

 <b>ASL Sassari</b> Azienda socio-sanitaria locale	Direzione Sanitaria	Direzione Sanitaria ASL1 Sassari
Codifica Pagina 1 di	Procedura Corretta Modalità di Raccolta e Conservazione dei Campioni Biologici	Data: 21/11/2022 Revisione

# Procedura Corretta Modalità di Raccolta e Conservazione dei Campioni Microbiologici

<b>Redazione</b>	<b>Verifica</b>	<b>Approvazione</b>
Data	Data	Data
Gruppo Antimicrobial stewardship	Dott. Vito La Spina Direttore Sanitario ASL 1 Sassari	Presidente Cica Dott. Vito La Spina

## INDICE

1. Introduzione pag. 4
2. Raccomandazioni pag. 4
3. Scopo pag. 6
4. Campo di applicazione pag. 6
5. Matrice delle responsabilità pag. 6
6. Premessa pag. 7
7. Sorveglianza pag. 8
8. Indicazioni per i prelievi di materiali biologici pag. 10
  - 8.1 Urinocoltura pag. 10
  - 8.2 Esami microbiologici da feci pag. 11
  - 8.3 Ricerca tossine di *Clostridium difficile* pag.12
  - 8.4 Esami microbiologici apparato respiratorio pag. 13
  - 8.5 Tamponi microbiologici cute pag. 16
9. Emocoltura pag. 17
- Bibliografia pag. 22

## 1. INTRODUZIONE

Il campione biologico che viene raccolto in ambulatorio o in reparto ha un'importanza vitale nella diagnosi e gestione clinica del paziente, sia esso sangue, urina, feci, espettorato, non va dimenticato che è il primo passaggio vitale per una decisione diagnostica e terapeutica corretta. Una corretta modalità di raccolta e di trasporto di un campione biologico assicura una maggior precisione e attendibilità del risultato dell'esame richiesto. Un prelievo e/o un invio non appropriato del materiale biologico ha come conseguenza un errato trattamento terapeutico con possibile danno per il paziente. L'obiettivo principale delle indagini microbiologiche è quello di diagnosticare le infezioni ed individuare i patogeni in causa, al fine di garantire però la significatività dei risultati, il microbiologo deve poter disporre di campioni biologici che contengano tutti, **e solo**, i microrganismi responsabili del processo patologico, questo è possibile solo quando i campioni da esaminare sono quelli corretti e sono stati raccolti secondo la procedura corretta. L'attendibilità dei risultati potrebbe essere influenzata però dalla possibile presenza di errori, l'errore si può verificare in qualsiasi fase del processo del laboratorio, distinto nelle fasi: preanalitica, analitica e post analitica, gli errori preanalitici possono generare delle non conformità (NC), ovvero campioni non idonei per le indagini di laboratorio problemi che ne pregiudicano l'analisi con conseguente errore diagnostico, terapeutico. L'esecuzione del prelievo di materiale biologico è una prestazione di fondamentale importanza che oltre a permettere l'analisi dei diversi parametri clinici, la diagnosi immediata e la scelta del trattamento terapeutico adeguato alla situazione, permette anche di monitorarne attentamente l'evoluzione di una condizione clinica. È, pertanto necessario che il personale sanitario incaricato della raccolta dei campioni si attenga alle istruzioni fornite nel presente documento.

### 1. RACCOMANDAZIONI

- 1. Raccogliere i campioni, quando possibile, prima dell'inizio della terapia antibiotica**, la presenza dell'antibiotico o di sostanze disinfettanti nel materiale da esaminare può impedire lo sviluppo, e quindi l'identificazione, del germe in causa. In caso di terapia antibiotica in corso è opportuno darne segnalazione al laboratorio
- 2. Evitare la contaminazione del campione** La patologia infettiva può essere sostenuta in molti casi da patogeni "facoltativi" od "opportunisti" che, a differenza dei patogeni classici, fanno parte della popolazione microbica di alcuni distretti corporei o dell'ambiente esterno. Questi microrganismi possono contaminare i campioni se la raccolta non è eseguita con modalità rigorosamente asettiche e "falsare" in questo modo il risultato delle indagini microbiologiche.
- 3. Utilizzare contenitori appropriati alle indagini** L'uso di idonei contenitori assicura la corretta esecuzione delle indagini microbiologiche, consente il corretto trasporto e la corretta manipolazione del campione.

