi Reparti, e dovunque non sia possibile

garantire l'invio entro i tempi ottimali e nelle strutture ospedaliere che non posseggono un servizio di Microbiologia attivo h24 e 7 giorni su 7 (molto rari in Italia), può essere considerato l'uso di incubatori delocalizzati. Utilizzando questo tipo di approccio, è stato dimostrato un vantaggio temporale significativo in termini di ottenimento di un risultato microbiologico e di inizio di una terapia antibiotica appropriata [40]. Una soluzione alternativa riportata da alcuni autori è quella del posizionamento di un incubatore al di fuori del laboratorio, per permettere l'incubazione diretta dei flaconi al di fuori degli orari di apertura del laboratorio stesso [41]. In entrambi i casi, sono necessarie un'adeguata formazione e la sensibilizzazione del personale del reparto che esegue le emocolture.

3. CORRETTE PROCEDURE DI ESECUZIONE E TRASPORTO DEL PRELIEVO PER EMOCOLTURA

Come evidenziato nella discussione sui diversi aspetti procedurali dell'esecuzione di emocolture, al fine di:

- ottenere una diagnosi rapida e accurata
- evitare errori diagnostici legati a falsi positivi e negativi

è essenziale che l'intero processo, dalla preparazione ed esecuzione del prelievo, alla conservazione e trasporto dei campioni, venga dettagliatamente standardizzato e correttamente eseguito.

Di seguito, una **guida pratica** per l'esecuzione corretta delle diverse fasi dell'esame emoculturale.

► PREPARAZIONE AL PRELIEVO

RACCOMANDAZIONI

- **I prelievi per emocoltura devono essere eseguiti da operatori sanitari, possibilmente anche in coppia, esperti e competenti nelle diverse fasi dell'intera procedura.**

Idealmente, sull'esempio dei Paesi anglosassoni, andrebbe promossa la formazione di team infermieristici dedicati per l'esecuzione delle emocolture (sull'esempio dei "PICC team"). Quando questo non è possibile, occorre promuovere un'adeguata formazione dell'intero personale infermieristico.

- **L'intera procedura deve essere attentamente standardizzata e registrata.**

È auspicabile che ogni struttura sanitaria definisca un Protocollo da seguire, integrante una checklist completa di tutti i passaggi da compiere. Tutte le emocolture eseguite devono essere documentate nella cartella clinica del paziente, registrando data, ora, sede del prelievo e indicazioni [6].

- **Il prelievo va organizzato con cura, tramite la preparazione e il controllo di tutto il materiale necessario su un carrello, su telino sterile (Tabella 3).**

- **Subito prima del prelievo, l'operatore deve procedere a un'accurata igiene delle mani, effettuando l'antisepsi con un preparato idroalcolico e indossare guanti monouso.**

È importante ricordare che l'uso di guanti non rappresenta una procedura alternativa alla corretta igiene delle mani. L'igiene delle mani deve essere eseguita (preferibilmente tramite frizione antisettica con gel idroalcolico) prima che i guanti vengano indossati e immediatamente dopo la loro rimozione.

L'uso di guanti **sterili** non è strettamente necessario. Possono essere utilizzati guanti monouso **non sterili** della giusta misura, purché venga fatta molta attenzione a non toccare nuovamente la parte identificata per il prelievo dopo l'esecuzione dell'antisepsi (ad es. per palpare la vena da pungere).

- **Il campione di sangue per emocoltura deve, come regola generale, essere prelevato da una vena periferica, evitando di utilizzare prelievi da cannule periferiche o cateteri centrali preesistenti (ad es. port-a-cath o CVC), gravati da un maggior rischio di contaminazioni.**

Tuttavia, vi sono situazioni cliniche, specie in ambito di Terapia Intensiva o ematologico, in cui può risultare difficile o impossibile accedere a una vena periferica o ottenere un volume di sangue adeguato: in questi casi, qualora venga utilizzato un catetere periferico o centrale preesistente occorre prestare la necessaria cautela nell'interpretazione dei risultati. Un sito venoso adeguato deve essere identificato prima di procedere all'antisepsi della cute. In mancanza di un accesso venoso periferico adeguato è possibile anche utilizzare **sangue arterioso**, che non presenta svantaggi dimostrati rispetto a quello venoso in termini di contaminazione e sensibilità.

Un prelievo da catetere, sempre in associazione con un prelievo venoso periferico, possibilmente controlaterale, deve essere eseguito nei casi di **sospetta batteriemia o fungemia associata al catetere** (CR-BSI). In questi casi, due set di emocolture devono essere ottenuti nello stesso momento, una da prelievo periferico e una da catetere, e adeguatamente marcate con la fonte del prelievo. Diversi metodi microbiologici sono stati sviluppati per interpretare i risultati ottenuti e confermare o meno la presenza di batteriemia o fungemia associata al catetere (Tabella 4) [7,11].

Tabella 3. Preparazione del materiale per prelievo emoculturale

MATERIALE PER EMOCOLTURA DA VENA PERIFERICA
▪ Dispositivo monouso per l'antisepsi della cute a base di clorexidina gluconato 2% in alcool isopropilico 70%, preferibilmente registrato come farmaco
▪ Butterfly di sicurezza e camicia per prelievo
▪ Terreni di coltura per aerobi, anaerobi ed eventualmente miceti
▪ Laccio emostatico
▪ Garze non sterili
▪ Dispositivi di protezione individuale (mascherina, guanti sterili e non, schermo facciale nel caso sia possibile la generazione di schizzi di sangue, particolarmente nel caso di raccolta di un campione di sangue arterioso)
▪ Contenitori per rifiuti ospedalieri a rischio infettivo (incluso quello per lo smaltimento dei taglienti)

Tabella 4. Diagnosi d'infezione correlata al catetere basata sull'uso di emocolture comparative [11]

RISULTATI DELLE EMOCOLTURE		INTERPRETAZIONE
Isolamento di uno stesso ceppo da CVC e vena periferica	Carica o tempi di crescita significativi	Fortemente suggestivo di infezione CVC-correlata, in assenza di altre fonti di infezione
	Carica o tempi di crescita non significativi	Suggestivo per possibile infezione CVC-correlata, in assenza di altre fonti di infezione
Positiva solo da CVC		Inconclusivo per infezione CVC-correlata. Possibile colonizzazione del catetere o contaminazione durante la raccolta
Positiva solo da vena periferica		Inconclusivo per infezione CVC-correlata. Suggestivo però in caso di isolamento di <i>S. aureus</i> o <i>Candida</i> spp., in assenza di altre fonti di infezione
Negativa da CVC e da vena periferica		Infezione catetere-correlata: improbabile

► ANTISEPSI DELLA CUTE

L'antisepsi della cute al momento del prelievo deve essere eseguita in maniera rigorosa, al fine di evitare la contaminazione del campione e la conseguente alterazione dell'esito dell'esame. Un tasso di contaminazioni delle emocolture del 3% è considerato generalmente il

massimo valore accettabile [8]. Il laboratorio di Microbiologia di ogni struttura sanitaria dovrebbe analizzare i dati di contaminazione delle emocolture a intervalli temporali fissi (ad es. ogni 6 mesi) e discuterli con il team clinico, se necessario.

