



U.O.C. PATOLOGIA CLINICA E MICROBIOLOGIA
P.O. CIVILE-OMPA RAGUSA
DIRETTORE Rosa M. Giordano

I Percorsi diagnostici in Microbiologia clinica

Ragusa, 2 Ottobre 2015 Sala AVIS
Via della Solidarieta' , 1

Infezioni del torrente circolatorio:
Presentazione del percorso diagnostico



Università degli Studi
di Roma Tor Vergata

C.Fontana



Conoscere per aggredire



- L'aggressione al fenomeno “sepsi” rappresenta uno degli esempi più eloquenti di lotta integrata che necessita la partecipazione attiva di varie figure del sistema sanitario a partire dall'intensivista/clinico, includendo necessariamente Microbiologo Clinico
- Tuttavia per conoscere il problema occorre anche misurarlo senza tralasciare nessun aspetto. Perché la conoscenza consente anche di individuare un percorso diagnostico virtuoso che ne possa contenere/ridurre gli effetti dannosi

Help us save
+800,000
lives by 2020.



Gruppo di Lavoro per le Infezioni nel Paziente Critico - GLIPaC

Attivato il: 17/11/2009

Coordinatore:

Carla Fontana

Segretario:

Fabio Arena

Componenti:

Marta Argentieri, Paola Bernaschi, Giacomo Fortina, Vesselina Kroumova, Esther Manso, Pier Giorgio Montanera, Pierluigi Nicoletti, Patrizia Pecile, Mario Rassu, Teresa Spanu, Gian Maria Rossolini

MANDATO 2015-2017

Mail >> carla.fontana@uniroma2.it



GliPac AMCLI



Il percorso



Di cosa tratta

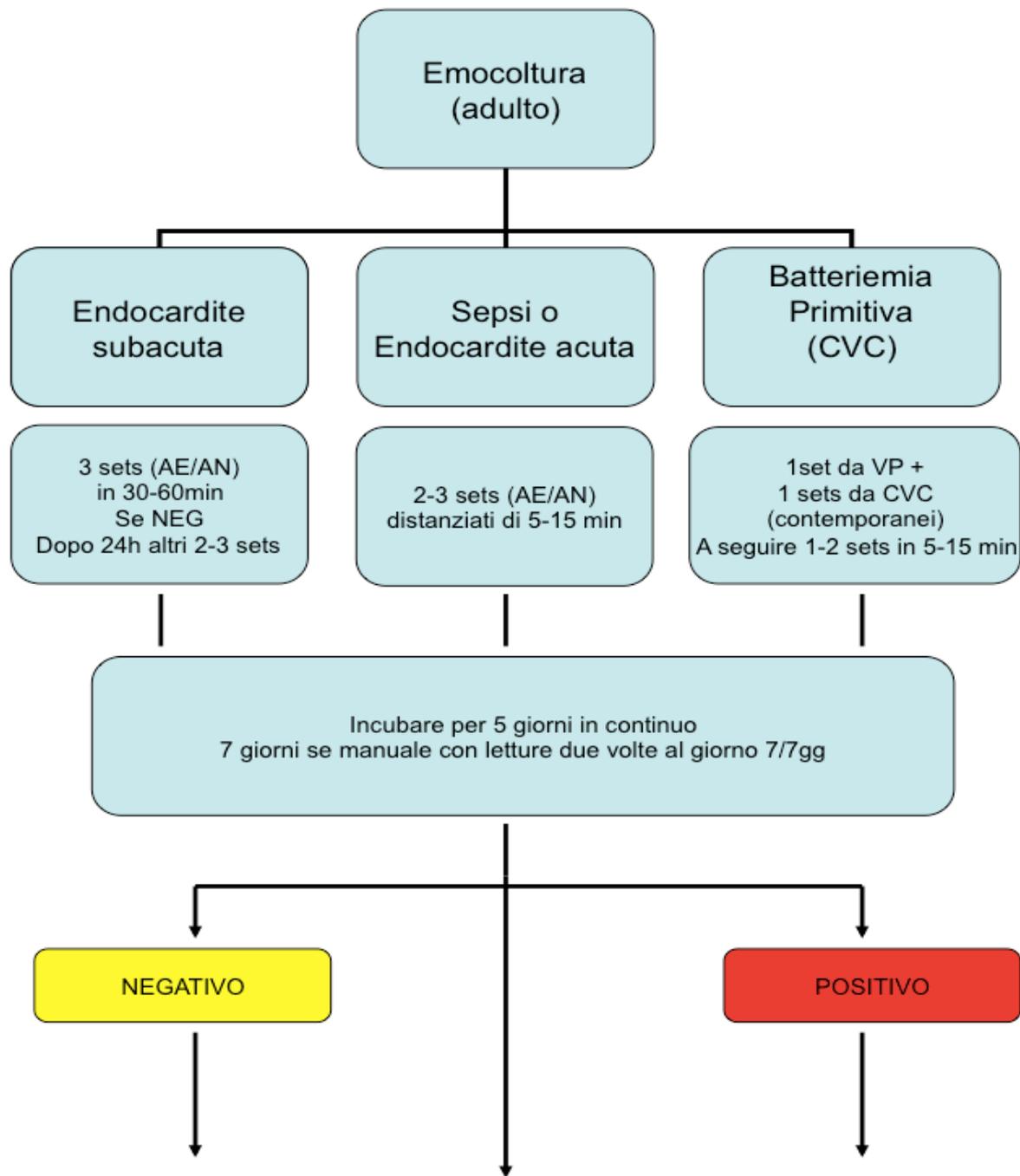
- Come, quando e perché eseguire una emocoltura
- I tempi (dalla raccolta → invio → risposta)
- Le metodologie (dalla più semplice alla più complessa) ed il loro uso RAZIONALE
- Le criticità
- Le innovazioni tecnologiche
- Le misure e gli indicatori (misurare per migliorare ed essere “appropriati”)