4. **Effettuare tempestivamente il trasporto dei campioni al laboratorio di Microbiologia** È sempre opportuno, per i campioni che necessitino di una indagine microbiologica, far pervenire tempestivamente il campione biologico al laboratorio di Microbiologia.
5. **Inviare al laboratorio di Microbiologia il modulo di richiesta** compilato in ogni sua parte, insieme al campione biologico Il modulo di richiesta dell'esame microbiologico deve essere sempre compilato accuratamente, indicando i dati anagrafici, la data, l'ora del prelievo, la diagnosi clinica o il sospetto diagnostico, l'eventuale terapia in corso. Queste sono tutte informazioni indispensabili per una corretta esecuzione dell'esame.
6. **I campioni biologici devono essere inviati al laboratorio di Microbiologia in apposite buste di plastica** per proteggere l'operatore durante la manipolazione del campione. Le buste di plastica devono essere a due scomparti se accompagnate dal modulo cartaceo. Tutti i campioni biologici devono essere considerati potenzialmente infetti, gli operatori sanitari devono sempre adottare le precauzioni standard durante la raccolta e il trasporto del campione.

### 3. SCOPO

La presente procedura ha lo scopo di indicare la modalità corretta di prelievo, raccolta e preparazione dei campioni biologici che rappresenta un prerequisito essenziale per assicurare la qualità del dato analitico, e quindi la qualità del servizio offerto al paziente. Inoltre, assicura che vengano messe in atto le corrette modalità di comportamento da parte di tutti gli operatori coinvolti nell'esecuzione delle attività in oggetto al fine di:

- garantire la sicurezza del personale coinvolto in tutte le fasi;
- impedire la dispersione di agenti infettanti o potenzialmente infettanti;
- descrivere i processi appropriati e standardizzati per il prelievo, la raccolta e la conservazione di campioni idonei all'esame di laboratorio,
- standardizzare le attività considerate critiche.

### 4. CAMPO DI APPLICAZIONE

La seguente procedura si applica a tutti i campioni biologici da sottoporre ad accertamento diagnostico microbiologico presso i laboratori presenti in Asl. La procedura si applica indistintamente ai campioni provenienti dell'utente interno ed esterno

## 5. MATRICE DELLE RESPONSABILITÀ

Legenda: R = responsabile C = coinvolto

	CICA.	Gruppo operativo	Coordinatori	Medico	CPSI	Ausiliari	Laboratorio analisi
Approvazione	R						
Divulgazione procedure		C	R				
Correttezza della modalità di richiesta				R	C		
Corretta esecuzione procedura preanalitica			C	C	R		
Corretto trasporto campioni			C		C	R	
Verifica conformità campioni biologici					C		R
Refertazione							R
Controllo referti				R	C		

## 6. PREMESSA

Durante la preparazione dei campioni biologici per il trasporto è obbligatorio:  
indossare sempre guanti monouso

Verificare che la superficie esterna dei contenitori non sia contaminata da materiale biologico

Verificare che tutti i contenitori siano correttamente identificati e ben chiusi.