RACCOMANDAZIONI

- **Come indicato dalle linee guida e validato dalla letteratura, l'antisepsi della cute deve essere eseguita utilizzando clorexidina 2% in alcool isopropilico 70%.**

Il sito prescelto va disinfettato operando uno *scrubbing* della cute di 6-7 cm di diametro per 30", attendendo poi circa 30" perché l'antisettico si asciughi.

Nei (rari) pazienti allergici alla clorexidina può essere utilizzato iodopovidone 10% per 120". L'uso di clorexidina, inoltre, non è raccomandato nei neonati con meno di 2 mesi di età.

Nei casi in cui vengano utilizzati per il prelievo cateteri venosi, periferici e centrali, occorre fare grande attenzione anche alla disinfezione di questi strumenti, utilizzando un prodotto specifico ad analoga composizione (clorexidina 2% in alcool isopropilico 70%) per la pulizia accurata delle valvole. Queste dovrebbero essere trattate per un minimo di 30" e lasciate asciugare prima di utilizzare il sistema.

- **È consigliabile l'uso di dispositivi monouso sterili preferibilmente registrati come farmaci per evitare la contaminazione dello stesso antisettico.**

L'utilizzo di tali sistemi porta diversi vantaggi in termini di standardizzazione, dosaggio esatto, sterilità e azione meccanica, e quindi di maggiore efficacia dell'antisepsi. Con l'uso di questi dispositivi è stata dimostrata una riduzione significativa delle contaminazioni delle emocolture [31].

- **Non è necessaria la pulizia della cute trattata con clorexidina dopo l'esecuzione del prelievo.**

- **Va ricordato che il tappo dei flaconi non è sterile e che anche questo deve essere disinfettato prima dell'inoculo.**

Per la disinfezione del tappo dei flaconi può essere utilizzato un prodotto specifico avente composizione analoga all'antisettico impiegato per la cute (clorexidina 2% in alcool isopropilico 70%) o solo alcool isopropilico 70%.

Tabella 5. Pratiche corrette per la prevenzione delle infezioni (modificata da [35])

SI	NO
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Eseguire un'attenta igiene delle mani (con acqua e sapone o frizionamento con alcool), inclusi i polsi e gli spazi fra le dita, per almeno 30 secondi 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Non scordarsi l'igiene delle mani
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Utilizzare un paio di guanti monouso non sterili per ogni procedura o paziente 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Non usare lo stesso paio di guanti per più di un paziente ▪ Non lavare i guanti per poterli riutilizzare
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Disinfettare la cute al sito del prelievo prima di eseguire la procedura 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Non toccare il sito del prelievo dopo averlo disinfettato
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Eliminare immediatamente il dispositivo usato per il prelievo in un contenitore per taglienti 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Non lasciare un ago non protetto fuori dal contenitore per rifiuti taglienti
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Chiudere il contenitore per rifiuti taglienti con un coperchio adeguato 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Non riempire eccessivamente il contenitore per taglienti
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Posizionare provette e flaconi per esami di laboratorio in un contenitore resistente prima di trasferire il campione di sangue 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Non iniettare sangue in una provetta

► VOLUME DI SANGUE DA PRELEVARE

Il volume di sangue che viene prelevato per ogni set di emocolture (indicando con questo termine tutti i flaconi che vengono inoculati con un singolo prelievo perife-

rico o da catetere) rappresenta la variabile più importante per l'esito diagnostico dell'esame nei pazienti con sospetta sepsi.

RACCOMANDAZIONI

- **Il volume di sangue da prelevare per ogni set deve essere pari ad almeno 20-30 ml, da suddividere nei diversi flaconi (almeno uno per germi aerobi e uno per germi anaerobi). Il prelievo emoculturale completo si compone di almeno due set.**

Nonostante la sua importanza, questo parametro nella pratica viene assai poco rispettato, in particolare nei pazienti in cui si hanno problemi nell'ottenere un campione di sangue periferico, con conseguente arrivo in laboratorio di flaconi non correttamente riempiti e problemi significativi nell'interpretazione microbiologica dei risultati.

- **Nella suddivisione del prelievo nei diversi flaconi, vanno riempiti prima quelli per i germi aerobi e poi quelli per i germi anaerobi, ricordando anche che in caso di più prelievi con la stessa venipuntura l'emocoltura deve essere eseguita per prima.**

- **Ogni flacone dovrebbe essere inoculato con un volume ottimale di sangue pari a 8-10 ml. In caso di problemi legati al prelievo venoso non vanno comunque inoculati meno di 5 ml di sangue.**

Un riempimento inadeguato dei flaconi pone problemi diagnostici rilevanti. Volumi insufficienti possono provocare risultati falsi negativi o ritardi nella crescita dei microrganismi. Un sovra-riempimento del flacone, d'altra parte, può indurre falsi negativi (per formazione di piccoli coaguli che ingabbiano il microrganismo) o falsi positivi (per alti livelli di leucociti).

Allo scopo di ottenere un volume di inoculo ottimale, è importante segnare il volume richiesto sul flacone e mantenerlo in posizione verticale durante l'esecuzione del prelievo (ad es. evitare di poggiare il flacone in orizzontale sul letto del paziente).

Il corretto volume di riempimento va controllato soprattutto dall'operatore che esegue il prelievo in reparto, ma un ulteriore controllo, almeno visivo, deve essere operato dall'Unità di Microbiologia prima dell'incubazione del campione.

- **Complessivamente, per ogni paziente con sospetta sepsi dovrebbero essere inoculati almeno 4 flaconi (2 per germi anaerobi e 2 per germi aerobi). Ove possibile, l'inoculo di 6 flaconi può essere considerato ottimale.**

Nei casi in cui non vi siano difficoltà a eseguire prelievi venosi o altre problematiche, l'inoculo di 6 flaconi può essere considerato ottimale e permette comunque di raggiungere un volume di sangue adeguato.

Circa i **tempi dei prelievi**, sono stati descritti due differenti approcci con efficacia comparabile: il primo è l'approccio standard (*multi-sampling strategy*) basato sull'esecuzione di almeno 2 set di prelievi a distanza ravvicinata (10-12 minuti l'uno dall'altro), il secondo (*single-sampling strategy*), di più recente introduzione, è basato sull'esecuzione di un unico prelievo per emocoltura con inoculo contemporaneo di tutti i flaconi (4-6 in totale) [14,16].

Il secondo approccio presenta i vantaggi di poter raccogliere un volume di sangue adeguato con un unico prelievo e con riempimento contemporaneo di almeno 4 flaconi, è associato a una riduzione dei rischi di contaminazione cutanea legati a più prelievi, diminuito *workflow* e diminuiti rischi di esposizione a patogeni, e presenta inoltre la possibilità di iniziare una terapia antibiotica empirica più precocemente senza dover attendere gli altri prelievi di emocoltura. **In generale l'approccio della *single-sampling strategy* sembra da preferirsi in alcune tipologie di pazienti, quali quelli della Terapia Intensiva.**

I prelievi vanno eseguiti nei pazienti con febbre o comunque con sospetto clinico di sepsi, in qualunque momento, senza necessità di attendere la comparsa di brivido e/o picco febbrile e possibilmente prima dell'inizio della terapia antibiotica.

Nei pazienti con **endocardite** subacuta o con altre condizioni cliniche particolari (ad es. infezioni ossee), viene raccomandata l'esecuzione di tre set di emocolture, a intervalli di circa 15-30 minuti, e in caso di negatività di altri 3 set dopo 24 ore.

