



REGIONE CAMPANIA
AZIENDA OSPEDALIERA DI RILIEVO NAZIONALE E DI ALTA SPECIALIZZAZIONE
"SANT'ANNA E SAN SEBASTIANO"
CASERTA

Deliberazione del Direttore Generale N. 794 del 05/11/2021

Proponente: Il Direttore UOC ORGANIZZAZIONE E PROGRAMMAZIONE DEI SERVIZI OSPEDALIERI E SANITARI

Oggetto: PROCEDURA PER UNA CORRETTA ESECUZIONE DELL'EMOCOLTURA

PUBBLICAZIONE

In pubblicazione dal 05/11/2021 e per il periodo prescritto dalla vigente normativa in materia (art.8 D.Lgs 14/2013, n.33 e smi)

ESECUTIVITA'

Atto immediatamente esecutivo

TRASMISSIONE

La trasmissione di copia della presente Deliberazione è effettuata al Collegio Sindacale e ai destinatari indicati nell'atto nelle modalità previste dalla normativa vigente. L'inoltro alle UU. OO. aziendali avverrà in forma digitale ai sensi degli artt. 22 e 45 D.gs. n° 82/2005 e s.m.i. e secondo il regolamento aziendale in materia.

UOC AFFARI GENERALI
Direttore Eduardo Chianese

ELENCO FIRMATARI

Gaetano Gubitosa - DIREZIONE GENERALE

Mariomassimo Mensorio - UOC ORGANIZZAZIONE E PROGRAMMAZIONE DEI SERVIZI OSPEDALIERI E SANITARI

Angela Annecchiarico - DIREZIONE SANITARIA

Amalia Carrara - DIREZIONE AMMINISTRATIVA

Eduardo Chianese - UOC AFFARI GENERALI

Oggetto: PROCEDURA PER UNA CORRETTA ESECUZIONE DELL'EMOCOLTURA

**Direttore UOC ORGANIZZAZIONE E PROGRAMMAZIONE DEI SERVIZI OSPEDALIERI E
SANITARI**

A conclusione di specifica istruttoria, descritta nella narrazione che segue e i cui atti sono custoditi presso la struttura proponente, rappresenta che ricorrono le condizioni e i presupposti giuridico-amministrativi per l'adozione del presente provvedimento, ai sensi dell'art. 2 della Legge n.241/1990 e s.m.i. e, in qualità di responsabile del procedimento, dichiara l'insussistenza del conflitto di interesse ai sensi dell'art. 6.bis della Legge 241 del 1990 e s.m.i.

Premesso che

-La sepsi è un'emergenza medica che si verifica quando la risposta del corpo verso una infezione danneggia i propri tessuti e organi ed è sempre causata da un'infezione, come polmonite o malattia diarroica. La sepsi può portare a shock, insufficienza multiorgano e morte, soprattutto se non riconosciuta e trattata prontamente. Colpisce 20-30 milioni di persone nel mondo, 250mila casi solo in Italia, di cui 1 su 4 non sopravvive, per un totale di 60mila morti l'anno;

-La sepsi rappresenta un'emergenza sanitaria in costante aumento, dall'esito fatale se non diagnosticata precocemente e trattata tempestivamente. Un'emergenza legata a doppio filo ad altri due problemi di grande importanza: le multi-resistenze e le infezioni ospedaliere. Queste ultime sopraggiungono in circa il 5-7% dei pazienti ricoverati negli ospedali italiani (fino al 15% nei reparti di terapia intensiva), 500-700mila casi in totale, con una mortalità del 3%;

-L'emocultura rappresenta un esame primario per contribuire a definire, insieme ad una più generale valutazione clinico-diagnostica, l'origine della malattia infettiva, e per tale motivo è considerata il "gold standard" per la diagnosi delle infezioni del torrente circolatorio;

-La necessità di standardizzare le azioni ed ottimizzare la tecnica di esecuzione della emocultura al fine di facilitare la diagnosi di sepsi /shock settico e, allo stesso tempo, prevenire la presenza di campioni contaminati e/o falsi positivi;

-Le Infezioni Correlate all'Assistenza (ICA) rappresentano uno degli eventi avversi più frequenti nell'assistenza sanitaria e, sia per la gravità delle epidemie, che per la loro frequenza, un problema di salute pubblica rilevante;

-le ICA sono spesso provocate da microorganismi resistenti agli antibiotici;

-l'antimicrobico-resistenza (AMR) e le ICA hanno un impatto significativo su morbidità, mortalità e qualità di vita e rappresentano un problema anche economico che ricade sulla società;

Visti

Deliberazione del Direttore Generale

Il presente atto, in formato digitale e firmato elettronicamente, costituisce informazione primaria ed originale ai sensi dei combinati disposti degli artt. 23-ter, 24 e 40 del D.Lgs. n. 82/2005. Eventuale riproduzione analogica, costituisce valore di copia semplice a scopo illustrativo.