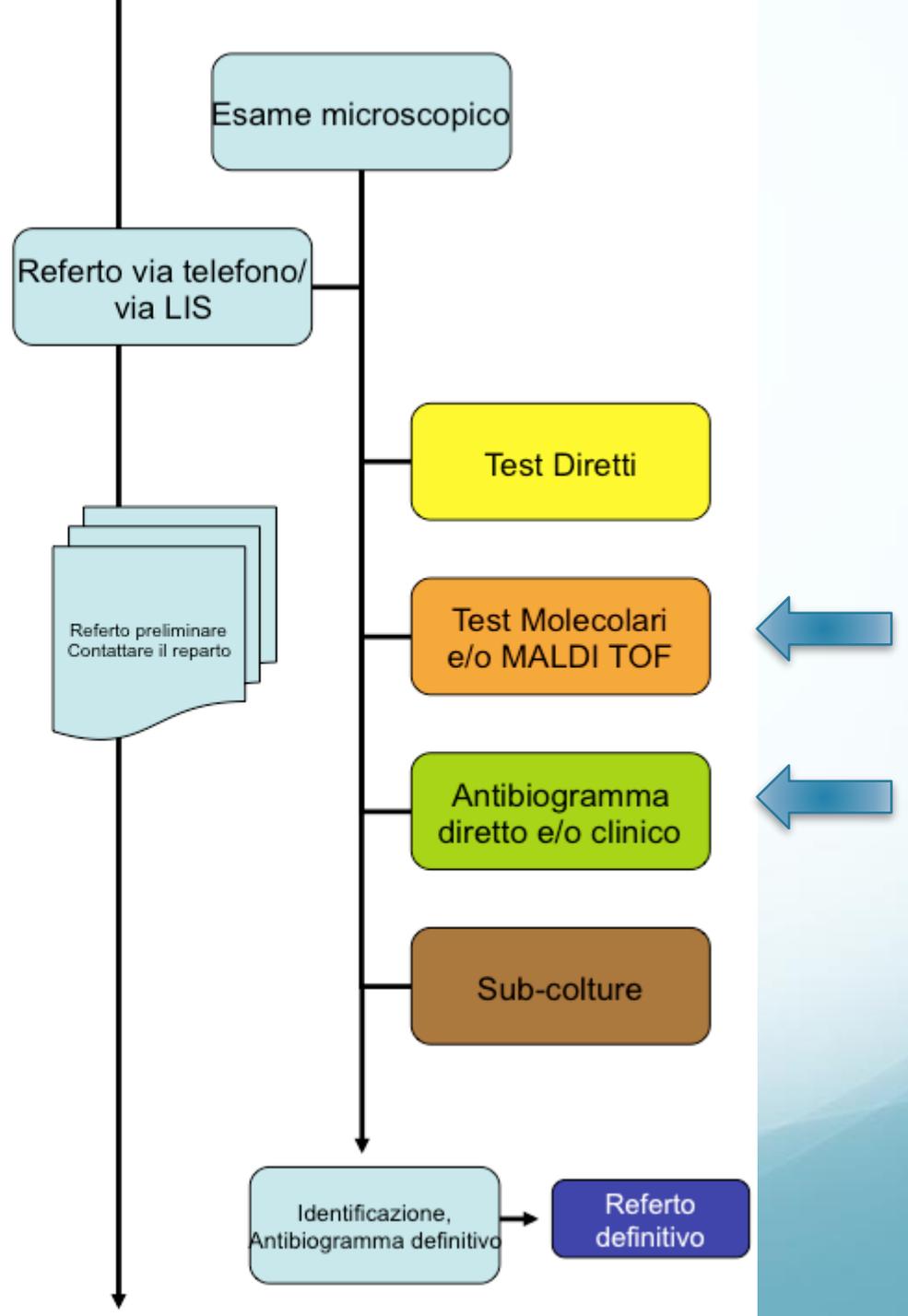
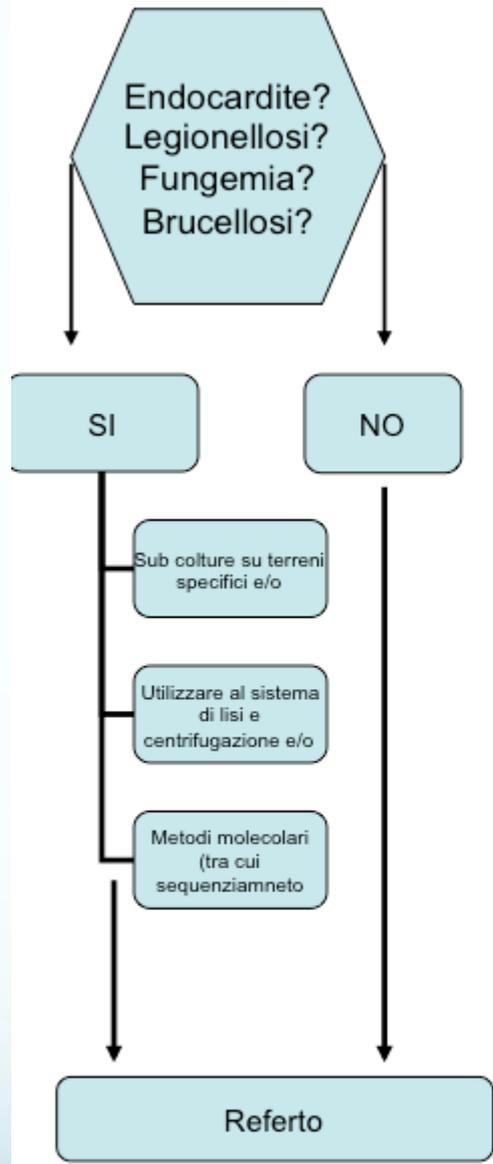
Di cosa parleremo

- Metodi molecolari (MALDI TOF based, PCR based, microarray, sequencing)
- Antibiogramma clinico
- Ma anche di tempistiche che si devono rispettare nel reporting anche del semplice ma irrinunciabile GRAM!!!
- Controllare significa migliorando i flussi attraverso una attenta valutazione/misurazione dei nostri processi
- Presa di coscienza del ruolo del microbiologo in questo processo



La flow chart del percorso

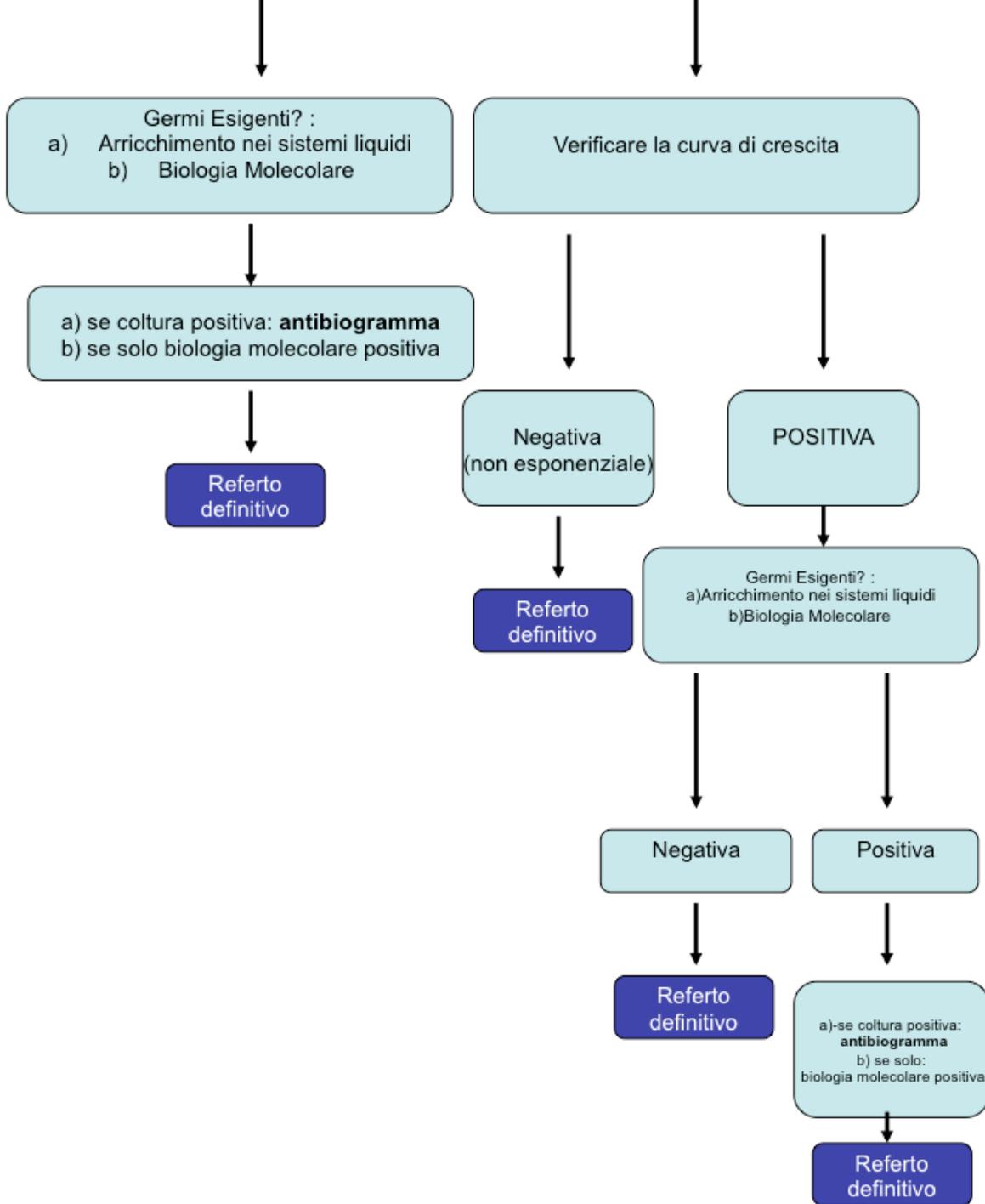




▼
Risultati non chiari:

Segnale +
Gram+
Coltura -

Segnale +
Gram-
Coltura -



Antibiogramma

Clinical Microbiology

NEWSLETTER

CMN

Stay Current...
Stay Informed.