► TECNICA E SICUREZZA DEL PRELIEVO

Per l'esecuzione del prelievo per emocoltura devono essere utilizzati materiali e tecniche che garantiscano la sicurezza dell'operatore, tenendo presente che gli incidenti da puntura accidentale con aghi rappresentano una quota importante degli infortuni registrati in ambiente ospedaliero [36].

In particolare, l'ambito del prelievo di campioni emoculturali è molto a rischio poiché il paziente è probabilmente portatore di patogeni che possono essere trasmessi all'operatore ed è pertanto imperativo adottare dispositivi di sicurezza, anche di ultima generazione.

RACCOMANDAZIONI

- **Come da raccomandazioni internazionali e Direttiva europea, per i prelievi emoculturali deve essere evitato l'uso di siringhe e vanno adottati dispositivi che garantiscano la sicurezza del paziente e dell'operatore sanitario: set per prelievo con ago a farfalla dotato di meccanismo di sicurezza e adattatore per prelievo multiplo per la raccolta del sangue direttamente nei flaconi.**

Occorre ricordare che la pratica di incappucciare i taglienti è proibita dal 1990 e bandita dalla Direttiva 2010/32/UE e quindi dal Decreto 19/2015. Al termine del prelievo ematico, attivare i meccanismi di sicurezza ed eliminare il set da prelievo nell'apposito contenitore per i rifiuti taglienti.

Nella Tabella 6 viene riportato l'elenco completo degli importanti criteri guida per la corretta definizione e valutazione di un dispositivo per la prevenzione delle punture accidentali (NDPS), fissati da numerose Agenzie internazionali, dal Governo della Comunità autonoma di Madrid e dall'INAIL.

Tabella 6. Caratteristiche dei dispositivi di sicurezza suggerite dalle Agenzie internazionali

CRITERI GUIDA PER LA CORRETTA DEFINIZIONE E VALUTAZIONE DI UN DISPOSITIVO PER LA PREVENZIONE DELLE PUNTURE ACCIDENTALI (NDPS)
▪ Il meccanismo di protezione deve essere preferibilmente attivabile in modo automatico (innescato attivo o passivo) e, comunque, con una sola mano
▪ Le mani dell'operatore devono sempre trovarsi dietro la parte acuminata del dispositivo
▪ L'attivazione del meccanismo di protezione deve essere la più precoce possibile
▪ Il dispositivo deve essere affidabile, di uso facile e intuitivo
▪ Il meccanismo di protezione deve creare una barriera efficace, permanente e irreversibile tra la parte acuminata del dispositivo e l'operatore
▪ Il meccanismo di protezione non può essere disattivato e deve assicurare la sua funzione protettiva anche durante e dopo lo smaltimento
▪ Il dispositivo deve essere dotato di un segnale (udibile e/o visibile) che consenta di verificare l'avvenuta attivazione del meccanismo di protezione
▪ Il meccanismo di protezione deve essere una parte integrante del dispositivo e non un accessorio
▪ L'utilizzo del dispositivo non deve generare rischi aggiuntivi per la sicurezza (ad es. rischio di esposizione mucocutanea)
▪ Il dispositivo non deve in alcun modo compromettere la qualità dell'intervento e la sicurezza per il paziente

► TERRENO DA UTILIZZARE

Accanto all'indicazione di utilizzare sempre due tipi di terreno, uno per **germi aerobi** e uno per **germi anaerobi**, rimane facoltativo l'uso di un 3° flacone per i **miceti** e di flaconi con **terreni speciali** (arricchiti con sostanze che

migliorano il recupero microbico assorbendo le sostanze antimicrobiche e che lisano i globuli bianchi per liberare i microrganismi nella miscela).

RACCOMANDAZIONI

- **Nella maggioranza dei pazienti, l'utilizzo di un 3° flacone specifico per miceti non è necessario poiché molti funghi crescono anche nei flaconi per aerobi o anaerobi, con tempi di lavorazione inferiori (5 giorni verso 14 giorni).**

Nei pazienti a rischio di *Candida*, in particolare, l'utilizzo di un 3° flacone specifico per i lieviti può essere superfluo: molte specie di *Candida* crescono bene nei terreni per aerobi, mentre *C. glabrata* cresce in quelli per anaerobi. Tuttavia, un flacone specifico per i funghi può essere utile in casi particolari, quali i pazienti immunocompromessi (pazienti ematologici, con HIV ecc.) a rischio di infezione da funghi filamentosi (ad es. *Aspergillus*, *Fusarium*).

- **Nonostante le emocolture non debbano essere eseguite dopo l'inizio della terapia antibiotica, si rileva che è ancora una pratica molto in uso, così come spesso il volume di sangue da prelevare non è adeguato alle buone pratiche sopra descritte (volumi incompleti). Pur ribadendo che sarebbe opportuno seguire le buone pratiche ed evitare quindi queste situazioni, l'utilizzo di flaconi con resine rappresenta una valida pratica per garantire una corretta analisi del test emoculturale anche in queste condizioni.**

I terreni addizionati con resine possono supportare meglio la crescita di alcuni microrganismi (ad es. stafilococchi) e garantire la possibilità di un riscontro diagnostico anche nelle situazioni in cui il volume di sangue inoculato non è adeguato alle buone pratiche sopra descritte.

Una valida alternativa all'utilizzo di terreni contenenti resine può essere rappresentato dal rigoroso rispetto del rapporto di diluizione sangue:brodo (classicamente 1:5), sufficiente, in genere, a diluire gli agenti antimicrobici.

► TEMPISTICHE DI TRASPORTO DEL CAMPIONE

Le tempistiche di trasporto dei flaconi inoculati al Laboratorio per l'incubazione rappresentano un fattore critico per la corretta esecuzione dell'esame, poiché

eventuali ritardi oltre il limite massimo, stabilito generalmente pari a 1 ora, possono ritardare o impedire la crescita microbica.

RACCOMANDAZIONI

- **I flaconi inoculati per emocoltura devono essere inviati immediatamente al laboratorio di Microbiologia.**
- **Un intervallo massimo di 1 ora fra esecuzione del prelievo e incubazione del campione può essere considerato come ottimale. Il limite massimo accettabile è di 4 ore: oltre questo lasso di tempo il significato del test è altamente compromesso.**

Per poter seguire queste raccomandazioni, le strutture sanitarie devono mettere in atto un'organizzazione adeguata, che preveda la possibilità di trasportare i flaconi in Microbiologia a intervalli di tempo ravvicinati. Non è ad esempio accettabile la pratica di accumulare i campioni emocolturali eseguiti nel corso della giornata e inviarli tutti insieme in laboratorio a fine giornata.

- **I flaconi inoculati per emocoltura, nell'attesa dell'invio in laboratorio, devono essere conservati a temperature ottimali (non superiori ai 30 °C) e non refrigerati o congelati.**
- **Nelle realtà sanitarie in cui non è possibile garantire l'invio dei flaconi in Microbiologia entro 1 ora, è auspicabile l'uso di incubatori delocalizzati.**

Incubatori delocalizzati possono rappresentare una buona risorsa in reparti quali i PS e le Terapie Intensive, che manifestano spesso criticità in questa fase della procedura, e nelle strutture ospedaliere che non posseggono un servizio di Microbiologia attivo h24 e 7 giorni su 7. Sebbene una disponibilità sulle 24 ore sia molto rara in Italia, va ribadito che una apertura dei laboratori di Microbiologia di sole 6 ore al giorno non deve essere considerata compatibile con il servizio svolto: tutti i servizi di Microbiologia dovrebbero garantire orari di apertura di almeno 12 ore al giorno, con alcuni Centri principali aperti h24.