- Infezioni del torrente circolatorio, Linee guida AMCLI, settembre 2014;
- Buone Pratiche Cliniche SIAARTI "Percorso Diagnostico Terapeutico Assistenziale per il paziente con Seps e Shock Settico BUONE PRATICHE CLINICHE AUTORI A. Donati, G. Monti AUTORI E REVISORI SIAARTI P. Caironi, A. Cortegiani, A. Cotoia, G. De Pascale, R. Domizi, A. Donati, F. Forfori, M. Girardis, G. Moise, G. Monti, D. Pasero, S. Spadaro, B. Viaggi, P. Viale PER IL CONSIGLIO DIRETTIVO SIAARTI: F. Petrini, A. Giarratano, versione 10.11.2020;
- Documento Italiano di Consenso "Procedure di esecuzione, trasporto e conservazione del prelievo per emocoltura in caso di sospetta sepsi", board scientifico compost da. C. Fontana, G. Gherardi, G. P. Privitera, V. Puro, R. Rigoli, B. Viaggi, P. Vitale, edizioni Edra S.p.a. 2018;
- Il Manuale di implementazione per prevenire e controllare la diffusione di organismi resistenti ai carbapenemi a livello nazionale e nelle strutture sanitarie a cura del Ministero della Salute, anno 2020;
- le Linee guida per la prevenzione e il controllo di Enterobatteri, Acinetobacter baumannii e Pseudomonas aeruginosa resistenti ai carbapenemi nelle strutture sanitarie;
- il Piano Regionale della Prevenzione 2014/19 (PRP) e il Piano Nazionale di Contrasto all'Antibiotico Resistenza 2017/20 (PNCAR);
- l'Aggiornamento delle indicazioni per la sorveglianza e il controllo delle infezioni da Enterobatteri resistenti ai carbapenemi (CRE) emanato dal Ministero della Salute nel 2019 e il Decreto Dirigenziale 37 del 18/02/2020 avente ad oggetto Indicazioni alle Aziende Sanitarie Locali, alle Aziende Ospedaliere Alle Aziende Ospedaliere Universitarie ed agli IRCCS per l'implementazione delle misure previste dalla Circolare del Ministero della Salute " 2019 - Aggiornamento delle indicazioni per la sorveglianza ed il controllo delle infezioni da CRE";
- la Deliberazione N. 1715 - Area Generale di Coordinamento N. 20 - Assistenza Sanitaria - Approvazione del Piano Regionale di Prevenzione e Controllo delle infezioni associate all'assistenza sanitaria;
- Deliberazione Giunta Regionale n. 767 del 28/12/2016 avente ad oggetto dell'Atto: Approvazione "LINEE D'INDIRIZZO E COORDINAMENTO PER LE AZIENDE SANITARIE ED OSPEDALIERE DELLA CAMPANIA SULL'USO APPROPRIATO DEGLI ANTIBIOTICI E SUL CONTROLLO DELLE INFEZIONI DA ORGANISMI MULTIRESISTENTI per l'attuazione delle Azioni specifiche previste dal Piano Regionale della Prevenzione 2014-2018";

Considerato che

- Con Deliberazione n.241 del 18-03-2021 è stata modificata la composizione dei COMITATO DI CONTROLLO DELLE INFEZIONI CORRELATE ALL'ASSISTENZA (C.I.C.A.) e del GRUPPO OPERATIVO ed è stata, altresì, costituita la RETE DEI FACILITATORI DI REPARTO NEL CONTROLLO DELLE ICA;
- Le stesure precedenti della procedura in parola sono datate 20/10/2008, la prima (Rev 00) e 07/10/2017 la seconda (Rev 01);

Preso atto

- Della necessità di revisionare ed integrare, in un unico documento procedurale, la procedura per una corretta esecuzione delle emocolture;

Deliberazione del Direttore Generale

Il presente atto, in formato digitale e firmato elettronicamente, costituisce informazione primaria ed originale ai sensi dei combinati disposti degli artt. 23-ter, 24 e 40 del D.Lgs. n. 82/2005. Eventuale riproduzione analogica, costituisce valore di copia semplice a scopo illustrativo.

Visto

- Il documento **PROCEDURA PER UNA CORRETTA ESECUZIONE DELL'EMOCOLTURA**, elaborato dal dott. Vittorio Panetta, dalla dott.ssa Nadia Zarrillo, componenti del gruppo operativo CC-ICA, dalla dott.ssa Caterina Cusano, Referente CC-ICA per le pratiche assistenziali, revisionato dalla dott.ssa Patrizia Cuccaro, Referente Aziendale CC-ICA, dalla dott.ssa Rita Greco, Responsabile UOSD Microbiologia, Dott. Giovanni Di Caprio, componenti CC-ICA, e verificato dal Direttore UOC Organizzazione e Programmazione dei Servizi Ospedalieri e Sanitari e dal Direttore Sanitario Aziendale;

Attestata

- la legittimità della presente proposta, che è conforme alla vigente normativa in materia

PROPONE

1. di **ADOTTARE** il documento **PROCEDURA PER UNA CORRETTA ESECUZIONE DELL'EMOCOLTURA**
2. di **TRASMETTERE** copia della presente deliberazione al Collegio Sindacale, ai sensi di legge, alla Direzione Sanitaria, a tutti i Dipartimenti, alla UOC Risk Management, alla UOC Ingegneria Ospedaliera, alla UOC Tecnologia Ospedaliera e HTA, alla UOC Provveditorato, al Servizio Prevenzione e Protezione, al DEC Pulizie;
3. di **RENDERE** la stessa immediatamente eseguibile, per l'urgenza.

U.O.C. ORGANIZZAZIONE E PROGRAMMAZIONE
DEI SERVIZI OSPEDALIERI E SANITARI
Dott. Mario Massimo Mensorio

Deliberazione del Direttore Generale

Il presente atto, in formato digitale e firmato elettronicamente, costituisce informazione primaria ed originale ai sensi dei combinati disposti degli artt. 23-ter, 24 e 40 del D.Lgs. n. 82/2005. Eventuale riproduzione analogica, costituisce valore di copia semplice a scopo illustrativo.