CMN

Vol. 36, No. 19
October 1, 2014
www.cmnewsletter.com

IN THIS ISSUE

149 More Timely Antimicrobial Susceptibility Testing

More Timely Antimicrobial Susceptibility Testing as a Tool in Combatting Antimicrobial Resistance in Clinically Relevant Microorganisms: Is There More than One Way to Skin a Cat?

*William Michael Dunne, Jr., Ph.D.¹ and Alex van Belkum, Ph.D.,² bioMérieux Microbiology R&D,
¹Durham, USA, ²La Balme les Grottes, France*

Perché eseguiamo le emocolture

- Rappresenta il miglior strumento per la diagnosi di sepsi in tutte le sue manifestazioni. I costi dell'esame sono ampiamente giustificati dalle informazioni che si possono ricavare: conferma del sospetto diagnostico, identificazione della eziologia microbica ed indicazioni utili per la terapia antibiotica mirata.



© Burger / Phanie / Science Source



Quando



- Il prelievo dovrebbe essere effettuato in **qualsunque momento** dell'episodio febbrile,
- il più **precocemente** possibile
- possibilmente **prima** dell'inizio della **terapia** empirica o prima di una sua nuova somministrazione (quando la quantità di antibiotico nel sangue è minima)
- Sebbene sia consuetudine raccogliere i campioni **ad intervalli di 30-60'**, **la cosa è del tutto arbitraria**
- Inoltre, **non ci sono variazioni significative nel tasso di positività se e quando i prelievi vengono effettuati al picco febbrile**, infatti alcuni pazienti possono essere ipotermici anche nella fase batteriémica o essere incapaci di attivare una risposta di tipo febbrile all'infezione (I dati della letteratura mostrano che dopo l'ingresso dei batteri nel circolo vi è una fase di latenza di circa un'ora prima che compaia il brivido e/o la febbre, quindi semmai dovremmo lavorare sulla previsione del picco febbrile/brivido)

Timing

- Nella pratica comune i prelievi dovrebbero essere effettuati simultaneamente (o distanziati di 5-15' l'uno dall'altro) alla comparsa della febbre o comunque in caso di sospetto clinico di sepsi e possibilmente prima dell'inizio della terapia.

Ripetizioni

- Il prelievo dovrebbe essere ripetuto almeno alle 72h dopo l'inizio della terapia (ripeterlo ogni giorno non è appropriato) con sole tre eccezioni:
 - Nei casi di endocardite acuta valgono le stesse considerazioni (la ripetizione può essere utile per monitorare il successo terapeutico). Nelle endocarditi subacute sono consigliati tre *set* di emocolture in ed in caso di negatività altri 3 *set* dopo 24h.
 - Nelle fungemie vanno ripetuti ogni 24h per monitorare il successo terapeutico
 - Nelle sepsi da *S.aureus*

Come

- Per assicurare una maggiore sensibilità è bene effettuare **2 – 3** prelievi/**sets** (tenendo in considerazione che ciascun prelievo deve essere composto da un flacone per aerobi ed uno per anaerobi) quindi un totale di 4-6 flaconi.



- Sensibilità 96-99% con tre prelievi; Non ci sono indicazioni ad effettuare più di tre prelievi: la sensibilità dell'esame aumenta solo di un modesto 7%, aumentano invece i costi ed i rischi di anemizzazione iatrogena del malato
- facilitano l'interpretazione dei risultati (soprattutto nei pazienti ricoverati nelle terapie intensive) nel caso di isolamento di germi di dubbio significato clinico nella attribuzione di un significato clinico ad un germe considerato comunemente contaminante).
- Non vi sono evidenze significative che il prelievo di sangue **arterioso** aumenti la sensibilità del metodo rispetto al classico prelievo venoso, al contrario aumentano i rischi di isolamento dei contaminanti

CRBSI

Tabella 2

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 spp</i> , in assenza di altre fonti di infezione
Negativa da CVC e da vena periferica		Infezione catetere correlata: improbabile

1 da vena periferica e dal/i catetere/i, contemporaneamente, dopo aver disinfettato il raccordo con soluzione alcolica, se compatibile con il materiale del CVC, senza scartare la prima quantità di sangue prelevato perché è quella con la più alta concentrazione di microbi.

Il prelievo quando possibile dovrebbe essere effettuato scegliendo un accesso venoso posto dal lato opposto di dove è posizionato il CVC (es: CVC lato destro, accesso venoso a sinistra)

2 Immettere rigorosamente la stessa quantità di sangue in ciascun flacone, ciò consentirà l'interpretazione dei risultati sulla base dei tempi di crescita.

3 da vena periferica, (set: aerobi + anaerobi), prelevato come di consueto

Quanto sangue prelevare

- Rappresenta la variabile più importante.
- Diversi studi condotti sia con sistemi automatici sia in manuale dimostrano la relazione diretta che esiste fra il volume di sangue prelevato e la resa diagnostica di un'emocoltura.
- **Si consiglia di immettere 8 ml (non superare mai i 10 ml).**
- Complessivamente devono essere prelevati **20-30 ml, suddivisi nei diversi flaconi.**
- 2 a 30 ml si ha un incremento proporzionale della percentuale di positività (es. passando da 2 a 20 ml di sangue prelevato si passa da percentuali del 30 al 50% di positività). Mentre l'incremento che si ottiene elevando il prelievo a 40 ml (vs 30 ml) è di un modesto 7% e quindi non ritenuto utile.
- Nei flaconi pediatrici immettere 1-4 ml (anche in relazione al peso del bambino; non più dell'4.5% dell'intero volume ematico)





WARNING

Controllare il volume

- Flaconi sovra o sotto inoculati sono causa di falsi positivi/negativi (i coaguli intrappolano i batteri)
- I sistemi *volume blood monitoring* che molti sistemi automatici per incubazione delle emocolture possiedono hanno un significato reale solo se misurano il reale volume inoculato
- Attenzione: Se lo estrapolano danno un errore sistematico in difetto o in eccesso su tutti i pazienti con leucocitosi o al contrario leucopenici (correte il rischio di correggere senza motivo il comportamento del reparto)
- Rapporto di diluizione sangue/brodo ideale è 1:5

Il volume di sangue prelevato

- Corretto rapporto il rapporto di diluizione sangue brodo prevedere una diluizione **1:5-1:10**
- Una diluizione $<1:5$ aumenta i rischi della coagulazione nel flacone, con potenziale effetto trapping dei patogeni nei clot che si sono formati (falsi negativi)
- Così come una diluizione troppo spinta potrebbe rendere improbabile la detection di patogeni soprattutto se presenti in bassa carica (1-10 CFU/ml)

Disinfezione

- Il **tappo** dei flaconi non è sterile e quindi deve essere disinfettato con lo stesso prodotto usato per l'antisepsi della cute, lasciando agire per lo stesso tempo, e ovviamente subito prima del prelievo.
- I **guanti** devono sempre essere indossati a protezione dell'operatore. **Non sono necessari guanti sterili**, a meno che non sia necessario palpare due volte la cute disinfettata per l'individuazione della vena. Eventualmente disinfettare i guanti con clorexidina.
- È mandatorio **disinfettare la cute** prima del prelievo seguendo le indicazioni riportate di seguito:-pulire l'area cutanea identificata, per 7-8 cm di diametro, con una garza (anche non sterile) imbevuta di alcol isopropilico 70%, procedendo dal centro alla periferia, e lasciar asciugare, (meglio se con sfregamento vigoroso; non sono necessari i movimenti concentrici)
- disinfettare la cute lasciando in sede un impacco con **clorexidina** 2% in soluzione alcolica per almeno 30"; in alternativa usare tintura di iodio, sempre per 30"; evitare l'uso di iodio-povidone (richiede tempid'azione superiori al 1' e 30").
- **lasciare asciugare** l'antisettico, senza rimuoverne l'eccesso con garza. Se si usa la tintura di iodio, pulire la cute dopo il prelievo
- La **clorexidina non può essere usata nei bambini** di età inferiore ai due mesi (anche se alcuni studi recenti ne suppongono l'uso a concentrazione pari allo 0.5% anziché 2%. I dati sono ancora preliminari. In alternativa è possibile usare iodio-povidone (Betadine®) che dovrà però essere lasciato in sito per almeno 2'.