Vanno quindi tenute in considerazione alcune norme generali che valgono per tutte le tipologie di campioni clinici analizzabili:

- il campione deve essere raccolto con il minimo di contaminazione da parte di tessuti o secrezioni adiacenti
- deve essere prelevato nei momenti ottimali
- deve essere prelevato in quantità sufficiente per permettere le colture richieste
- deve essere prelevato, qualora possibile, prima della somministrazione di antibiotici
- si devono utilizzare contenitori sterili

Esempio di elenco di microrganismi con profilo di resistenza che necessitano di [misure di interruzione della trasmissione](#) rilevabili da campioni colturali per i quali è necessario che la fase preanalitica venga eseguita secondo procedure standardizzate

**Enterococchi** (E. faecium ed E. faecalis) vancomicina-resistente (VRE)

**Pseudomonas aeruginosa** con fenotipo di resistenza estesa (sensibile solo a Colistina o sensibile solo a Colistina e/o Amikacina)

**Pseudomonas aeruginosa** resistente a ceftolozano/tazobactam

**Acinetobacter baumannii** complex resistente ai Carbapenemi (Imipenem e/o Meropenem e/o Colistina)

**Enterobatteri resistenti ai Carbapenemi** (CRE) (Imipenem e/o Meropenem e/o Ertapenem)

**Escherichia coli** resistente ai Carbapenemi (Imipenem e/o Meropenem) o resistente a Cefalosporine di 3° e 4° generazione

**Klebsiella pneumoniae** resistente ai Carbapenemi (Imipenem e/o Meropenem), o resistente a Cefalosporine di 3° e 4° generazione

**Stenotrophomonas maltophilia** resistente al cotrimossazolo

**Staphylococcus aureus meticillino resistente** (MRSA)

**Staphylococcus aureus** resistente ai glicopeptidi (Vancomicina, Teicoplanina)

**Staphylococcus aureus** resistente a Linezolid o Daptomicina

## 7. La sorveglianza dei microrganismi con multiresistenza antibiotica (MDRO)

I Microrganismi Multiresistenti agli Antibiotici (MDRO) sono microrganismi caratterizzati dalla resistenza ad una o più classi di antibiotici.

La diffusione di MDRO costituisce un fenomeno in continua evoluzione e rappresenta una crescente minaccia per la salute pubblica. Le infezioni da tali organismi, infatti, comportano un aumento della mortalità, nonché dei costi ospedalieri dovuti al prolungarsi della degenza.

I MDRO non devono essere confusi con i microrganismi in grado di causare malattie infettive diffuse, infatti:

- i microrganismi che causano malattie infettive diffuse sono microrganismi che partendo da un soggetto malato possono contagiare e infettare soggetti sani venuti a contatto con tale microrganismo (ivi inclusi gli operatori sanitari); per tali malattie è obbligatoria la notifica di malattia infettiva e l'adozione di specifiche precauzioni atte ad interrompere la catena della trasmissione. Il personale sanitario è pertanto soggetto a rischio di malattia come un qualsiasi altro soggetto venuto a contatto con tali microrganismi, se non vengono messe in atto le dovute precauzioni;

- i microrganismi multiresistenti (MDRO), oggetto di questa procedura, non causano malattie infettive contagiose trasmissibili dal soggetto infetto a soggetto sano, né da soggetto infetto agli operatori sanitari. Tuttavia, se non vengono adottate le precauzioni necessarie ad evitare la trasmissione, prima fra tutte il corretto lavaggio delle mani, gli operatori sanitari sono il principale veicolo di trasmissione dell'infezione ad altri pazienti suscettibili.

Una componente fondamentale di qualsiasi programma di controllo delle infezioni consiste nella sorveglianza dei microrganismi multi resistenti. La sorveglianza comporta la raccolta sistematica, l'analisi e la presentazione dei dati di antibiotico-resistenza.

In generale, le strategie di sorveglianza comprendono due livelli: la sorveglianza passiva e quella attiva.

- La sorveglianza passiva viene definita sorveglianza di primo livello dei MDRO ed è basata sui risultati microbiologici della routine di laboratorio. Risultati che consentono di assistere il clinico nella scelta della terapia più appropriata per la cura delle infezioni e che possono anche essere utilizzati come base per il controllo e la prevenzione delle infezioni stesse.