REGIONE CAMPANIA
AZIENDA OSPEDALIERA DI RILIEVO NAZIONALE E DI ALTA SPECIALIZZAZIONE
"SANT'ANNA E SAN SEBASTIANO"
CASERTA

IL DIRETTORE GENERALE

Gaetano Gubitosa

nominato con D.G.R.C. n.76 del 10/06/2020
insediatosi giusta deliberazione n. 1 del 11/06/2020

Vista la proposta di deliberazione che precede, a firma del Direttore U.O.C. Organizzazione e Programmazione dei Servizi Ospedalieri e Sanitario;

Acquisiti i pareri favorevole del Direttore Sanitario e del Direttore Amministrativo sotto riportati

Il Direttore Sanitario Dr.ssa Angela Anzecchiarico

Il Direttore Amministrativo Avv. Amalia Carrara

DELIBERA

Per le causali in premessa, che qui si intendono integralmente richiamate e trascritte, di prendere atto della proposta di deliberazione che precede e, per l'effetto, di:

1. **ADOTTARE** il documento PROCEDURA PER UNA CORRETTA ESECUZIONE DELL'EMOCOLTURA
2. **TRASMETTERE** copia della presente deliberazione al Collegio Sindacale, ai sensi di legge, alla Direzione Sanitaria, a tutti i Dipartimenti, alla UOC Risk Management, alla UOC Ingegneria Ospedaliera, alla UOC Tecnologia Ospedaliera e HTA, alla UOC Provveditorato, al Servizio Prevenzione e Protezione, al DEC Pulizie;
3. **RENDERE** la stessa immediatamente eseguibile, per l'urgenza.

IL DIRETTORE GENERALE

Gaetano Gubitosa

Deliberazione del Direttore Generale

Il presente atto, in formato digitale e firmato elettronicamente, costituisce informazione primaria ed originale ai sensi dei combinati disposti degli artt. 23-ter, 24 e 40 del D.Lgs. n. 82/2005. Eventuale riproduzione analogica, costituisce valore di copia semplice a scopo illustrativo.

PROCEDURA PER UNA CORRETTA ESECUZIONE DELL'EMOCOLTURA



Rev.	Data	Motivazione della revisione	Redazione	Verifica	Approvazione
00	20/10/2008	Prima stesura	Cpse C. Cusano	C.I.O.	Direttore Sanitario Aziendale
01	07/07/2016	Revisione	Cpse C. Cusano	Dr. D. Di Caprio Dr.ssa R. Greco	Direttore Sanitario Aziendale Dr. A. Giordano
02	08/09/2021	Revisione	Dott. V. Panetta Cpse C. Cusano Dott.ssa N. Zarrillo	Dott.ssa R. Greco Dott.ssa P. Cuccaro Dott. G. Di Caprio	Direttore Sanitario Aziendale Dott.ssa A. Anecchiarico

Indice

- 1. Scopo**
- 2. Campo di applicazione**
- 3. Responsabilità**
 - 3.1 Matrice di responsabilità**
- 4. Aspetti e considerazioni generali**
 - 4.1 strategie di prelievo**
 - 4.2 tipo di flacone da utilizzare**
 - 4.3 numero di emocolture**
 - 4.4 volume di sangue da prelevare**
 - 4.5 disinfezione della cute e prevenzione delle contaminazioni delle emocolture**
- 5. emocoltura da vena periferica**
 - 5.1. preparazione del materiale su un carrello dedicato**
 - 5.2 approccio al paziente**
 - 5.3 preparazione dell'operatore**
 - 5.4 esecuzione di emocoltura da vena periferica**
- 6. emocoltura da catetere venoso centrale**
 - 6.1 preparazione del materiale su carrello dedicato**
 - 6.2 approccio al paziente**
 - 6.3 preparazione dell'operatore**
 - 6.4 procedura**
- 7. Emocoltura da catetere venoso centrale a lungo termine totalmente impiantato (Port)**
 - 7.1 preparazione del materiale**
 - 7.2 approccio al paziente**
 - 7.3 preparazione dell'operatore**
 - 7.4 procedura**
- 8. Gestione microbiologica delle emocolture**
 - 8.1 trasporto campioni al laboratorio di Microbiologia**
 - 8.2 Protocollo microbiologico delle emocolture**
 - 8.3 gestione dei campioni positivi**
 - 8.4 lista degli indicatori di monitoraggio**
- 9. Riferimenti bibliografici**

1. Scopo

L'emocoltura rappresenta un esame primario per contribuire a definire, insieme ad una più generale valutazione clinico-diagnostica, l'origine della malattia infettiva, e per tale motivo è considerata il "gold standard" per la diagnosi delle infezioni del torrente circolatorio.

In caso di BSI (Infezione del torrente circolatorio) l'emocoltura consente la crescita del microrganismo patogeno, rendendone possibile l'identificazione e l'esecuzione dei saggi di sensibilità *in vitro* ai principali chemioterapici, così da adeguare e modulare la terapia antimicrobica, secondo regole condivise di appropriatezza terapeutica. Da un punto di vista prognostico, la crescita incontrollata del microrganismo patogeno sottende l'incapacità delle difese immunitarie dell'ospite e della terapia medica a contenere la malattia.

Al fine di una tempestiva e corretta identificazione del patogeno responsabile della sepsi e dell'eventuale sito primario è fortemente raccomandato l'invio, insieme all'emocoltura, di altri campioni microbiologici quali BAL, broncoaspirato protetto, urine, ecc, e l'eventuale integrazione con biomarcatori (Procalcitonina, Endotossina, Proadrenomedullina, etc)

In caso di diagnosi sospetta o certa di sepsi/shock settico è fortemente raccomandato il prelievo di esami colturali il più precocemente possibile, non oltre la prima ora dal sospetto diagnostico, e comunque prima di incominciare la terapia antibiotica. Il prelievo di campioni microbiologici prima della prescrizione terapeutica antibiotica aumenta significativamente la possibilità di identificare il patogeno permettendo attraverso la de-escalation di passare da una terapia empirica, talvolta di combinazione (combo-therapy) ad una terapia mirata. La de-escalation si associa ad una riduzione della comparsa di resistenza batterica oltre che ad un miglioramento nella prognosi.

La presente procedura ha lo scopo di standardizzare le azioni ed ottimizzare la tecnica di esecuzione della emocoltura al fine di facilitare la diagnosi di sepsi /shock settico e, allo stesso tempo, prevenire la presenza di campioni contaminati e/o falsi positivi.

2. Campo di applicazione

Il documento è rivolto a tutte le UU.OO. dell'A.O.R.N. Sant'Anna e San Sebastiano di Caserta impegnate nel percorso di identificazione e trattamento del paziente con sepsi/shock settico.