Attenzione nel prelievo

- La massima attenzione da parte dei clinici/personale infermieristico deve essere riposta nelle fasi di prelievo, in modo da ridurre al minimo la probabilità di contaminazione. Il tasso di contaminazione atteso è di circa il $\leq 3\%$
- È importante che il laboratorio ponga in essere gli opportuni indicatori che consentano di verificare che questa soglia non sia superata (semmai ridotta) ed attivi altresì le opportune strategie di intervento se nota un incremento del tasso di contaminazione

Studio in corso Glipac AMCLI

- Cloraprep FREPP
- Cloraprep SEPP



Partendo dal presupposto che un tasso minimo di contaminazioni non è eludibile (biofilm cutaneo e sottocutaneo) in tre centri in Italia una studio comparativo fra il disinfettante tradizionale e il Cloraprep per valutarne l'efficacia in termini di riduzione del tasso di contaminazioni

Il set: composto da quali flaconi?

- Per ogni prelievo inoculare di norma due flaconi (1 per la ricerca di aerobi e 1 per anaerobi). Il prelievo anche in flaconi per anaerobi consente la crescita di batteri anaerobi stretti; inoltre, studi recenti hanno dimostrato come questi flaconi siano più performanti anche nel recupero di stafilococchi, enterococchi ed enterobatteri
- I flaconi per i Miceti non sono necessari (comunque solo per funghi filamentosi e solo per il sistema BD) meglio ricorrere a metodi alternativi tipo lisi e centrifugazione



Invio dei campioni

- I flaconi dovrebbero essere inviati al laboratorio di microbiologia nel più breve tempo possibile
- Tuttavia, in casi particolari, è possibile mantenere i flaconi a temperatura ambiente (anche se vi può essere una certa variabilità dovuta al tipo di flacone in uso) fino ad un massimo di 16-18h (mi riferisco alle necessità delle aree vaste), per tutti gli altri basta attrezzarsi con uno strumento posizionato presso le urgenze o direttamente presso il reparto
- MAI REFRIGERARLI
- Perché correre: perchè la lunga permanenza all'esterno dei sistemi di incubazione automatica può causare una mancata positivizzazione strumentale del flacone quando successivamente alloggiato in quanto la crescita microbica potrebbe aver già raggiunto il **plateau fuori dal sistema** e non essere più rilevabile dai sistemi di "*detection*" dei sistemi automatizzati, ovvero ci potrebbe essere sofferenza microbica con la conseguente mancata crescita dei microrganismi.



Evitare i prelievi inutili

Ripetizione del prelievo nei giorni successivi al primo esistono solo tre eccezioni:

- l'endocardite (la persistenza dell'infezione può richiedere una modifica della terapia)
- le sepsi da *S. aureus* in cui il prelievo dopo 2 e 4 giorni può fornire utili indicazioni di complicanze infettive insorte per via ematogena (es. endocardite o osteomielite) o per estensione dell'infezione in altre sedi (tromboflebite settica, ascessi)
- le candidemie in pazienti neutropenici, in cui dovrà essere inviata una emocoltura al giorno fino alla negatività colturale

Scelta dei brodi

- Alcuni produttori forniscono, soprattutto per le formulazioni a base di soia, dei supplementi per facilitare la crescita dei germi “difficili” (quali: NAD e Emina per neisserie ed emofili).
- Non esistono evidenze che supportino l’uso di terreni specifici e/o di flaconi dedicati alla coltura dei miceti
- L’uso di terreni contenenti inibitori degli antibiotici (es. resine o carbone) è dibattuto: rispetto ai corrispondenti brodi senza inibitori sembrano supportare meglio la crescita di stafilococchi (inclusi i contaminanti)

Modalità e tempi di incubazione



- Sistemi manuali (obsoleti), lettera quotidiana, incubazione 7 gg
- Con i sistemi automatici attualmente i flaconi vengono incubati a 35°C per 5 giorni. Il 95-97% dei microrganismi cresce entro tre-quattro giorni d'incubazione, questo vale anche per i germi tradizionalmente ritenuti difficili: *Brucella*, *Capnocytophaga*, *Campylobacter*, o HACEK.
- Non è necessario (diversamente a quanto in uso negli ultimi anni) prolungare l'incubazione nel sospetto di endocardite o di brucellosi, piuttosto è preferibile scegliere un metodo di coltura alternativo ad esempio il metodo di lisi e centrifugazione

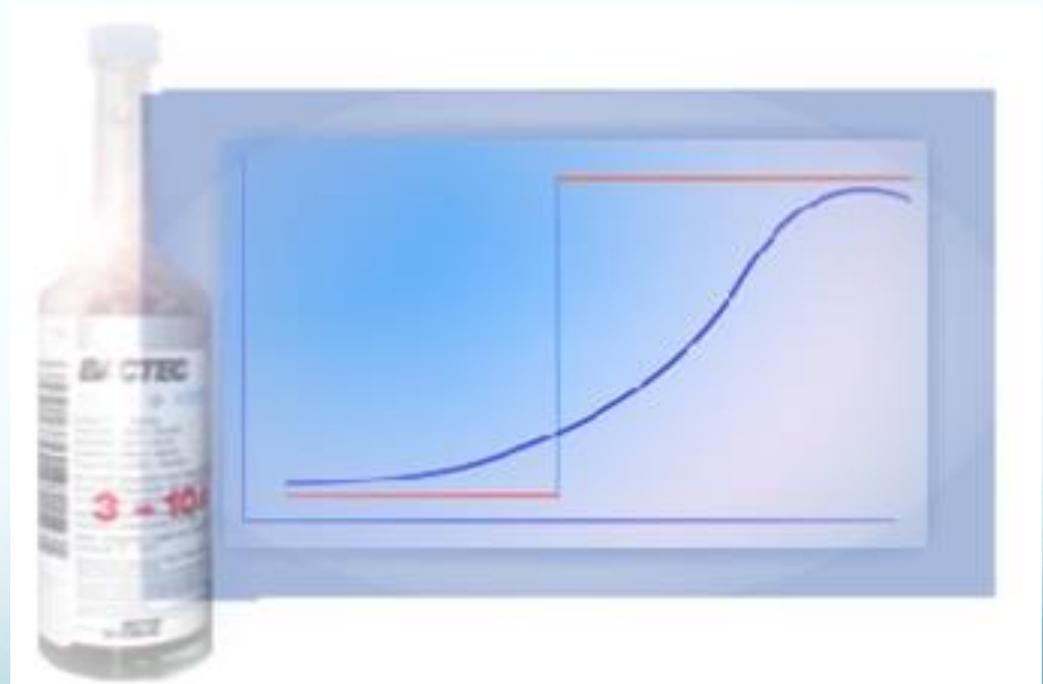
Rilievo della positività

- I sistemi automatici provvedono alla lettura ogni 10-24', segnalando eventuali flaconi positivi. Non è necessario procedere a sottocolture cieche. Il microbiologo deve rilevare dallo strumento le positività in continuo nell'arco della giornata. **Non è accettabile la rimozione a *batch* di campioni positivi**, ma al contrario i flaconi positivi devono essere prontamente rimossi all'atto della segnalazione strumentale
- Alla positività
 - Esecuzione della colorazione di Gram, I risultati vengono trasmessi immediatamente al medico curante, per telefono e/o via fax e/o altra modalità rapida (telematica). Segnalando al contempo date e ora di positività (Tempo di positivizzazione)
 - **Sub-coltura delle Emocolture Positive**

TD: time to detection

È definito come il tempo che intercorre fra l'inizio della incubazione e la positività effettiva del flacone

The mean interval until positive culture was 13.9 - 45.3 and the cut-off for predicting true bacteremia was <24h



Updated Review of Blood Culture Contamination

Keri K. Hall^{1*} and Jason A. Lyman²

Division of Infectious Diseases and International Health, Department of Internal Medicine,¹ and Division of Clinical Informatics, Department of Public Health Sciences,² University of Virginia School of Medicine, Charlottesville, Virginia 22908

....found that a time to positivity of 15 h had a positive predictive value of 84%