Molti laboratori di Microbiologia in Italia sono accorpati all'interno del laboratorio di Biochimica/Patologia clinica, garantendo così orari di servizio più lunghi, ma ponendo il problema della competenza microbiologica del personale che provvede alla gestione delle emocolture. Questa pratica può rappresentare una criticità, specie in assenza di una formazione specifica del personale del laboratorio, e contrastare con la competenza esclusiva del microbiologo clinico necessaria in tutte le fasi della procedura (dalla lettura dell'esame microscopico Gram fino alla refertazione).

Buona pratica per l'esecuzione di emocolture (bundle)

- Igiene delle mani
- Raccogliere tutto il materiale necessario e disporlo su un vassoio pulito (controllare la data di scadenza di tutti gli articoli da utilizzare)
- Segnare sui flaconi il volume di riempimento ottimale
- Indossare i guanti
- Applicare il laccio emostatico
- Eseguire l'antisepsi del sito prescelto per il prelievo con clorexidina 2% in alcool isopropilico 70% (applicatore sterile monouso) per 30"
- Lasciare asciugare per 30"
- Non ripalpare la vena (se la manovra è necessaria, indossare guanti sterili)
- Rimuovere il tappo dal flacone per emocoltura e disinfettare (clorexidina 2% in alcool isopropilico 70% o alcool isopropilico 70%)
- Lasciare asciugare per 30"
- Eseguire il prelievo utilizzando un ago a farfalla di sicurezza con adattatore per la raccolta del sangue direttamente nei flaconi
- Il prelievo emoculturale completo si compone di almeno 4-6 flaconi (2-3 set)
- Mantenere il flacone verticale al di sotto del braccio del paziente
- Riempire ogni flacone con circa 10 ml di sangue (pazienti adulti), riempiendo prima il flacone per aerobi e poi quello per anaerobi
- Rimuovere il laccio emostatico appena il sangue incomincia a fluire o entro 2 minuti dall'applicazione
- Rimuovere i flaconi via via che vengono riempiti e agitarli delicatamente
- Attivare il sistema di sicurezza dell'ago utilizzato alla rimozione dalla vena
- Smaltire l'ago nell'apposito contenitore rigido per rifiuti taglienti
- Praticare l'emostasi con tampone asciutto
- Rimuovere i guanti ed effettuare l'igiene delle mani
- Segnalare sui flaconi tutte le informazioni necessarie (numero del campione, sito del prelievo, ora e data)
- Segnare l'esecuzione dell'emocoltura sulla cartella clinica del paziente
- Inviare immediatamente i flaconi in laboratorio
- Se disponibili, inserire immediatamente i flaconi negli incubatori delocalizzati

Modificata da [6].

4. CONCLUSIONI

Se il valore critico delle emocolture nella gestione clinica del paziente con una sospetta sepsi è innegabile, questo valore poggia sulla rapidità e accuratezza del referto microbiologico fornito. Per poter assicurare questo livello di qualità è necessario che i campioni microbiologici siano adeguatamente selezionati, prelevati e trasportati, un processo che prevede il coinvolgimento di diversi operatori sanitari, in grado di operare secondo buona pratica clinica all'interno di un team multidisciplinare. Come evidenziato in questo documento, il primo a considerare l'intero iter procedurale dal prelievo del campione alla sua incubazione, l'esecuzione corretta di una emocoltura prevede fasi diverse, ognuna delle quali deve essere eseguita correttamente al fine dell'ottimizzazione dell'analisi e dell'interpretazione.

Accanto alle figure professionali cliniche impegnate nel percorso diagnostico, mediche e infermieristiche, non deve essere dimenticato il ruolo del farmacista. Dal momento che la qualità e la disponibilità dei farmaci e dei dispositivi medici necessari per la corretta pratica emoculturale incidono innegabilmente sulla validità del test e che il farmacista ospedaliero è responsabile degli approvvigionamenti, della corretta conservazione e, assieme alle altre figure coinvolte, della scelta dei beni farmaceutici, diventa auspicabile accrescerne la consapevolezza anche in questo ambito. In generale, è innegabile la necessità di mettere in campo sforzi multidisciplinari e strategie a più livelli per migliorare la qualità e l'affidabilità del prelievo di sangue destinato all'emocoltura.

Nonostante l'esistenza di linee guida nazionali e internazionali, in numerose realtà sanitarie italiane esiste ancora un problema di adeguamento alle raccomandazioni in esse fornite. In molti reparti ospedalieri, l'esecuzione di emocolture è insufficiente in termini numerici e spesso non corretta, con una particolare criticità all'interno dei reparti di PS. Sebbene la maggioranza dei casi di sepsi grave provenga dalla comunità, rendendo quindi essenziale il coinvolgimento dei PS, carenze culturali (spesso si attende di trasferire il paziente in reparto, iniziando però una terapia antibiotica empirica) e organizzative (mancanza di laboratori di Microbiologia aperti 24 ore o, in alternativa, di incubatori delocalizzati che permettano di eseguire i prelievi in qualunque momento) rendono l'esecuzione di esami emoculturali subottimale in questo setting.

È evidente quindi che vi sia necessità di interventi operativi organizzativi e culturali in grado di apportare miglioramenti nella pratica clinica. In particolare per quanto riguarda gli aspetti culturali ed educazionali, sono auspicabili alcune azioni potenzialmente efficaci:

- diffusione e implementazione delle linee guida. Da questo punto di vista risulta particolarmente utile la produzione e la diffusione di documenti come il presente, che per la prima volta raccoglie nella stessa sede tutte le manovre operative che compongono l'esame emoculturale;
- interventi di comunicazione e formazione del personale medico e paramedico (stesura e diffusione di documenti autorevoli, corsi, ma anche formazione pratica al letto del paziente, riunendo tutte le diverse figure professionali coinvolte: medico, infermiere, microbiologo e altri);
- costituzione, all'interno delle strutture ospedaliere, di un *Sepsi Team* composto da infermiere, microbiologo clinico, infettivologo, che abbia competenza nel prelievo e, in un secondo step, nell'impostazione e nella revisione delle terapie, coinvolgendo le altre figure professionali (intensivista, clinico, farmacista ospedaliero ecc.).

Perché queste azioni possano essere messe in pratica, è essenziale la sensibilizzazione delle Direzioni Sanitarie e delle Società Scientifiche, che hanno il compito di organizzare corsi di formazione e iniziative educazionali, oltre che di fornire il quadro teorico e organizzativo necessario per una pratica clinica ottimale. Vanno sottolineate anche le problematiche medico-legali e di costi sanitari legate all'accuratezza e affidabilità degli esami emoculturali. La mancata corretta esecuzione di un'emocoltura può ad esempio portare a contenziosi legali e richieste di rimborsi. D'altra parte, un risultato falso positivo, con il conseguente aumento delle terapie antibiotiche e dei giorni di degenza, può tradursi in un aumento dei costi sanitari, ma anche in un'inutile e dannosa pressione selettiva, alla base dell'emergenza di resistenza antimicrobica.