Definizioni e Acronimi

Antisettico: una sostanza che inibisce lo sviluppo dei microrganismi senza necessariamente ucciderli;

Batteriemia: presenza di batteri nel circolo ematico. Può essere transitoria, intermittente o continua;

SEPSI: *disfunzione d'organo potenzialmente letale causata da una risposta sregolata dell'ospite ad una infezione (ESICM/SCCS);*

Shock settico: *condizione clinica di sepsi aggravata da alterazioni del circolo, cellulari e metaboliche, associata ad un rischio di mortalità più alto.*

CRBSI: Catheter Related Bloodstream Infection

BSI: Bloodstream Infection

Fungemia: presenza di lieviti o miceti nel sangue.

Contaminante: microrganismo isolato da una emocoltura e che non è *responsabile dell'infezione*;

CVC: catetere venoso centrale.

DPI: dispositivi protezione individuale.

PICC: catetere venoso centrale ad inserzione periferica;

Set di emocolture: almeno due flaconi (es. aerobio+ anaerobio ed eventualmente Miceti) per emocoltura in cui un singolo prelievo di sangue è inoculato;

SF: soluzione fisiologica;

Vacutainer: sistema di prelievo sottovuoto;

3. Responsabilità

Un corretto processo dell'esecuzione dell'emocoltura prevede la seguente matrice di responsabilità:

- Le emocolture sono eseguite da personale infermieristico adeguatamente formato;
- La prescrizione (sede del prelievo e quantità di flaconi) e l'effettuazione della richiesta dell'esame è responsabilità medica;
- L'identificazione dei flaconi per emocoltura, l'esecuzione del prelievo e l'invio dei campioni all'UOSD Microbiologia è responsabilità infermieristica;
- Il trasporto dei campioni microbiologici è a carico del personale sanitario di supporto;
- L'accettazione e la lavorazione immediata dei flaconi da emocoltura è disponibile h24 ed è di responsabilità del personale dell'UOSD Microbiologia (lunedì-sabato 08-20, domenica 8-14) e del personale del Settore Urgenze – UOC Patologia clinica (turno notturno 20-8 e festivi).

3.1 Matrice di responsabilità

Attività	Responsabilità			
	Direttore UO	Coordinatore	Medico	Infermiere
Diffusione e applicazione della procedura	R	R	V	C
Approvvigionamento materiale	V	R	V	C
Indicazione all'esame	V	C	R	C
Informazioni al paziente	V	R	R	C
Preparazione del materiale	V	R	C	R
Esecuzione della procedura	V	V	R	R
Ricondizionamento e smaltimento del materiale	V	V	C	R
Registrazione della procedura	V	V	R	R
Trasporto campioni al laboratorio	V	V	C	C

4. Aspetti e considerazioni generali

4.1 Strategie di prelievo

Ad oggi le Linee Guida Internazionali (LGI) non hanno definito quale sia il momento migliore per effettuare il prelievo per le emocolture, ad esempio prelievi effettuati su picco febbrile; d'altra parte, prelievi sequenziali di emocolture hanno dimostrato di poter migliorare la capacità di diagnosi ed identificazione del patogeno responsabile dell'infezione.

Le due situazioni ove il timing è raccomandato sono:

- Pazienti senza terapia antibiotica, in cui è indicato il prelievo per emocoltura immediatamente prima della somministrazione dell'antibiotico.*
- Pazienti con terapia antibiotica in corso, in cui è indicato il prelievo per emocoltura immediatamente prima della somministrazione del nuovo antibiotico.*
- Pazienti con sospetta endocardite in cui sono indicati prelievi sequenziali: tre set di emocolture in 15-30' ed altri 3 set dopo 24h.*

Nei pazienti senza cateteri:

Il prelievo dei set di emocoltura (non meno di 2 - 3 set) dovrebbe essere effettuato da due siti venosi differenti entro intervalli di tempo brevi (dai 5 ai 15 min max).

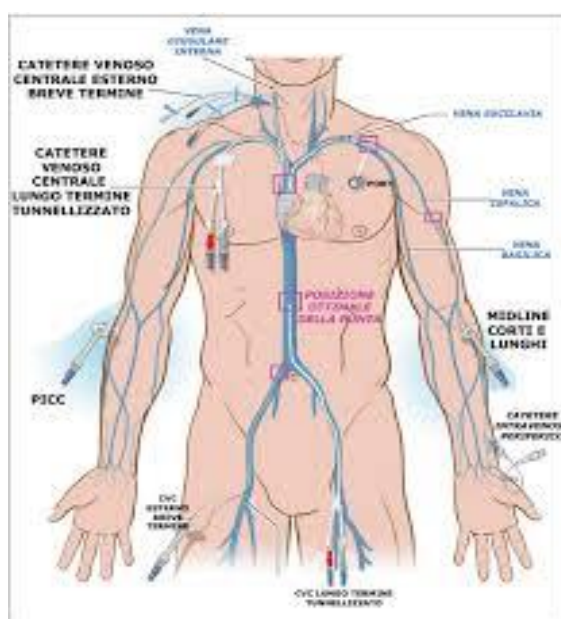
Nei pazienti con cateteri:

Nel sospetto di:

- Sepsì si raccomanda di eseguire (segnalando adeguatamente la sede del prelievo sui flaconi):
 - un set di emocoltura da vena periferica preferibilmente contestuale e controlaterale al catetere;
 - seguito da un secondo set di emocoltura prelevato solo da vena periferica.
- Batteriemia catetere correlata (CRBSI) si raccomanda di eseguire (segnalando adeguatamente la sede del prelievo sui flaconi):
 - un set di emocoltura da vena periferica preferibilmente contestuale e controlaterale al catetere;
 - un set di emocoltura dai cateteri vascolari impiantati (CVC, catetere femorale, catetere arterioso, PICC) in sede da più di 48 ore (nel caso di più di 2 cateteri verificare la possibilità di eseguire il prelievo dai diversi accessi; seguire le indicazioni del Dirigente Medico che prescrive le Emocolture)
 - un set di emocoltura da vena periferica preferibilmente contestuale e controlaterale al catetere;
 - seguito da un secondo set di emocoltura prelevato solo da vena periferica.