- Si parla di sorveglianza attiva di secondo livello, quando "intenzionalmente in base a fattori di rischio specifici" si effettuano tamponi di screening che consentono di rilevare la colonizzazione asintomatica da MDRO dei pazienti e di provvedere all'isolamento evitando infezioni crociate. Lo screening di sorveglianza attiva deve essere indirizzato in particolar modo ai pazienti che possono rappresentare reservoir per la diffusione di un ampio numero di batteri nell'ambiente, quali ferite colonizzate/infettate, colonizzazione a livello urinario o fecale, o con difficoltà nella gestione delle secrezioni respiratorie (Strausbaugh et al., 1996).

Attualmente i microrganismi alert più comuni che rientrano in questo tipo di sorveglianza sono:

- **Enterobacteriaceae** produttrici di beta-lattamasi ESBL o AmpC con sensibilità ridotta ai carbapenemi o resistenti ai carbapenemi e/o ad altre classi di antibiotici potenzialmente attivi (MDR, XDR, PDR);
- *Pseudomonas* spp. (MDR, XDR, PDR);
- *Acinetobacter* spp. (MDR, XDR, PDR);
- *Staphylococcus aureus* MRSA o resistente ai glicopeptidi o al linezolid;
- *Enterococcus faecalis* ed *Enterococcus faecium* (VRE);
- *Stenotrophomonas maltophilia* resistente al cotrimossazolo;



- *Streptococcus pneumoniae* resistente alla penicillina.
- *Clostridium difficile*.

#### Legenda

MDR: ceppo non sensibile ad almeno 1 o più antibiotici appartenenti ad almeno 3 o più classi di antibiotici;

XDR: ceppo non sensibile ad almeno un farmaco in tutte le classi potenzialmente attive ad eccezione di una o due;

PDR: non suscettibile a tutti gli agenti antimicrobici testati;

VRE: enterococco resistente alla vancomicina;

MRSA: *Staphylococcus aureus* meticillino resistente.

## 8. INDICAZIONI PER I PRELIEVI DI MATERIALI BIOLOGICI

### ESAMI MICROBIOLOGICI SULLE URINE

#### 8.1 URINOCOLTURA

##### Urine raccolte con contenitore sterile

##### Materiale occorrente:

Contenitore sterile di plastica a bocca larga con tappo a vite

##### Ricerca:

- Batteri Gram Positivi
- Gram Negativi
- Miceti

Eventuali terapie antibiotiche in atto possono interferire sull'esito e vanno segnalate in laboratorio.

##### Conservazione:

+2°/8°C, consegnare in laboratorio entro massimo 4 ore dalla raccolta.

##### Modalità di raccolta:

##### Urine da Mitto Intermedio

- Nel contenitore sterile a bocca larga, raccogliere le prime urine del mattino, scartando il primo getto dopo accurata detersione dei genitali esterni con soluzione saponosa, sciacquare e asciugare con panno pulito
- Scartare il primo getto di urina e raccogliere direttamente nel contenitore il mitto intermedio avendo l'avvertenza di non contaminare con le mani o i genitali i bordi, il coperchio o l'interno del contenitore
- Scartare l'ultimo getto di urina
- Chiudere accuratamente il contenitore

### **Urine raccolte con Sacchetto Adesivo**

- Lavare accuratamente con acqua e sapone i genitali esterni ed il perineo, sciacquare ed asciugare
- Aprire il sacchetto sterile evitando di toccare l'interno far aderire il sacchetto alla cute
- Raccogliere le urine
- Richiudere il sacchetto utilizzando l'apposita linguetta adesiva
- Porre il sacchetto in posizione verticale in un contenitore a bocca larga
- Non travasare le urine dal sacchetto in un altro contenitore

**Se il bimbo non riesce ad urinare, rimuovere il sacchetto dopo 30 min. e ripetere la procedura**

### **Urine raccolte da Catetere a permanenza**

- Clampare il catetere immediatamente a valle del dispositivo di prelievo
- Disinfettare il dispositivo del catetere predisposto per il prelievo
- Raccogliere sterilmente con una siringa la quantità di urina necessaria, e immetterla in un contenitore sterile

**Nella richiesta da inviare in laboratorio segnalare la provenienza di prelievo**

## **8.2 ESAMI MICROBIOLOGICI DA FECI**

### **COPROCOLTURA:**

#### **Ricerca:**

- Salmonella sp.
- Shigella sp.