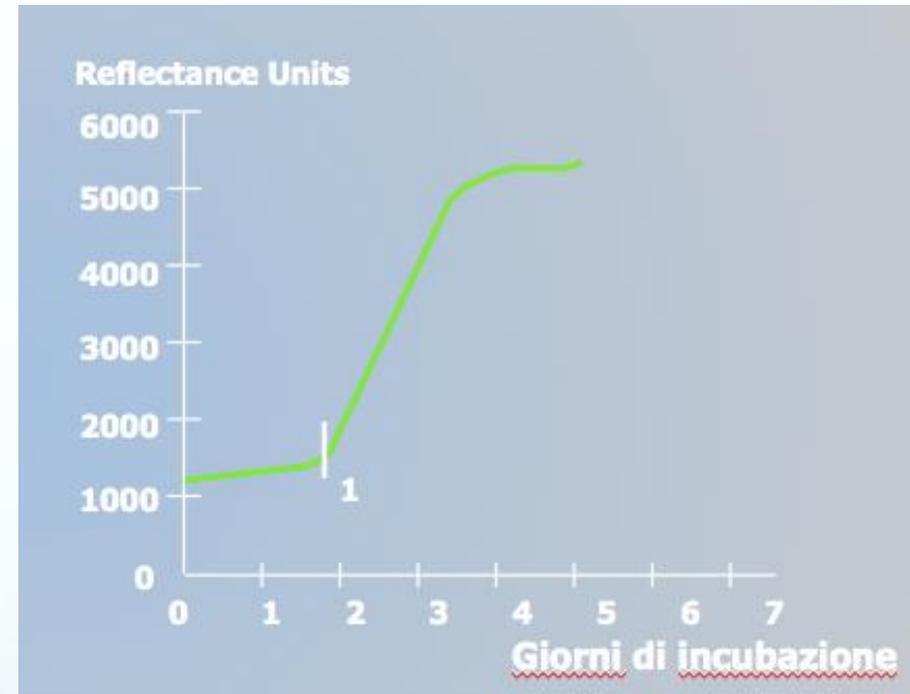
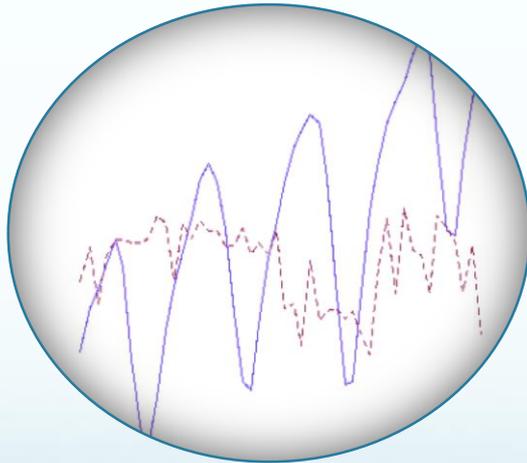
<15h true positive
>22 h contaminat

L'aiuto della innovazione tecnologica



Cosa accade nei sistemi chiusi

- L'incubazione non subisce interruzioni e la curva di crescita non avrà oscillazioni



Che flaconi usare

- Pediatrici, Ok
- Ma sempre aerobi ed anaerobi
- Ed i miceti?

I casi particolari

Emocolture positive strumentalmente, positive al Gram, ma negative alla sub-coltura

- a) arricchimento in brodo e relativa subcoltura in terreni a media e bassa selettività
- b) ovvero recuperando il pellet batterico post arricchimento e procedere ad identificazione mediante tecnologia MALDI-TOF e/o biologia molecolare
- c) ovvero se il pellet è sufficiente utilizzare i sistemi di identificazione tradizionali



I casi particolari

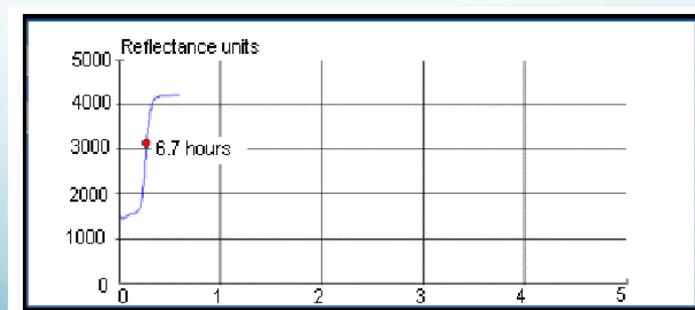
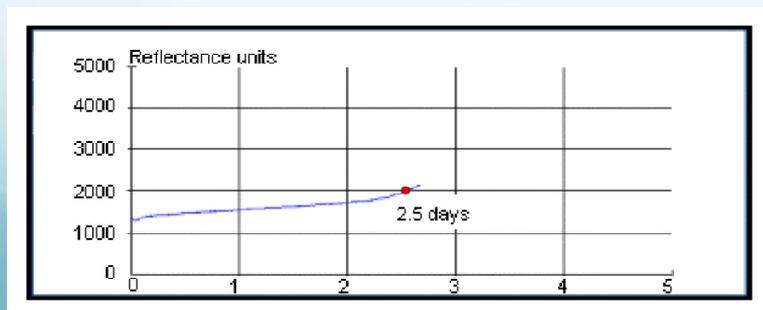
Emocolture positive strumentalmente, negative al Gram, e negative alla sub-coltura

Osservare la curva di crescita

la curva di crescita risulta monotona (da attività dovuta ai leucociti del paziente) verificare la conta delle cellule della linea bianca del paziente ed il volume d'inoculo del flacone = si può concludere per un falso positivo dovuto alla attività leucocitaria

la curva di crescita risulta esponenziale o comunque movimentata = sospettare un microrganismo dalla lenta/inusuale crescita ed eseguire:

- PCR pan batteriche/pan fungine
- Colture su terreni specifici (es miceti)



I casi particolari

Segnale di positività con striscio positivo al Gram e sottocoltura negativa:

- Sono stati osservati con specie di *Abiotrophia* spp (variante nutrizionale degli streptococchi), *S. pneumoniae* che hanno subito un certo grado di autolisi, e microrganismi esigenti che non sono in grado di svilupparsi sui terreni di coltura usati di routine. **Si deve considerare l'utilizzo di terreni addizionali o arricchiti, incubazioni prolungate o atmosfere alternative** per la crescita, considerando la loro morfologia al microscopio e le indicazioni cliniche.
- È anche descritto l'utilizzo di sistemi sofisticati basati sul pre-arricchimento e la valutazione della crescita microbica con tecnologia del *light-scattering* che hanno dimostrato essere di valido sostegno

I casi particolari

- **Emocolture negative ma forte sospetto di sepsi.**
 - Alcuni microrganismi possono essere presenti nei brodi, ma manifestare segnali di crescita minimi o assenti.
 - Non è immaginabile né costo efficace eseguire le subcolture di tutte le emocolture negative
 - Allora?
 - può essere utile ricorrere **fin dall'inizio a tecniche** di coltura alternative, ad esempio il sistema di lisi e centrifugazione ma anche sistemi di amplificazione diretta da sangue

Test di identificazione diretta

Tabella 1

Test diretti	Richiede strumentazione dedicata	Vantaggi	Limiti	Costi
Coagulasi	No	Semplicità	Bassa standardizzazione	Bassi
FISH	Si (a seconda del tipo di metodologia)	Rapidità, sensibilità e specificità	Richiede Personale esperto	Medio alti
MALDI TOF	Si	Semplicità, rapidità elevato numero di specie identificabili sia batteriche che fungine	Limiti sui campioni polimicrobici (massimo fino a due specie)	Costo test irrisorio, costo strumentazione elevato
Metodi molecolari da flacone positivo	Si	Rapidità e semplicità elevata sensibilità e specificità (possibilità di identificare più specie contemporaneamente e alcuni markers di resistenza)	Numero di specie limitate	Elevati
Metodi molecolari da sangue	Si	Rapidità buona sensibilità, significato clinico del positivo non sempre chiaro	Procedure in genere lunghe e complesse	Elevati

Contaminanti

Microrganismi contaminanti quali:

Bacillus spp,

Corynebacterium spp,

Propionibacterium spp,

Stafilococchicoagulasi negativi,

Aerococcus spp,

Micrococcus spp)

Sono spesso colonizzanti cutanei ma anche sottocutanei e formano spesso un biofilm, per cui una quota minima di contaminanti è praticamente ineludibile

possono però in particolari situazioni assumere il ruolo di veri patogeni.