Un DTP (differenza del tempo di positivizzazione) > 120 min delle emocolture da catetere e da vena periferica rappresenta l'elemento essenziale per porre diagnosi di CRBSI. I flaconi positivi da catetere indicano l'eventuale contaminazione del catetere, pertanto, laddove possibile, se ne raccomanda la sostituzione e l'invio al laboratorio di microbiologia per esame colturale.

La ricerca di CRBSI è particolarmente raccomandata nei reparti di terapia intensiva.



4.2 Tipo di flaconi da utilizzare

Si raccomanda che il sangue venga inoculato in un flacone aerobio (tappo grigio), anaerobio (tappo viola) e miceti (tappo verde), ove necessario, forniti dall'UOSD Microbiologia. L'uso del flacone anaerobio ha un valore duplice: incrementa il volume di sangue e quindi la sensibilità dell'emocolture e consente non solo la crescita dei batteri anaerobi obbligati ma anche dei batteri anaerobi facoltativi e aerotolleranti.

I flaconi aerobi ed anaerobi contengono resine che hanno la funzione di rimuovere gli antimicrobici, e altre sostanze inibenti la crescita microbica presenti nel sangue.

Per set di emocoltura si intende 1 flacone aerobio e 1 flacone anaerobio. L'uso del flacone Mycosis (Miceti) è raccomandato nei pazienti a rischi di infezioni fungine.

4.3 Numero di emocolture

Le linee guida indicano nei pazienti adulti 2-3 differenti set di emocolture per singolo episodio infettivo. Non prelevare mai un singolo set di emocoltura.

Le colture di controllo sono indicate:

- nei pazienti con candidemia accertata dopo 3 giorni di terapia;
- nei pazienti con endocardite infettiva;
- nei pazienti con batteriemia da *Staphylococcus aureus*;
- nei pazienti con batteriemia da microrganismi multiresistenti;

4.4 Volume di sangue da prelevare

La quantità di sangue prelevata è il fattore più importante per evidenziare l'infezione del sangue. Per i pazienti adulti il volume di sangue da prelevare per ogni set è di 20-30 ml, da suddividere nei diversi flaconi (almeno uno per germi aerobi e uno per germi anaerobi).

Ogni flacone dovrebbe essere inoculato con un volume ottimale di sangue pari a 8-10 ml. Un volume inferiore (< 5 ml) o superiore (>10 ml) può determinare risultati falsi positivi o falsi negativi.

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

Si raccomanda di mantenere i flaconi in posizione eretta.

N.B: *Inoculare sempre prima il flacone per aerobi e poi quello per anaerobi se si esegue prelievo con butterfly.*

Nei flaconi pediatrici immettere 1-4 ml (anche in relazione al peso del bambino; non più dell'4.5% dell'intero volume ematico). Quando possibile, per aumentare la sensibilità dell'emocoltura riempire due flaconi pediatrici.

4.5 Disinfezione della cute e prevenzione delle contaminazioni delle emocolture

La contaminazione dei campioni di sangue durante il prelievo è responsabile di falsi positivi e del rischio di prescrizioni inappropriate. *Il falso positivo indica la crescita di batteri non responsabili della malattia, talvolta introdotti inavvertitamente durante la raccolta e/o la manipolazione del campione.*

La contaminazione può essere causata da diverse fonti:

- la cute del paziente;
- il tappo del flacone (evitare di riposizionarlo sul flacone);
- il materiale utilizzato per prelevare il campione;
- le mani dell'operatore che esegue la procedura;
- la contaminazione ambientale.

L'antisepsi della cute al momento del prelievo deve essere eseguita in maniera rigorosa.

Da parte dei clinici e del personale infermieristico deve essere riposta la massima attenzione nelle fasi di prelievo, in modo da ridurre al minimo la probabilità di contaminazione; secondo la letteratura (Baron et al, 2013), il tasso di contaminazione auspicabile, quando il prelievo emoculturale viene eseguito accuratamente, è di circa il 3%.

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

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

Nei pazienti allergici alla clorexidina può essere utilizzato iodopovidone 10% per 120".

Secondo la nota AIFA del 2018 l'uso di clorexidina è raccomandato con cautela nei neonati con meno di 2 mesi di età; per tale motivo si devono utilizzare dosi minime oppure ancora meglio, dispositivi predosati.

Nel caso in cui vengano utilizzati per il prelievo cateteri venosi, periferici e centrali, occorre fare grande attenzione alla disinfezione delle valvole di accesso utilizzate (utilizzare per la disinfezione clorexidina 2% in alcool isopropilico 70% e rispettare i tempi di asciugatura del disinfettante prima di effettuare il prelievo).

N.B: il tappo dei flaconi non è sterile e pertanto deve essere disinfettato prima dell'inoculo (è raccomandato l'utilizzo dell'antisettico impiegato per la cute).

5. Emocoltura da vena periferica

5.1 Preparazione del materiale su un carrello dedicato

- telino sterile;
- clorexidina 2 %, iodopovidone al 10% in caso di pazienti allergici alla clorexidina;
- 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 (inclusa la camicia per prelievo);
- Flaconi da emocoltura per aerobi e anaerobi già etichettati con il barcode corrispondente a ciascun flacone (**non coprire il codice a barre dello stesso**): 4 flaconi (2 per germi anaerobi e 2 per germi aerobi). Ove possibile, l'inoculo di 6 flaconi può essere considerato ottimale con l'aggiunta eventualmente del flacone da emocoltura per miceti;
- garze sterili;
- laccio emostatico;
- dispositivi di protezione individuale (mascherina chirurgica, guanti sterili e non, schermo facciale in caso sia possibile la generazione di schizzi di sangue);
- contenitori per rifiuti ospedalieri a rischio infettivo (incluso quello per lo smaltimento dei taglienti).