- Campylobacter

Altri germi possono essere correlati a patologie enteriche, e la loro ricerca deve essere esplicitamente richiesta dal medico:

- Staphylococcus aureus solo ceppi enterotossici, ossia in grado di produrre enterotossine e ceppi non enterotossici. I ceppi enterotossici rappresentano circa la metà del totale.
- Yersinia enterocolitica
- E.Coli O enteropatogeni (non ricercati nel nostro laboratorio)
- Candida sp.

Materiale occorrente

- contenitore sterile di plastica con paletta di raccolta e tappo a vite

### **Modalità di raccolta**

- Prelevare una piccola quantità di feci (pari ad una noce se le feci sono solide, o ad un cucchiaino colmo se le feci sono liquide o semi liquide).
- Chiudere accuratamente il contenitore

### **Conservazione:**

A temperatura ambiente per massimo due ore, altrimenti in frigorifero a +2/8 °C per al massimo per 24 ore

- Le feci devono essere prelevate possibilmente all'esordio dell'enteropatia quando sono diarroiche, e prima dell'inizio della terapia antibiotica
- Il materiale fecale deve essere raccolto evitando la contaminazione con urina.
- Le feci devono essere raccolte con il cucchiaino normalmente presente nei contenitori in commercio, e la quantità del campione deve essere pari ad una "noce"

## **8.3 RICERCA DI CLOSTRIDIUM DIFFICILE**

### **Campioni idonei:**

**fecì diarroiche (che assumono la forma del contenitore).**

Di norma l'esame su un campione è sufficiente per porre diagnosi, tuttavia, a fronte di un primo risultato negativo in presenza di forte sospetto clinico di CDI può essere utile ripetere l'indagine, informando il laboratorio di Microbiologia.

### **Campioni non idonei:**

Tampone rettale

Feci formate eccetto il caso di sospetto ileo associato a *C.difficile*.

### **Trasporto e conservazione del campione:**

- I campioni devono essere riposti nei contenitori per le feci da chiudere in un'apposita busta di plastica
- Se il test non può essere effettuato immediatamente, si raccomanda di conservare i campioni ad una temperatura compresa tra 2° e 8 ° C per un massimo di 24 ore.

### **Tampone Rettale**

Screening di particolari patogeni:

- Enterococcus sp. Vancomicina resistente (VRE)
- Gram negativi MDR (multi drug resistant)

### **Materiale occorrente**

1 Tampone con terreno di trasporto

### **Modalità di prelievo:**

- Pulire la zona anale con acqua tiepida senza usare disinfettanti
- Inserire il tampone nel canale rettale per circa 2 cm, e lasciarlo in sede per almeno 30 secondi, ruotandolo contro le pareti mucose

### **Conservazione:**

In caso di consegna tardiva, il materiale biologico può essere conservato a +2/8° C al massimo per 24 ore

## **8.3 ESAMI MICROBIOLOGICI APPARATO RESPIRATORIO**

### **TAMPONE FARINGEO**

#### **Ricerca:**

- Batteri Gram Positivi e Gram Negativi
- Miceti

**Materiale occorrente:**

- 1 Tampone con terreno di trasporto
- Abbassalingua

**Modalità di prelievo:**

- Con una appropriata illuminazione, premere la lingua con un abbassalingua
- Inserire il tampone fino alla parte posteriore del faringe, evitando il contatto con la lingua, il velo palatino e le arcate dentarie
- Assicurarci che il tampone si imbibisca del materiale patologico della lesione premendo sulle cripte tonsillari in cui si annida il germe; evitare che il tampone si contamini con saliva
- Il tampone deve essere estratto solo al momento del prelievo e riposto immediatamente nel terreno di trasporto.