Infine, è auspicabile un'estensione della sensibilizzazione sul problema della sepsi al di fuori dell'ambito strettamente sanitario, verso le istituzioni e verso i media e la popolazione generale. È noto, infatti, che l'80% degli

eventi settici insorge in comunità [4]: sensibilizzare ed educare al riconoscimento dei sintomi iniziali significa ridurre gli esiti infausti dovuti a interventi tardivi.

La sepsi è un problema globale, che necessita di essere adeguatamente considerato e affrontato con un approccio multidisciplinare. Per garantire l'efficacia clinica dell'emocoltura, esame diagnostico principe nelle infezioni del torrente circolatorio, e il miglior outcome possibile del paziente, è essenziale che il coinvolgimento

delle diverse figure professionali sia basato su una comunicazione costante e una stretta aderenza a percorsi condivisi. Questi aspetti della comunicazione e dell'aderenza a protocolli univoci rappresentano attualmente le problematiche principali e devono essere affrontati al fine di ottimizzare l'impatto clinico delle procedure diagnostiche e terapeutiche. Solo così sarà possibile ridurre il carico di morbidità e mortalità che ancora oggi la sepsi causa nella popolazione mondiale.

BIBLIOGRAFIA

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016;315:801-10.
2. Goto M, Al-Hasan MN. Overall burden of bloodstream infection and nosocomial bloodstream infection in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect* 2013;19:501-9.
3. Suarez De La Rica A, Gilsanz F, Maseda E. Epidemiologic trends of sepsis in western countries. *Ann Transl Med* 2016;4:325.
4. CDC. Making health care safer: Think sepsi. Time matters. *Vital Signs* 2016. Disponibile online: www.cdc.gov/vitalsigns/pdf/2016-08-vitalsigns.pdf (ultimo accesso: 29/03/2018).
5. Goglio A, Nicoletti P. Indagine nazionale sulle metodiche di emocoltura in Italia. *Microbiologia medica* 2004;19:1-13.
6. NHS. Taking blood cultures. A summary of best practice. Disponibile online: http://webarchive.nationalarchives.gov.uk/20120118171812/http://hcai.dh.gov.uk/files/2011/03/Document_Blood_culture_FINAL_100826.pdf (ultimo accesso: 29/03/2018).
7. CLSI. Principles and procedures for blood cultures; Approved Guideline. CLSI document M47-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2007.
8. Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM)(a). *Clin Infect Dis* 2013;57:e22-e121.
9. Theodorou VP, Papaioannou VE, Tripsianis GA et al. Procalcitonin and procalcitonin kinetics for diagnosis and prognosis of intravascular catheter-related bloodstream infections in selected critically ill patients: a prospective observational study. *BMC Infect Dis* 2012;12:247.
10. Shomali W, Hachem R, Chaftari AM et al. Can procalcitonin differentiate *Staphylococcus aureus* from coagulase-negative staphylococci in clustered gram-positive bacteremia? *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013;76:158-61.
11. AMCLI. Infezioni del torrente circolatorio. Proposta di percorso diagnostico presentato durante il XXXVII Congresso Nazionale AMCLI – Stresa, 5-8 ottobre 2008. Revisione: settembre 2014. Disponibile online: www.amcli.it/wp-content/uploads/2015/09/PDinfezionietorrentecircolatorioFONTANA2014.pdf (ultimo accesso: 29/03/2018).
12. Thompson RJ, Evans B, Southerland J. Collecting blood for culture. *Generalist Microbiology Tech Sample No.G-1*. American Society of Clinical Pathologists, 1991.
13. Bennett IL Jr., Beeson PB. Bacteremia: a consideration of some experimental and clinical aspects. *Yale J Biol Med* 1954;26:241-62.
14. Li J, Plorde JJ, Carlson LG. Effects of volume and periodicity on blood cultures. *J Clin Microbiol* 1994;32:2829-31.
15. Kirn TJ, Weinstein MP. Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret. *Clin Microbiol Infect* 2013;19:513-20.
16. Lamy B, Dargere S, Arendrup MC et al. How to optimize the use of blood cultures for the diagnosis of bloodstream infections? A state-of-the art. *Front Microbiol* 2016;7:697.
17. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W et al. Surviving sepsis campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med* 2017;43:304-77.
18. Cardoso T, Carneiro AH, Ribeiro O et al. Reducing mortality in severe sepsis with the implementation of a core 6-hour bundle: results from the Portuguese community-acquired sepsis study (SACiUCI study). *Crit Care* 2010;14:R83.
19. Ortiz E, Sande MA. Routine use of anaerobic blood cultures: are they still indicated? *Am J Med* 2000;108:445-7.
20. Murray PR, Traynor P, Hopson D. Critical assessment of blood culture techniques: analysis of recovery of obligate and facultative anaerobes, strict aerobic bacteria, and fungi in aerobic and anaerobic blood culture bottles. *J Clin Microbiol* 1992;30:1462-8.
21. Riley JA, Heiter BJ, Bourbeau PP. Comparison of recovery of blood culture isolates from two BacT/ALERT FAN aerobic blood culture bottles with recovery from one FAN aerobic bottle and one FAN anaerobic bottle. *J Clin Microbiol* 2003;41:213-7.
22. Washington JA, 2nd. Blood cultures: principles and techniques. *Mayo Clin Proc* 1975;50:91-8.

23. Weinstein MP, Reller LB, Murphy JR, Lichtenstein KA. The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. I. Laboratory and epidemiologic observations. *Rev Infect Dis* 1983;5:35-53.
24. Cockerill FR, 3rd, Wilson JW, Vetter EA et al. Optimal testing parameters for blood cultures. *Clin Infect Dis* 2004;38:1724-30.
25. Malani A, Trimble K, Parekh V et al. Review of clinical trials of skin antiseptic agents used to reduce blood culture contamination. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007;28:892-5.
26. Caldeira D, David C, Sampaio C. Skin antiseptics in venous puncture-site disinfection for prevention of blood culture contamination: systematic review with meta-analysis. *J Hosp Infect* 2011;77:223-32.
27. Washer LL, Chenoweth C, Kim HW et al. Blood culture contamination: a randomized trial evaluating the comparative effectiveness of 3 skin antiseptic interventions. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2013;34:15-21.
28. Loveday HP, Wilson JA, Pratt RJ et al. epic3: national evidence-based guidelines for preventing healthcare-associated infections in NHS hospitals in England. *J Hosp Infect* 2014;86 Suppl 1:S1-70.
29. Casey AL, Badia JM, Higgins A et al. Skin antiseptics: it's not only what you use, it's the way that you use it. *J Hosp Infect* 2017;96:221-2.
30. Stonecypher K. Going around in circles: is this the best practice for preparing the skin? *Crit Care Nurs Q* 2009;32:94-8.
31. Madeo M, Barlow G. Reducing blood-culture contamination rates by the use of a 2% chlorhexidine solution applicator in acute admission units. *J Hosp Infect* 2008;69:307-9.
32. Fuller C, Savage J, Besser S et al. "The dirty hand in the latex glove": a study of hand hygiene compliance when gloves are worn. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011;32:1194-9.
33. Eveillard M, Guilloteau V, Kempf M et al. Impact of improving glove usage on the hand hygiene compliance. *Am J Infect Control* 2011;39:608-10.
34. Rupp ME, Cavalieri RJ, Marolf C, Lyden E. Reduction in blood culture contamination through use of initial specimen diversion device. *Clin Infect Dis* 2017;65:201-5.
35. WHO. Guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy, 2010. Disponibile online: www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0005/268790/WHO-guidelines-on-drawing-blood-best-practices-in-phlebotomy-Eng.pdf?ua=1 (ultimo accesso: 29/03/2018).
36. AIREPSA. Indagine dell'Associazione Italiana Responsabili Servizi Prevenzione e Protezione Aziende Sanitarie (AIREPSA) 2002, 2004, 2006.
37. Puro V, De Carli G, Segata A et al. Update on the subject of epidemiology of blood-transmitted occupational infections. *G Ital Med Lav Ergon* 2010;32:235-9.
38. Castella A, Vallino A, Argentero PA, Zotti CM. Preventability of percutaneous injuries in healthcare workers: a year-long survey in Italy. *J Hosp Infect* 2003;55:290-4.
39. Di Bari V, De Carli G, Puro V, Gruppo Collaborativo dello Studio Italiano sul Rischio Occupazionale da HIVEAPaTE. Prevention of accidental needle sticks before the Directive 2010/32/EU in a sample of Italian hospitals. *Med Lav* 2015;106:186-205.
40. Bruins MJ, Wolfhagen MJHM. Direct entry of blood culture vials at the emergency department leads to earlier results. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID) – Amsterdam, 9-12 aprile 2016.
41. Kerremans JJ, van der Bij AK, Goessens W et al. Needle-to-incubator transport time: logistic factors influencing transport time for blood culture specimens. *J Clin Microbiol* 2009;47:819-22.