5.2. Approccio al paziente

- Identificare il paziente;
- Spiegare al paziente, se vigile, la procedura;
- Verificare eventuali allergie alla clorexidina. In questo caso, la disinfezione cutanea dovrà essere eseguita con iodopovidone al 10%;
- Assicurarsi dello stato igienico del paziente;
- Invitare il paziente a girare il capo dalla parte opposta durante la procedura oppure far indossare al paziente, se non collaborante, una mascherina chirurgica.

5.3. Preparazione dell'operatore

- Lavaggio delle mani (frizione antisettica o con gel idroalcolico);
- Utilizzo di dispositivi di protezione individuali (guanti sterili e non, mascherina chirurgica, schermo facciale).

5.4. Esecuzione di emocoltura da vena periferica

(per la procedura corretta è preferibile la presenza di due operatori)

- Lavaggio delle mani;
- Indossare guanti monouso;
- Applicare il laccio emostatico;
- Scegliere vena e sito per il prelievo.
- Togliere il laccio emostatico;
- Rimuovere il tappo dal flacone per emocoltura; coprire con tampone imbevuto di clorexidina 2% fino all'inoculo del sangue;
- Rimuovere i guanti monouso;
- Indossare la mascherina chirurgica;
- Lavaggio delle mani (antisettico o con gel idroalcolico);
- Indossare guanti sterili;
- Posizionare telo sterile;
- Disinfettare il sito prescelto (area di 6-7 cm) con clorexidina e attendere almeno 30'' che l'antisettico si asciughi. Nei pazienti allergici usare iodopovidone 10% ed attendere 120'';
- Applicare il laccio emostatico chiedendo supporto ad un altro operatore facendo attenzione a non contaminare la zona disinfettata;
- Eseguire il prelievo;
- Mantenere il flacone del brodo di coltura in posizione verticale al di sotto del braccio del paziente;
- Riempire per primo il flacone aerobio;
- Riempire il terreno di coltura con adeguata quantità di sangue (per gli adulti 8/10 ml per flacone; in caso di utilizzo di sistemi sottovuoto, aspirare fino alla cessazione spontanea dell'aspirazione da parte

del sistema, accertandosi che il sangue abbia raggiunto il livello sufficiente indicato dal sistema di raccolta);

- Estrarre i flaconi dal Vacutainer e agitarli delicatamente;
- A procedura ultimata rimuovere il laccio emostatico;
- Attivare il sistema di sicurezza dell'ago utilizzato durante la rimozione dalla vena;
- Smaltire il dispositivo utilizzato nell'apposito contenitore rigido per taglienti;
- Praticare emostasi con tampone asciutto e bendaggio;
- Rimuovere i guanti e lavare le mani;
- Inviare entro 1 ora i campioni in laboratorio secondo le modalità su esposte;

N.B: Nel caso si utilizzi la siringa usare l'accortezza **d'inoculare prima il flacone per anaerobi e poi quello per aerobi (questo al fine di evitare che l'ossigeno risalga attraverso l'ago e diffonda nel sangue prelevato)**

6. Emocoltura da catetere venoso centrale

6.1 Preparazione del materiale su un carrello dedicato

- telino sterile;
- clorexidina 2 %; iodopovidone al 10% in caso di pazienti allergici alla clorexidina;
- Needlefree connector;
- Flaconi per aerobi e anaerobi secondo i cateteri da cui si vuole eseguire il prelievo; il flacone Mycosis è raccomandato nei pazienti a rischi di infezioni fungine
- garze sterili;
- dispositivi di protezione individuale (mascherina chirurgica, guanti sterili e non);
- siringa da 10 ml, siringa da 20 ml, soluzione fisiologica 0,9% 10 ml o siringa pre riempita con fisiologica 0,9%.
- Contenitore per rifiuti speciali a rischio infettivo (incluso il contenitore per lo smaltimento dei taglienti);

6.2 Approccio al paziente (vedi punto 5.2)

6.3. Preparazione dell'operatore (vedi punto 5.3)

6.4. Procedura

- Effettuare prima il prelievo da vena periferica (vedasi punto 5) e subito dopo quello da CVC, possibilmente lato opposto alla cateterizzazione venosa;
- Sospendere le infusioni in corso, se presenti;
- Rimuovere il tappo del terreno di coltura e coprire la sommità con tampone imbevuto di clorexidina 2%;
- Indossare i guanti sterili;
- Posizionare telo sterile;
- Disinfettare con garza sterile e clorexidina 2% in alcool isopropilico al 70% l'hub del catetere dopo avere rimosso il dispositivo a valvola (needlefree connector) per 30";
- Lasciare asciugare per 30";
- Connettere la camicia del vacutainer direttamente all'hub del catetere e inserire i flaconi nella camicia. Aspirare fino alla cessazione spontanea dell'aspirazione da parte del sistema, accertandosi che il sangue abbia raggiunto il livello sufficiente indicato dal sistema di raccolta;
- In caso di mancato reflusso ematico oppure di catetere valvolato collegare una siringa da 10 ml all'hub e aspirare 8/10 ml di sangue senza "scartare" nulla, contrariamente a quanto previsto per i comuni prelievi di laboratorio;
- Dopo la deconnessione del Vacutainer o della siringa, eseguire lavaggio pulsante con siringa da 20 ml riempita con soluzione fisiologica;
- In caso di CVC a più lumi, sarebbe corretto effettuare il prelievo da ogni singolo lume, per evitare la sottrazione di ampi volumi ematici si consiglia di effettuare il prelievo dal lume distale;
- Smaltire i rifiuti negli appositi contenitori;
- Apporre l'etichetta dedicata per i falconi da CVC identificativa del paziente sui flaconi senza coprire il codice a barre;
- Inviare entro 2 ore i campioni in laboratorio.