Contaminanti cosa fare

La microbiologia dovrebbe:

- Dotarsi di un algoritmo interpretativo per riconoscere i contaminanti e valutare periodicamente i tassi di contaminazione.
- Ridurre al minimo l'identificazione dei contaminanti
- Non effettuare l'antibiogramma sui contaminanti oppure effettuarlo senza però riportare i risultati nel referto in modo da poterlo avere disponibile in caso di isolamento ripetuto dello stesso germe da altri *set* di emocoltura Conservare per alcuni giorni i ceppi così da consentire ulteriori approfondimenti in caso di successivi isolamenti dello stesso germe.

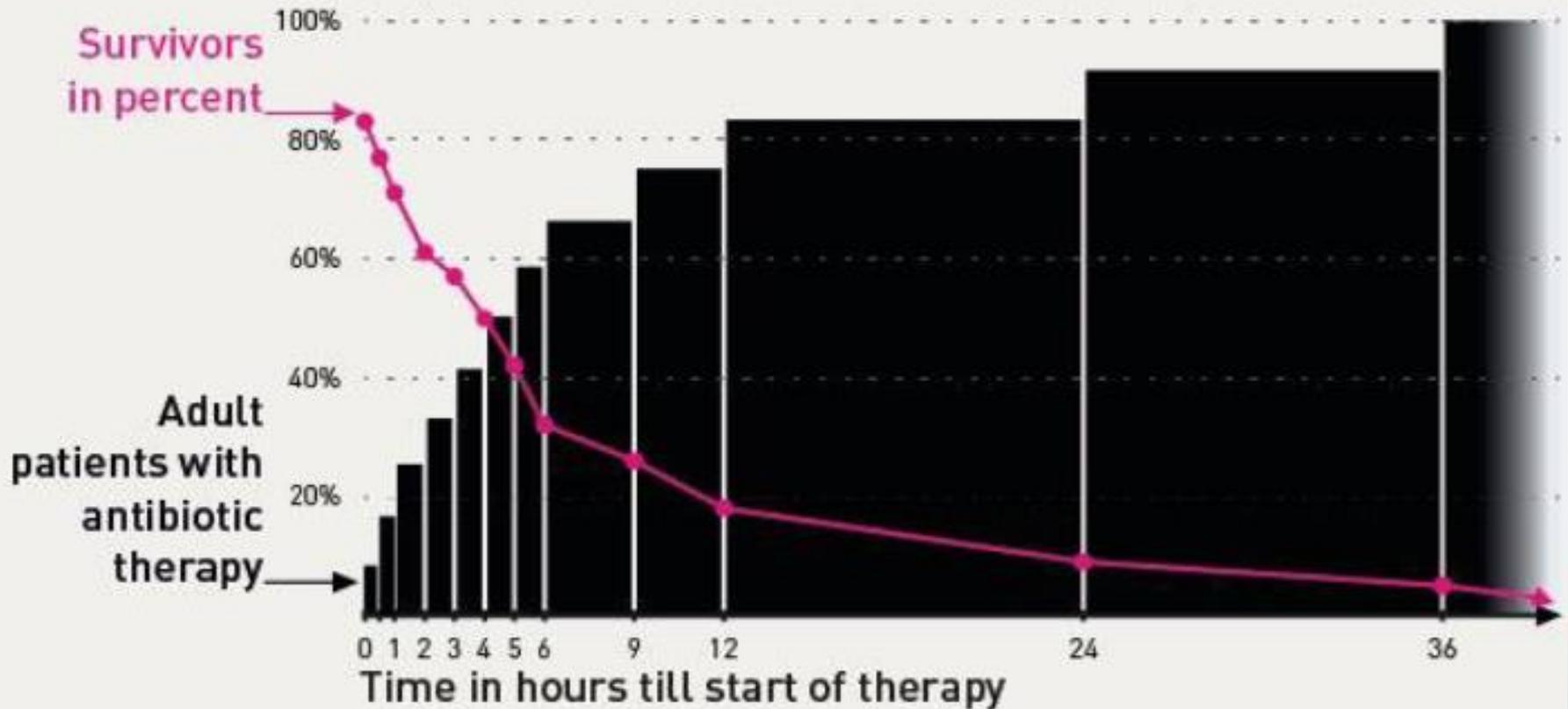
Contaminanti cosa fare

La microbiologia dovrebbe:

- Eseguire invece sempre identificazione di specie ed antibiogramma in caso di isolamenti multipli da uno stesso paziente
- Riportare una nota a commento del risultato sottolineando il possibile / probabile significato di contaminazione del microrganismo isolato.
- Diffondere annualmente, insieme ai dati sui patogeni, i tassi di contaminazione, suddivisi per reparto di provenienza.