**Conservazione:**

a temperatura ambiente per un massimo di 48 h

**Tampone nasale****Materiale occorrente:**

1 Tampone con terreno di trasporto

**Ricerca:**

- Batteri Gram Positivi e Gram Negativi
- Miceti

**Modalità di prelievo:**

- Estrarre il tampone dalla confezione sterile
- Inserire con cautela il tampone per 1-2,5 cm, in una narice, ruotare delicatamente
- Estrarre e ripetere l'operazione nell'altra narice rimuovere il tampone ed inserirlo nella provetta contenente il terreno di trasporto chiudere bene il dispositivo

**Conservazione:**

A temperatura ambiente per un massimo di 48 h

**Espettorato****Materiale occorrente**

Contenitore sterile a bocca larga (barattolo per urine) con tappo a vite

**Ricerca:**

- Streptococcus beta-emolitico di gruppo A
- Streptococcus pneumoniae
- Staphylococcus aureus

- Enterobatteri
- Miceti

### **Modalità di raccolta**

- Pulire con uno spazzolino da denti (senza dentifricio) la mucosa interna di guance, lingua e gengiva; sciacquare con acqua
- Raccogliere l'espettorato dopo un colpo di tosse: l'espettorato deve provenire dall'apparato polmonare-bronchiale e non deve essere costituito da saliva se il paziente ha difficoltà ad espettorare è consigliato fare un aerosol di soluzione fisiologica tiepida

### **Conservazione:**

Il campione deve essere consegnato al più presto in laboratorio. In caso di consegna tardiva il materiale biologico deve essere conservato a +2/8° C per massimo 24 ore.

## **Tampone Cavo Orale**

### **Materiale occorrente:**

1 Tampone con terreno di trasporto

### **Modalità di prelievo:**

Strisciare il tampone direttamente sulle lesioni della mucosa orale o sulla lingua

### **Ricerca:**

L'indagine microbiologica in lesioni orali è rivolta esclusivamente alla ricerca di miceti.

Altre ricerche batteriologiche non trovano indicazione per l'elevata presenza di flora batterica residente

### **Conservazione:**

A temperatura ambiente per un massimo di 48 h

## **8.5 TAMPONI MICROBIOLOGICI CUTE**

### **Materiale occorrente:**

- Tampone con terreno di trasporto per raccolta ascessuale scarsa
- Siringa sterile per raccolta ascessuale abbondante
- Contenitore di plastica sterile (provette o recipienti con tappo a vite)

### **Modalità di prelievo:**

#### **Nel caso di lesioni superficiali:**

- Detergere la lesione con soluzione salina sterile
- Effettuare il prelievo con un tampone evitando il più possibile ogni contaminazione con i tessuti circostanti
- Inumidire il tampone in soluzione fisiologica o acqua distillata sterile
- Raccogliere le secrezioni con il tampone, strisciandolo o ruotandolo nella sede della lesione, evitando di toccare la cute integra
- Riporre il tampone nel contenitore

#### **Nel caso di raccolte chiuse:**

- Disinfettare la cute con un impacco antisettico per almeno un minuto
- Prelevare con una siringa sterile almeno 1-2 ml di materiale
- Eliminare eventuali bolle di aria dalla siringa
- Immettere lentamente il materiale nel contenitore sterile

### **Ricerca:**

- Batteri Gram Positivi e Gram Negativi
- Miceti

### **Conservazione:**

- Inviare il contenitore sterile al più presto in laboratorio, o conservare a +2/8°C per massimo 24h;
- Il tampone con mezzo di trasporto va conservato a temperatura ambiente per massimo 48h

## **9. EMOCOLTURA**

### **Premessa**

Abbiamo dedicato un paragrafo a parte per l'emocoltura in quanto rappresenta l'esame ottimale nelle diagnosi delle infezioni del torrente circolatorio, soprattutto per la gestione clinica delle sepsi. L'isolamento colturale di batteri o funghi dal sangue possiede un importante valore diagnostico, prognostico e terapeutico al fine della scelta della terapia basata sull'identificazione dell'agente infettivo e sulla sua sensibilità ai farmaci antimicrobici. Il valore prognostico dell'emocoltura è limitato dalla contaminazione dei flaconi. I pazienti con emocolture contaminate spesso ricevono antibiotici non necessari e sono sottoposti ad ulteriori test di laboratorio per determinare la causa del risultato positivo della coltura ematica. Solo una tecnica corretta riduce il rischio di contaminazione senza

però eliminarlo del tutto. Nella pratica clinica esistono delle tecniche che non sono supportate da evidenza scientifica quali il momento del prelievo e il tempo.