7. Emocolture da catetere venoso centrale a lungo termine totalmente impiantato (Port)

7.1 Preparazione del materiale

- Guanti monouso e sterili, mascherina chirurgica e visiera;
- Telino fenestrato sterile;
- clorexidina 2 %
- Ago di Huber in sicurezza
- Siringa da 20ml
- Siringa da 10 ml
- Soluzione fisiologica

7.2. Approccio al paziente (vedi punto 5.2). Inoltre

- Far assumere al paziente una posizione comoda: supino o seduto;
- Liberare dagli abiti la zona interessata;
- Identificare il reservoir del Port e valutare il tipo di ago da utilizzare.

7.3 Preparazione dell'operatore (vedi punto 5.3).

7.4 Procedura

- Effettuare prima il prelievo da vena periferica e subito dopo quello da Port;
- Lavare le mani (lavaggio sociale);
- Indossare DPI;
- Preparare il campo sterile con il materiale necessario;
- Disinfettare la cute con clorexidina 2 % in alcool isopropilico al 70%; iodopovidone al 10% in caso di pazienti allergici alla clorexidina;
- Preparare la siringa da 20 ml e la siringa da 10 ml, entrambe con soluzione fisiologica;
- Identificare il reservoir del port mantenendolo fra pollice e indice, usando il dito medio come terzo appoggio;
- Perforare la cute con l'ago di Huber oltrepassando la membrana fino a percepire il rumore di contatto con il metallo;

- Connettere la camicia del vacutainer alla prolunga dell'ago di Huber e inserire le provette all'interno di essa; Nel caso di difficoltà ad aspirare il sangue con il Vacutainer, aspirare sangue con siringa da 20 ml; N.B. l'accortezza d'inoculare prima il flacone per anaerobi, aerobi e miceti (questo al fine di evitare che l'ossigeno risalga attraverso l'ago e diffonda nel sangue prelevato).
- Al termine del prelievo chiudere il morsetto e scollegare il Vacutainer;
- Connettere la siringa da 10 ml contenente soluzione fisiologica;
- Deconnettere la siringa da 10 ml;
- Rimuovere l'ago tenendo con la mano non dominante la camera;
- Se il catetere è in uso, effettuare solo lavaggio con soluzione fisiologica e non rimuovere l'ago di Huber;
- Accertarsi che la sicurezza dell'ago sia stata attivata;
- Cestinare nel contenitore dei taglienti gli aghi utilizzati e il rimanente del materiale nel contenitore per rifiuti ospedalieri;
- Togliere i guanti e lavarsi le mani;
- Apporre l'etichetta identificativa del paziente sui flaconi senza coprire il codice a barre segnalando che il prelievo è stato fatto da Port, data e ora sui flaconi; Inviare entro 2 ore i campioni in laboratorio.

8. Gestione microbiologica delle emocolture

8.1 Trasporto al laboratorio di Microbiologia

Per il trasporto dei campioni microbiologici al laboratorio vanno utilizzati i contenitori con chiusura ermetica. I flaconi per emocoltura possono essere mandati al laboratorio H24 secondo le seguenti modalità:

- all'UOSD Microbiologia (lunedì-sabato 08-20, domenica 8-14);
- al Settore Urgenze – UOC Patologia clinica (turno notturno 20-8 e festivi).

entro 2 ore per essere immediatamente incubati nei sistemi automatici; ritardi nell'ingresso dei flaconi negli strumenti possono rallentare o impedire la rilevazione della crescita microbica. **I campioni fino al momento della consegna vanno lasciati a temperatura ambiente.**

L'assenza di etichetta identificativa del paziente o la presenza di bottiglie rotte determinano il rifiuto dei campioni.

8.2 Protocollo microbiologico delle emocolture

I flaconi aerobi e anaerobi vengono incubati nel sistema automatico BACTEC FX200/40 per 5 giorni, mentre i flaconi per miceti per 10 giorni, secondo quanto indicato dalle linee guida internazionali.

L'identificazione e il relativo antibiogramma viene eseguito per tutti i germi isolati da tutti i flaconi positivi. La valutazione di eventuali contaminanti sarà eseguita al termine dei tempi di incubazione.

8.3 Gestione dei campioni positivi

Il referto delle emocolture positive viene definito preliminare quando non tutti i flaconi componenti il set hanno terminato la lettura nel sistema automatico. La presenza di batteri o funghi verrà determinata, inizialmente attraverso l'esame batterioscopico dopo colorazione di gram. Ai risultati preliminari ottenuti mediante esame microscopico, seguirà *Comunicazione dell'esame microscopico* mediante telefono.

L'UOSD Microbiologia, esegue una valutazione dei criteri microbiologici di sepsi, tenendo presente il numero di flaconi positivi, l'esame batterioscopico e gli indici di flogosi e condizione generale del paziente consultando il medico di reparto, suggerendo di eseguire le seguenti indagini di fast microbiology:

1. Film Array Sepsis (Multiplex Real time Nested PCR per indentificazione ed antibiogramma molecolare)
2. Accelerate Pheno system (identificazione e antibiogramma fenotipico rapido)

I risultati degli esami rapidi verranno comunicati mediante telefono e per refertazione elettronica ai medici di guardia dei reparti.

Seguirà identificazione biochimica ed antibiogramma fenotipico completo (48-72 h dalla positivizzazione del flacone).

Il referto microbiologico nel caso di sangue prelevato simultaneamente da cateteri vascolari (catetere venoso centrale, PICC, Port) e da vena periferica riporta il tempo di positività delle due emocolture, in quanto un differenziale tra sangue centrale e periferico > di 2 ore suggerisce la presenza di infezioni del sangue correlate a catetere (CRBSI).

I campioni negativi verranno refertati a partire dal momento in cui il sistema automatico indica la mancata crescita microbica (dopo 5 giorni completi di incubazione per aerobi ed anaerobi e 10 giorni per miceti).