Antibiogramma clinico

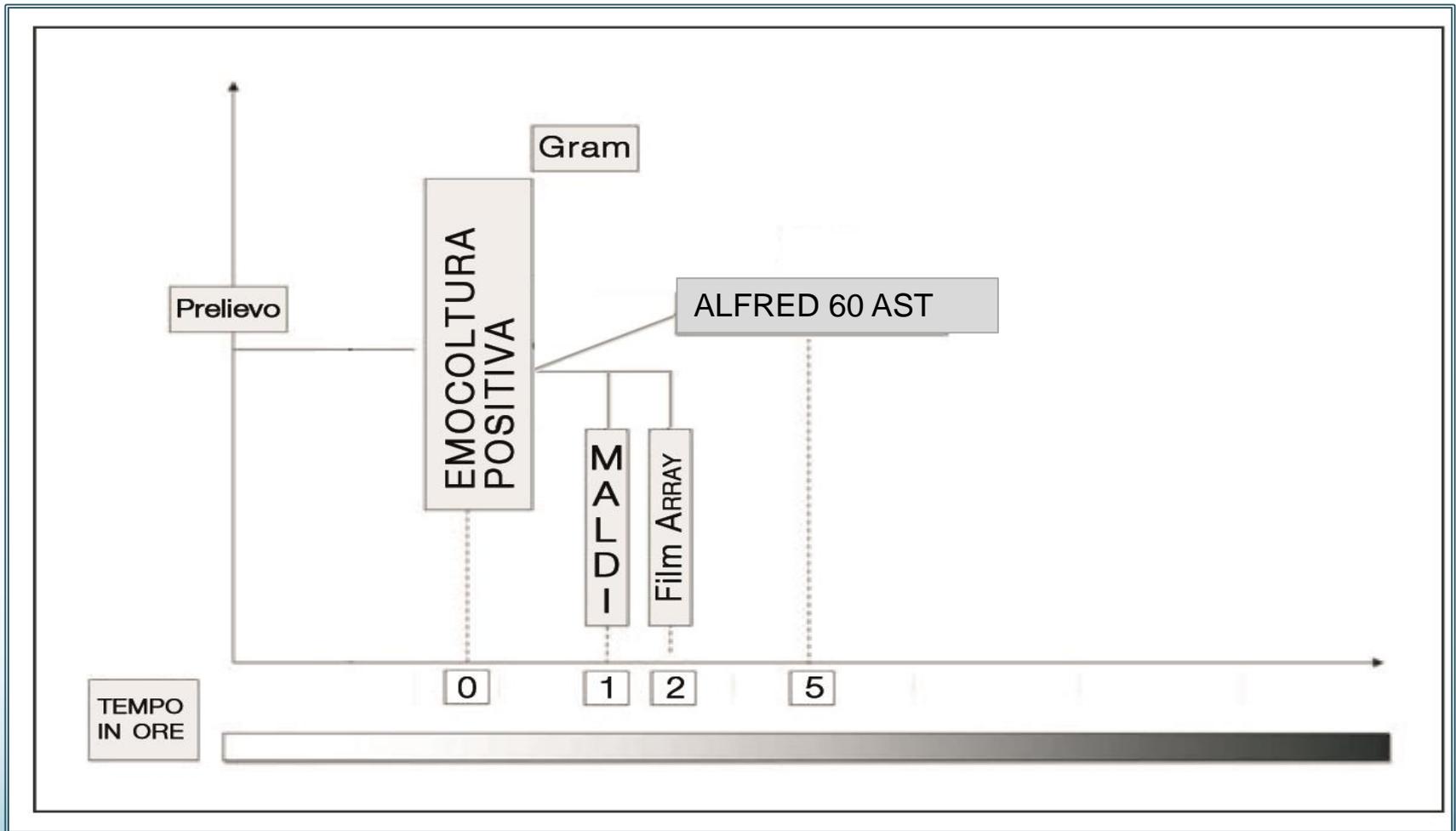
E' Tempo - Dipendente



<http://www.world-sepsis-day.org/>

Speed up dell'antibiogramma tradizionale

FLUSSO DI LAVORO ACCELERATO

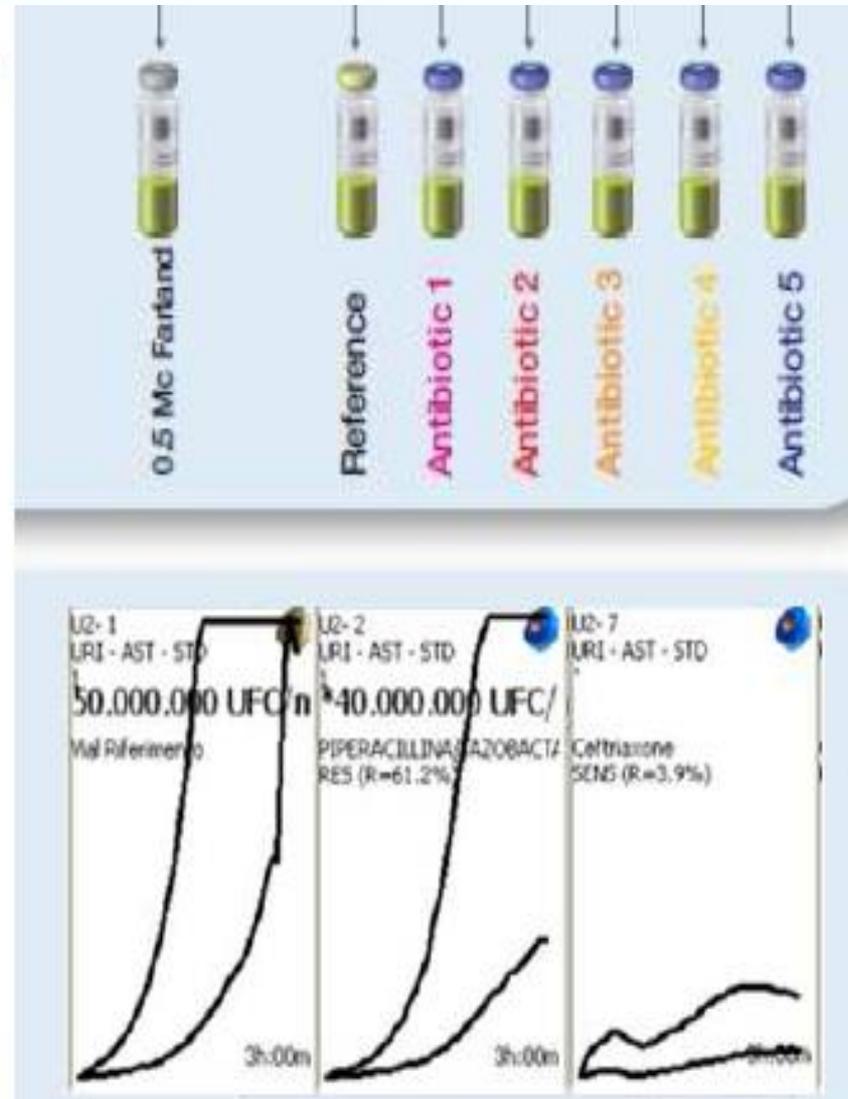


ANTIBIOGRAMMA CLINICO DIRETTO

COMPARAZIONE DELLA CRESCITA BATTERICA IN PRESENZA E IN ASSENZA DI ANTIBIOTICO E SUCCESSIVA ANALISI DELLA CURVA

PROFILO DI RESISTENZA O DI SENSIBILITÀ ANTIBIOTICA IN 3/5 ORE CHE CONSENTE DI CONFERMARE O SMENTIRE L'APPROPRIATEZZA DELLA TERAPIA ANTIBIOTICA OPPURE DI ANALIZZARE LA POSSIBILE PRESENZA DI MECCANISMI DI RESISTENZA (KPC, ESBL,...)

**AD OGGI SONO DISPONIBILE
33 MOLECOLE EUCAST E 30 CLSI**



Vantaggi

- Risultati in 3-5h
- Possibilità di creare un pannello personalizzato sul paziente
- Flessibilità: modificare anche al momento su necessità del reparto
- Elevata correlazione fra AST tradizionale e ABG clinico

Un particolare accenno alle emocolture polimicrobiche

- Rappresentano una quota in aumento sono spesso legate: età avanzata, “poor clinical status”, comorbidità
- Spesso Gram-; Gram+ e Lieviti
- Qui per ridurre i tempi ci aiuta solo la biologia molecolare

Gli indicatori

- **1 Indicatori correlati alla fase preanalitica**
- **2 Indicatori correlati alla fase analitica (processo)/outcome**

Indicatori preanalitica

- **Appropriatezza della richiesta:**

- 1 Numero di *set* di emocoltura per 1.000 giornate di degenza

(Questo indicatore dovrebbe essere studiato a **cadenza annuale**. Il tasso può essere più basso o più alto a seconda del tipo di ospedale (universitario o meno, provinciale o regionale). Si raccomanda un numero di *set* di emocolture compreso **tra 103 e 188 ogni 1.000 giornate** di degenza)

- 2 Tasso di positività delle emocolture in totale:

i valori dovrebbero essere compresi tra **6-12%** distinguendo fra veri positivi e contaminanti (dovrebbe essere effettuato con cadenza mensile e per singolo reparto e possibilmente per tipologia di paziente; <5% eccessivo uso delle emocolture; >15% tolti i contaminanti c'è da verificare il perché)

Indicatori preanalitica

Indicatori di performance per il prelievo dei campioni:

- **1 Tasso di contaminazione** delle emocolture eseguite con sangue prelevata da vena periferica (negli adulti).

Si calcola in circa 3000 \$ il costo complessivo per emocoltura contaminata. Da un punto di vista del laboratorio i **due criteri** più utili per interpretare il significato clinico sono **l'identità del microrganismo** ed il numero di **set** positivi, in funzione del **numero di set prelevati**.

- Il tasso di contaminazione è più basso adottando antisettici per la cute più attivi con minore tempo di contatto, come la clorexidina gluconato al 2% in soluzione alcolica e disinfettando il tappo del flacone con alcool al 70% lasciandolo asciugare completamente prima di immettere il sangue . Il tasso di contaminazione generalmente accettato per le emocolture prelevate da vena periferica deve essere <2- 3% di tutte le emocolture prelevate

Indicatori preanalitica

Indicatori di performance per il prelievo dei campioni:

2. Tasso di emocolture singole (escluse le pediatriche).

I set abbiamo detto devono essere composti da due flaconi,

- Il laboratorio dovrebbe avere un sistema di allarme immediato per i flaconi singoli
- **I numero dei flaconi singoli DEVE essere monitorato e non essere >5%**
- Il problema si pone per i pazienti pediatriche per i quali spesso i prelievi sono da CV e spesso in flaconi singoli

Indicatori preanalitica

Indicatori di performance per il prelievo dei campioni:

- 3 Percentuale di emocolture prelevate attraverso un catetere vascolare e non accompagnate da una coltura prelevata da vena periferica.

Questo indicatore di qualità deve essere monitorato ma per ora non esistono criteri specifici (dato certo che usando il CV il tasso di contaminazione sale anche fino all'11%).