APPENDICE – FARMACI VS BIOCIDI

Inquadramento della tematica

Il mercato degli antisettici e dei disinfettanti è ampio e piuttosto differenziato, soprattutto in relazione alla

qualificazione normativa di produzione e immissione sul mercato.

DEFINIZIONI

- **Antisettico:** sostanza organica o inorganica utilizzata sui tessuti viventi per prevenire o arrestare l'azione e la crescita dei microrganismi patogeni.
- **Disinfettante:** agente chimico ad attività antimicrobica destinato all'uso su oggetti inanimati o superfici (strumentali o ambientali).

L'Agenzia Chimica Europea (*European Chemicals Agency*, ECHA) ha predisposto una guida per l'applicazione del Regolamento europeo in materia di biocidi (BPR-Regolamento UE 528/2012). Tale indicazione specifica molto chiaramente che i prodotti per l'antisepsi della cute lesa (esempio, l'antisepsi da ferita chirurgica) o per l'antisepsi della cute integra prima di un trattamento medico invasivo (ad esempio antisepsi pre-operatoria della cute prima di un intervento chirurgico o prima dell'applicazione di un accesso vascolare) devono essere sempre specialità medicinali, e quindi ricadere sotto la regolamentazione della Direttiva 2001/83/CE. Diversi Paesi europei, come Belgio, Olanda, Regno Unito e Germania, riconoscendo l'importanza dell'antisepsi della cute per garantire la sicurezza dei pazienti, hanno addirittura anticipato tali indicazioni dell'ECHA inquadrando gli antisettici usati sulla cute prima di un intervento chirurgico nell'ambito delle specialità medicinali [1].

Secondo la normativa attuale, in Italia devono essere registrati come "specialità medicinali", e come tali de-

vono rispondere al D.Lgs. n. 219/2006 e s.m.i. (di recepimento della Direttiva 83/2001) ed essere sottoposti ai relativi controlli di produzione e all'autorizzazione ministeriale all'immissione in commercio (AIC), gli antisettici destinati all'uso sulla cute lesa e sulle mucose. Possono invece essere registrati presso il Ministero della Salute anche come "presidi medico-chirurgici" gli antisettici da utilizzare sulla cute integra (ad es. per il lavaggio delle mani del personale e per la preparazione del sito chirurgico) e i disinfettanti per uso ambientale. Sono infine registrati come "dispositivi medici", e devono riportare la relativa marcatura di conformità alla Direttiva CEE n. 93/42 e s.m.i. (dal 26 maggio 2020 verrà abrogata dal Regolamento Dispositivi Medici – MDR – UE 2017/745), i disinfettanti per dispositivi medici e/o apparecchiature.

Tra un farmaco e un biocida esistono, tuttavia, differenze fondamentali che riguardano diversi aspetti [2]:

FARMACI		BIOCIDI
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Gli studi clinici sono condotti in modo regolamentato in soggetti sani e in pazienti. ▪ L'efficacia, la sicurezza e la qualità di ogni singolo prodotto sono testate da una autorità competente. ▪ L'evidenza deve emergere nel corso dell'iter registrativo, considerati i benefici e i potenziali rischi del prodotto. ▪ Le linee guida scientifiche dell'EMA sull'efficacia clinica e la sicurezza dei medicinali per uso umano aiutano i richiedenti a preparare le domande di autorizzazione all'immissione in commercio. 	EVIDENZA DI QUALITÀ, SICUREZZA ED EFFICACIA	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Esperimenti o test a scopo di ricerca o sviluppo su un biocida non autorizzato o un principio attivo non approvato destinato esclusivamente all'uso in un biocida sono condotti secondo le condizioni stabilite nel BPR (Regolamento Biocidi).
<ul style="list-style-type: none"> ▪ La legislazione richiede che prodotti medicinali per uso umano fabbricati o importati nell'UE siano conformi alle linee guida sulla buona pratica di fabbricazione (Good Manufacturing Practice, GMP). ▪ Requisiti legislativi rigorosi relativi al sistema di gestione della qualità e sul sistema di assicurazione della qualità farmaceutica ecc. ▪ Produzione di prodotti medicinali soggetta a costante supervisione ufficiale e a un sistema di farmacovigilanza. ▪ Produzione di prodotti sterili soggetta a requisiti speciali che minimizzano i rischi di contaminazione microbiologica. 	FABBRICAZIONE E STERILITÀ	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Nessun requisito specifico richiesto per il processo di fabbricazione. ▪ Non è richiesta la sterilità e neppure alcun controllo microbiologico.
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Fornitori soggetti a controllo e audit secondo le GMP per verificare la conformità alle specifiche del materiale grezzo fornito e la conformità alle GMP. ▪ I fornitori sono definiti nel registro e soggetti all'approvazione e al controllo in caso di cambiamenti e devono indicare qualsiasi modifica all'Autorità competente e ai clienti che comprano il prodotto. 	CATENA DI DISTRIBUZIONE	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Nessun controllo dei fornitori del materiale grezzo richiesto. ▪ Per i co-formulanti non c'è alcuna indicazione specifica e può essere impiegato qualsiasi co-formulante, tuttavia per il principio attivo è richiesto l'acquisto dai fornitori elencati nell'art. 95 del BPR.
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Il Registro Comunitario elenca tutti i prodotti medicinali per uso umano e veterinario e i farmaci orfani che hanno ricevuto un'autorizzazione all'immissione in commercio attraverso la procedura centralizzata. ▪ Alcuni Stati Membri hanno istituito registri di prodotti medicinali autorizzati a livello nazionale. 	REGISTRO	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Registro dell'Unione per i prodotti biocidi.

Modificata da [2].

Nell'antisepsi cutanea, la sterilità della soluzione è un aspetto importante da considerare.

Nell'UE, la Direttiva sui Prodotti Medicinali e le disposizioni esistenti sulla sterilizzazione garantiscono la sterilità di tutti i prodotti medicinali [3].