8.6 Lista degli indicatori in monitoraggio

Le emocolture sono test essenziali per la diagnosi delle infezioni e il miglioramento diagnostico dipende anche dai fattori della fase preanalitica: scelta appropriata del test, prelievo del campione, trasporto e distribuzione nel laboratorio.

Indicatori:

- Numero di EMO ordinarie/1.000 giornate di degenza
- Tasso di contaminazione delle EMO prelevate da vena periferica
- Tasso di EMO singole (adulti)
- % di EMO prelevate solo da CVC e non accompagnate da EMO V

9. Riferimenti bibliografici:

- Buone Pratiche Cliniche SIAARTI “Percorso Diagnostico Terapeutico Assistenziale per il paziente con Sepsis e Shock Settico BUONE PRATICHE CLINICHE AUTORI A. Donati, G. Monti AUTORI E REVISORI SIAARTI P. Caironi, A. Cortegiani, A. Cotoia, G. De Pascale, R. Domizi, A. Donati, F. Forfori, M. Girardis, G. Moise, G. Monti, D. Pasero, S. Spadaro, B. Viaggi, P. Viale PER IL CONSIGLIO DIRETTIVO SIAARTI: F. Petrini, A. Giaratano, versione 10.11.2020
- Documento Italiano di Consenso “Procedure di esecuzione, trasporto e conservazione del prelievo per emocoltura in caso di sospetta sepsi”, board scientifico compost da: C. Fontana, G. Gherardi, G. P. Privitera, V. Puro, R. Rigoli, B. Viaggi, P. Vitale, edizioni Edra S.p.a. 2018
- Thailand Ministry of Public Health and U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). IEIP (International Emerging Infections Program)
- Microbiology Project. Population based surveillance for Microbial Agents of Pneumonia and Sepsis with Detection of Streptococcus pneumoniae. Standard Operating Procedures for Clinical and Laboratory Staff. Versione 1.2, 2005 (online su www.cdc.gov).
- Blood Culture Procedure: Taking Blood Cultures A summary of best Practice. Herefordshire, NHS
- Linee guida emocolture della Johns Hopkins
- Drancourt M, Berger P, Raoult D. 2004. Systematic 16S rRNA gene sequencing of atypical clinical isolates identified 27 new bacterial species associated with humans. J. Clin. Microbiol. 42:2197-2202.
- Fiori B, D'Inzeo T, Di Florio V, De Maio F, de Angelis G, Giaquinto A, Campana L, Tanzarella E, Tumbarello M, Antonelli M, Sanguinetti M, Spanu T. Performance of Two Resin-Containing Blood Culture Media in the Detection of Bloodstream Infections and in Direct MALDI-TOF Broth Assays for Isolate Identification: Clinical Comparison of the BacT/ALERT Plus and BACTEC Plus Systems. J Clin Microbiol. 2014 Jul 16. pii: JCM.01171-14. [Epub ahead of print]
- Jungkind DL, Thakur M, Dyke J. 1989. Evidence for a second mechanism of action of resin in Bactec NR 16A aerobic blood culture medium, abstr. C-225, p. 430. In Abstracts of the 89th Annual Meeting of the American Society for Microbiology 1989. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

- La Scola B, Raoult D. 2009. Direct identification of bacteria in positive blood culture bottles by matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry. PLoS One 4:e8041.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2007. Principles and procedures for blood cultures; approved guideline. CLSI document M47-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- G.L. Mandell, J.E. Bennett, R. Dolin. Principles and Practice of Infectious Diseases. Elsevier, 6th Ed., 2004.
- Clinical and laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: 4th informational supplement. Wayne, PA: CLSI; 2012).
- Seng P, Drancourt M, Gourié F, La Scola B, Fournier PE, Rolain JM, Raoult D. 2009. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. Clin. Infect. Dis. 49:543-551.
- Spanu T, Posteraro B, Fiori B, D'Inzeo T, Campoli S, Ruggeri A, Tumbarello M, Canu G, Trecarichi EM, Parisi G, Tronci M, Sanguinetti M, Fadda G. Direct maldi-tof mass spectrometry assay of blood culture broths for rapid identification of *Candida* species causing bloodstream infections: an observational study in two large microbiology laboratories. J Clin Microbiol. 2012 Jan;50(1):176-9. doi: 10.1128/JCM.05742-11. E
- Versalovic J, Carroll KC, Funke G, Jorgensen JH, Landry ML, Warnock DW. (ed.). 2011. Manual of clinical microbiology, 10th ed. ASM Press, Washington, DC
- Weinstein MP, Doern GV. 2011. A critical appraisal of the role of the clinical microbiology laboratory in the diagnosis of bloodstream infections. J. Clin. Microbiol. 49:S26-29.
- Weinstein MP, Mirrett S, Reimer LG, Wilson ML, Reller LB. 1994. Controlled evaluation of five versus ten milliliters of blood cultured in aerobic BacT/Alert blood culture bottles. J. Clin. Microbiol. 32:2103-2106.
- Infezioni del torrente circolatorio, Linee guida AMCLI, settembre 2014
- Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, Kumar A, Sevransky JE, Sprung CL, Nunnally ME, Rochwerger B, Rubenfeld GD, Angus DC, Annane D, Beale RJ, Bellinhan GJ, Bernard GR, Chiche J-D, Coopersmith C, Backer DP De, French CJ, Fujishima S, Gerlach H, Hidalgo JL, Hollenberg SM, Jones AE, Karnad DR, Kleinpell RM, Koh Y, Lisboa TC, et al. Surviving Sepsis Campaign., 2017.
- De Plato F, Fontana C, Gherardi G, Privitera GP, Puro V, Rigoli R, Viaggi B, Viale P. Collection, transport and storage procedures for blood culture specimens in adult patients: recommendations from a board of Italian experts. Clin Chem Lab Med. 2019 Oct 25;57(11):1680-1689.