Indicatori preanalitica

Indicatori di performance per il prelievo dei campioni:

- **4 Percentuale di emocolture riempite con >2 ml** sopra o sotto il volume raccomandato per il tipo di flacone, esclusi i pediatrici.

Il volume eccessivo di inoculazione può essere causa sia di falsi-negativi (potendosi formare coaguli che intrappolano i microrganismi) sia di falsi positivi (attività di crescita rilevata dai sistemi automatici è imputabile al metabolismo delle cellule della linea bianca del paziente).

In assenza di strumentazione in grado di rilevare il volume reale (non dedotto) è una operazione che richiede uno sforzo quotidiano: PESO del flacone. Verifica annuale

Indicatori preanalitica

Indicatori di performance per il prelievo dei campioni:

- **5. Troppe emocolture ordinate.** Quando si eseguono 2 emocolture la resa della batteriemia o fungemia è varia da 82 a >99%, con 3 emocolture è da 96 a >99% e con 4 da >99 al 100%. Si è dimostrato che quando i volumi di sangue > 80 ml non incrementano significativamente la resa delle emocolture e probabilmente non sono necessari..
- **6 Emocolture non idonee** per mancanza di etichetta identificativa o flaconi danneggiati o rotti

Indicatori preanalitica

Indicatori di performance per il prelievo dei campioni:

- **Tempo di trasporto al laboratorio**

Percentuale di emocolture inviate con ritardo > 2 ore o > 4 ore. Data l'importanza della rapida determinazione del patogeno in causa, è stato proposto di monitorare la proporzione di emocolture che sono inviate al laboratorio con ritardo, ma ancora non sono stati definiti i limiti critici da non superare.

Indicatori di processo

- **Tempo di risposta dei risultati positivi:**
 - 1. Tempo di risposta del Gram (Studi hanno dimostrato che con un tempo di refertazione del Gram < 1 h, la mortalità cruda è pari al 10.6%; se > 1h sale al 19.2% (P = 0.0389))
 - 2. Tempo della risposta ID + AST (Questo parametro dipende dell'organizzazione e del grado di automazione del laboratorio. Abbiamo la tecnologia per mantenerlo ≤ 24 H)
 - 3. Correlazione tra il Gram e il risultato delle colture (La mancanza di correlazione ha importanti conseguenze per il paziente per cui questo parametro deve essere monitorato annualmente).
 - 4. Correlazione tra i risultati dei test di sensibilità diretti dall'emocoltura comparati con quelli dei ceppi isolati (ME, VME, mE)

Indicatore	Valore target	Frequenza
<i>Richiesta di emocolture</i>		
Tasso di EMO vere positive	5-15%	mensile
numero di EMO ordinate/1.000 giornate di degenza	103-188	annuale
<i>Prelievo delle emocolture</i>		
Tasso di contaminazione delle EMO prelevate da vena periferica		mensile con report di feed-back ai reparti sopra gli standard
Tasso di EMO singole (adulti)	<2-3%	mensile o più lungo se non ci sono problemi
% di EMO prelevate solo da CVC e non accompagnate da EMO da VP	<5%	
% di EMO riempite con >2 ml di sangue sopra o sotto la quantità indicata		annuale, per un tempo limitato
troppe EMO richieste		sempre
<i>Tempo di trasporto in laboratorio</i>		
% di EMO inviate con ritardo >2-4 h		
<i>Processo delle emocolture</i>		
Tempo di comunicazione del Gram dalla positivizzazione del flacone		
Correlazione tra il Gram e la coltura		per periodi limitati, annualmente
tempo di refertazione della identificazione		o più frequentemente se necessario
tempo di refertazione del test di sensibilità		
Risultati comparati tra i test di sensibilità rapidi/preliminari e definitivi		
<i>Indicatori di outcome</i>		
% di infezioni trattate con un antibiotico al quale il microrganismo è sensibile, nelle diverse fasi (prima e dopo il prelievo ma senza risposta microbiologica, dopo i dati di laboratorio)		

Indicatori di outcome

Indicatori di outcome in rapporto alla terapia

L'*outcome* del paziente non dipende solo della terapia antibiotica adeguata, ma anche da altri parametri come il tipo di microrganismo, l'età del paziente, alcuni fattori predisponenti, la fonte dell'infezione, ecc.

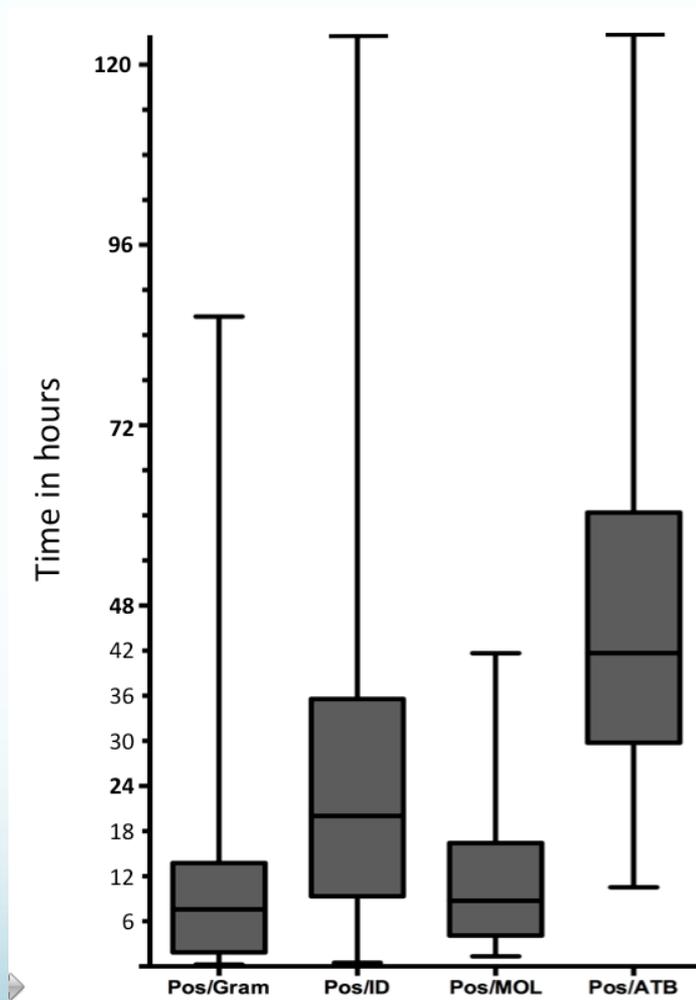
Questi sono gli indicatori che si riferiscono all'*outcome* in rapporto al fatto che il microrganismo infettante sia sensibile alla terapia somministrata in ognuno dei seguenti momenti

a) quando è stata prelevata la prima emocoltura positiva

b) dopo che è stata prelevata l'emocoltura, ma prima di avere il risultato positivo della coltura (terapia empirica)

c) dopo il referto dell'emocoltura positiva con il risultato della colorazione di Gram (ma prima di avere i risultati dell'identificazione e dei test di sensibilità) d) dopo che i risultati dell'identificazione e dell'antibiogramma sono stati prodotti in un referto definitivo.

Altro Studio Glipac AMCLi



==== Median

Pos/Gram: positivizzazione-Gram

Pos/ID: positivizzazione-identificazione

Pos/MOL: positivizzazione-antibiogramma molecolare

Pos/ID: positivizzazione-antibiogramma definitivo

Conclusioni

- Si tratta di un campione nobile al quale dedicare tutta la nostra attenzione ed il massimo dello sforzo tecnologico
- Sempre tenendo presente che il tempo è vita
- Ma non dimenticando che va valutato/misurato anche nel tempo proprio perché è un indicatore delle performance e della qualità del lavoro del laboratorio di microbiologia

The image features a central graphic with a white background. Two white, stylized 3D human figures are positioned on either side of the word "THANKS". Both figures are bowing forward, with their heads touching the ground. The word "THANKS" is written in large, bold, red, sans-serif capital letters. Behind the text, there are several concentric, semi-transparent white circles that create a ripple effect. The entire graphic is set against a light blue gradient background that transitions from white at the top to a darker blue at the bottom.

THANKS