Tuttavia, nelle soluzioni antisettiche non sterili la contaminazione da parte di alcuni batteri o spore può avvenire du-

rante il processo di produzione (contaminazione intrinseca), come ampiamente documentato in letteratura [4-8]. Nel 2007, solo negli Stati Uniti, sono state riportate oltre 40 epidemie e pseudo-epidemie a causa di antisettici contaminati [8]. In Spagna, lotti di soluzioni antisettiche (classificati come biocidi) hanno dovuto essere ritirati dal mercato perché contaminati [8].

Implicazioni

L'utilizzo di biocidi per scopi medici non solo contraddice le finalità delle disposizioni sui prodotti biocidi e medicinali, ma desta anche preoccupazioni da altri punti di

vista: sicurezza del paziente e dell'operatore, inquinamento ambientale e resistenza antimicrobica.

SICUREZZA DEI PAZIENTI

Biocidi e farmaci sono soggetti a vie regolatorie molto diverse, che conferiscono diversi standard in termini di sicurezza, efficacia e qualità. Ne consegue che usare prodotti biocidi come farmaci (i biocidi non hanno un'autorizzazione alla messa in commercio secondo le regole stringenti dei prodotti medicinali) può mettere a repentaglio la sicurezza del paziente.

Come evidenziato dalla Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA), ci sono rischi per la salute associati alla pratica e "usare il prodotto adeguatamente autorizzato per il suo uso specifico previsto, secondo le istruzioni d'uso del produttore, è il modo migliore per minimizzare il pericolo" [9]. Studi hanno dimostrato che i biocidi possono avere proprietà tossiche, cancerogene ed effetti nocivi sul sistema endocrino [10].

RESISTENZA ANTIMICROBICA

Il precedente Comitato Scientifico della Commissione Europea sui rischi per la salute emergenti e recentemente identificati (*European Commission Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks, SCENIHR*) ha sottolineato che, per preservare il ruolo dei biocidi nel controllo delle infezioni e nell'igiene, è fondamentale prevenire l'emergenza della resistenza batterica e della resistenza incrociata attraverso il loro impiego appropriato e prudente [11]. Hanno aggiunto: "Dovrebbe essere enfatizzata la necessità dell'uso adeguato di disinfettanti e antisettici e gli operatori sanitari dovrebbero essere istruiti a rispettare politiche e pratiche chiare e concordate, evitando l'uso non corretto e non necessario dei biocidi" [11].

In altre parole: nel caso specifico dell'antisepsi cutanea prima di trattamenti medici, l'uso dei biocidi deve essere limitato a quei casi in cui sia strettamente richiesto e non sia possibile usare un'alternativa più adatta, quale è il farmaco.

Inoltre, come spiegato nella sezione introduttiva di questo documento, l'uso improprio degli antibiotici dopo colture ematiche con esito falso positivo non solo espone i pazienti al rischio di eventi avversi seri senza beneficio clinico, ma contribuisce all'aumentata resistenza antimicrobica.

SICUREZZA OCCUPAZIONALE

Gli operatori sanitari possono essere esposti a biocidi direttamente (esposizione primaria, cioè il lavoratore/operatore usa il biocida sulla propria cute) o indirettamente (esposizione secondaria, cioè dopo l'effettivo uso o applicazione dei prodotti biocidi sulla cute del paziente). Come menzionato prima, i biocidi possono avere proprietà tossiche, cancerogene o effetti nocivi sul sistema endocrino che, specialmente nel caso degli operatori, possono essere non rilevabili. Secondo la Direttiva dei Cancerogeni e Mutageni 2004/37/EC, il datore di lavoro deve assicurare che il rischio per la salute e la sicurezza dei lavoratori da sostanze pericolose sia eliminato o ridotto al minimo (primo livello nella gerarchia di controllo del rischio). Per adempiere a quest'obbligo, la prima priorità del datore di lavoro è sostituire o eliminare il rischio di biocidi, che può essere attuato usando disinfettanti alternativi o rimpiazzandoli con procedure, sostanze, preparazioni o prodotti meno pericolosi.

Mentre esistono varie linee guida europee e nazionali che danno istruzioni sulla tutela degli operatori nel corso delle operazioni di disinfezione nel settore sanitario, l'UE non ha specifiche linee guida armonizzate sull'uso sicuro dei biocidi nel settore sanitario.

La linea guida della Direzione Generale sull'Occupazione della Commissione Europea ha fornito una descrizione generale della buona pratica riguardante il lavoro sicuro nelle attività di disinfezione [12] che non si soffermava sui biocidi e sul loro uso nel settore sanitario.

IMPATTO AMBIENTALE

L'uso dei biocidi può anche avere un impatto ambientale significativo. Nel settore sanitario, lo smaltimento dei biocidi non usati o dei residui di biocidi usati deve essere gestito con estrema prudenza, onde evitare un danno ambientale serio e potenzialmente duraturo.

Per queste ragioni sarebbe opportuno un approccio armonizzato nell'UE sulla classificazione dei disinfettanti cutanei prima di un intervento chirurgico o di una procedura medica.

Aspetti normativi dell'uso di antisettici e disinfettanti

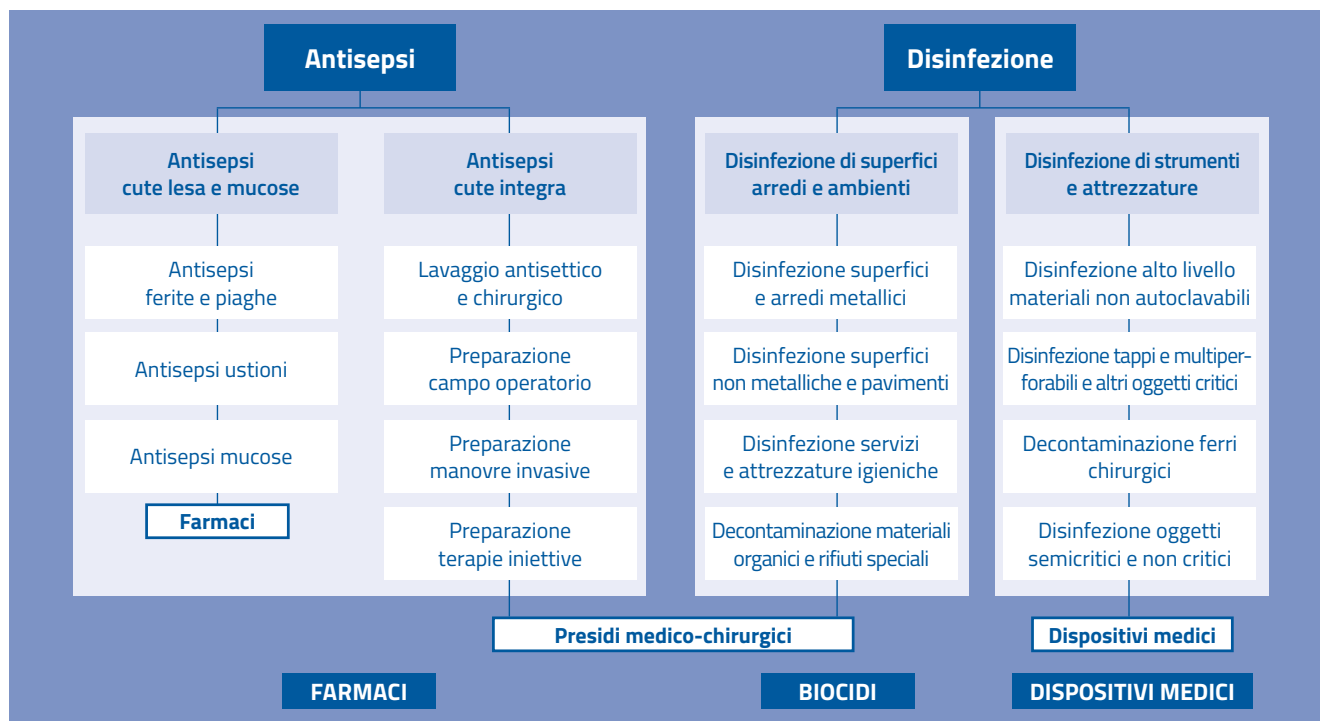
L'attuazione della Direttiva 98/8/CE relativa all'immissione in commercio dei prodotti biocidi, recepita in Italia con il D.Lgs. n. 174/2000 e successivamente sostituita dal Regolamento direttamente applicativo in tutti gli Stati Membri (Regolamento 528/2012, in vigore dal settembre 2013), comporterà nel prossimo futuro la standardizzazione delle procedure di autorizzazione di tali prodotti all'interno dell'Unione Europea. In Italia, la transizione coinvolge, in particolare, gli attuali presidi medico-chirurgici (ora disciplinati dal DPR n. 392 del 6 ottobre 1998) e numerosi prodotti che, pur avendo una destinazione d'uso biocida, attualmente si trovano sul mercato senza autorizzazione all'immissione in commercio.

In questa fase di transizione, all'interno delle Istituzioni si sta dibattendo sull'opportunità di prendere una posizione in linea con quella presa da altri Paesi europei in merito alle direttive riguardanti l'uso di disinfettanti e antisettici per l'antisepsi cutanea del paziente. Infatti, discostandosi dalla situazione italiana, in svariati Paesi europei quali Regno Unito, Germania, Francia, Belgio e Olanda, la normativa su disinfettanti e antisettici specifica che per l'antisepsi chirurgica del paziente, anche su cute integra, deve essere utilizzato un prodotto classificato come farmaco, a garanzia di sicurezza, qualità, sterilità, tracciabilità e rintracciabilità (si veda box nella pagina seguente) del prodotto impiegato (Figura).

Questo concetto investe anche i cosiddetti prodotti borderline, ossia quelli che per loro natura non appartengono con chiarezza a un determinato settore con un'unica

qualificazione normativa e di cui la clorexidina rappresenta un esempio tipico.

Figura. Mercato degli antisettici e dei disinfettanti in base alla normative sui biocidi (modificata da [13])



TRACCIABILITÀ E RINTRACCIABILITÀ DEI PRODOTTI

Per tracciabilità si intende la possibilità di identificare e seguire un prodotto attraverso tutte le fasi di produzione, trasformazione e distribuzione sino al momento del suo utilizzo; può essere realizzata a due diversi livelli: la tracciabilità del lotto e della singola unità.

La rintracciabilità è invece la possibilità di risalire alla storia del prodotto percorrendo il processo di tracciabilità a ritroso. La tracciabilità è un'attività di controllo istituita dal Ministero della Salute e dall'AIFA come misura di tutela della salute pubblica, a garanzia di integrità e di appropriatezza prescrittiva dei prodotti per uso umano e volta a contrastare azioni di contraffazione, frodi e traffici illegali. Tracciabilità e rintracciabilità consentono di correlare un prodotto sanitario al paziente, costituendo garanzie di elevata sicurezza [14].

L'art. 40 della Legge n. 39, 1 marzo 2002, ha previsto l'istituzione presso il Ministero della Salute di una banca dati centrale che registra i movimenti delle singole confezioni di specialità medicinali, univocamente identificate dal bollino unico, di cui al Decreto del Ministero della Salute del 30 maggio 2014, recante il codice di autorizzazione all'immissione in commercio (codice AIC) e una numerazione progressiva della singola confezione, a garanzia di completa tracciabilità e rintracciabilità.

Con il Decreto dell'11 giugno 2010, è stata istituita una banca dati anche per il monitoraggio dei dispositivi medici, ma il sistema di tracciabilità, pur essendo simile a quello dei farmaci, è mancante della tracciabilità della singola confezione, in quanto questa non è identificata da un bollino numerato.

Per i presidi medico-chirurgici e per i biocidi non esistono criteri normativi che ne garantiscano la tracciabilità.

BIBLIOGRAFIA

1. ECHA. Guidance on the biocidal products regulation. Volume II Efficacy – Assessment and Evaluation (Parts B+C). Version 3.0 April 2018.
2. European Policy Recommendations. Optimising skin antiseptics for an enhanced prevention of health-care-associated infections in the EU.
3. EMA. Guideline on the sterilisation of the medicinal product, active substance, excipient and primary container. Disponibile online: www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2016/04/WC500204724.pdf (ultimo accesso: 27/04/2018).
4. Burdon DW, Whitby JL. Contamination of hospital disinfectants with *Pseudomonas* species. *Br Med J* 1967;2:153-5.
5. Heo ST, Kim SJ, Jeong YG et al. Hospital outbreak of *Burkholderia stabilis* bacteraemia related to contaminated chlorhexidine in haematological malignancy patients with indwelling catheters. *J Hosp Infect* 2008;70:241-5.
6. Kiedrowski LM, Perisetti A, Loock MH, Khaita ML, Guerrero DM. Disinfection of iPad to reduce contamination with *Clostridium difficile* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Am J Infect Control* 2013;41:1136-7.
7. Weber DJ, Rutala WA, Sickbert-Bennett EE. Outbreaks associated with contaminated antiseptics and disinfectants. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:4217-24.
8. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). Retirada del mercado del antiséptico de piel sana Bohmclorh solución acuosa 2% de clorhexidina, 250 ml. Notas informativas 2014. www.aemps.gob.es/en/informa/notasInformativas/cosmeticosHigiene/seguridad/2014/COS_02-2014-Bohmclorh.htm (ultimo accesso: 27/04/2018).
9. Royal College of Surgeons. Joint RCS/MHRA Statement on use of topical chlorhexidine for skin preparation prior to surgery. www.rcseng.ac.uk/about-the-rcs/government-relations-and-consultation/joint-rcs-mhra-statement-on-use-of-tropical-chlorhexidine-for-skin-prep (ultimo accesso: 27/04/2018).
10. PAN Germany. Biocides – risks and alternatives. Challenges and perspectives regarding the handling of biocides in the EU, febbraio 2010.
11. Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR). Assessment of the Antibiotic Resistance Effects of Biocides, 2009. Disponibile online: http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenihp/docs/scenihp_o_021.pdf (ultimo accesso: 27/04/2018).
12. UE-Directorate-General for Employment, Social Affairs and Inclusion. Occupational health and safety risks in the healthcare sector, 2014. Disponibile online: <https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/b29abb0a-f41e-4cb4-b787-4538ac5f0238/language-en> (ultimo accesso: 27/04/2018).
13. De Rosa M et al; SIFACT. Documento di scenario. Prodotti antisettici e disinfettanti. Pharmadocument, giugno 2017.
14. AIFA. La tracciabilità del farmaco. www.agenziafarmaco.gov.it/content/la-tracciabilità-del-farmaco (ultimo accesso: 27/04/2018).