Prelevare il campione di sangue al momento del picco febbrile, quando si ritiene che aumenti la possibilità di poter diagnosticare una batteriemia o fungemia.

E' dimostrato che la pratica di eseguire una emocoltura alla comparsa del brivido e del rialzo termico rapido non incrementa il tasso di positività dell'esame, 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 basato sul così detto ciclo batterimico.

La scelta di aspettare il rialzo termico può essere complicata nelle persone anziane, spesso ipotermiche, per cui è utile tenere sotto controllo la pressione sanguigna e la frequenza cardiaca, comparsa di confusione mentale, il conteggio dei globuli bianchi e altri marcatori biologici di infiammazione quali Proteina C Reattiva, **lattati** e procalcitonina (PCT).

Anche la pratica, comune, di ottenere campioni 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. 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. Prelevare i set tutti nello stesso momento permette di:

- Evitare disagi al paziente (varie venopunture soprattutto in quei pazienti con scarso bagaglio venoso)
- Evitare contaminazioni dei prelievi, (in particolare nei casi in cui vi sia la necessità clinica di iniziare una terapia antibiotica empirica, il rationale per l'utilizzo di una "single-sampling strateg" (prelevare cioè l'intero volume di sangue da un singolo prelievo e suddividerlo in 4-6 flaconi) si basa sulla possibilità di ridurre il tasso di contaminazione limitando il numero dei prelievi)

Fanno eccezione i pazienti con sospetta endocardite batterica subacuta o altre infezioni endovascolari (ad es. infezioni del CVC), 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.

In ogni caso, tutte le raccomandazioni concordano nel fatto che l'emocoltura vada eseguita prima dell'inizio della terapia antibiotica empirica: il mancato isolamento nelle colture può avvenire entro minuti oppure ore dopo la prima dose di antibiotico. Diversi studi retrospettivi suggeriscono che l'ottenimento di emocolture prima dell'inizio del trattamento antibiotico è associato a un migliore esito dei pazienti.

## **ESECUZIONE DI EMOCOLTURA DA VENA PERIFERICA (per la procedura corretta è preferibile la presenza di due operatori)**

### **Materiale occorrente:**

#### **Set di prelievo:**



- N.2 flaconi contenenti brodo di coltura: uno per batteri aerobi e miceti, ed uno per anaerobi

- Sistema di prelievo sottovuoto (*Vacutainer*)
- Guanti (non sterili/sterili)
- Mascherine chirurgiche
- Garze sterili
- Telino sterile
- Dispositivi di protezione individuale (schermi facciali)
- Contenitore rigido per smaltimento taglienti
- Contenitore per rifiuti ordinari
- Alcool a 70°
- Antisettico: clorexidina 2% >> tempo d'azione: 30 sec.- 1 min.

**L'utilizzo di alcool isopropilico al 70% o etilico al 70% e successivamente clorexidina al 2% parrebbe il miglior compromesso per un'antipsepi ottimale della cute**

### **Sede del prelievo**

- Il prelievo da sangue venoso periferico, compatibilmente con le condizioni cliniche, rimane comunque il gold standard per l'esecuzione corretta di emocolture.
- Il prelievo per emocoltura dovrebbe essere effettuato da sangue venoso poiché l'utilizzo di sangue arterioso non aggiunge niente alla sensibilità dell'esame
- In mancanza di un accesso venoso periferico adeguato, è possibile utilizzare sangue arterioso che non presenta svantaggi dimostrati rispetto a quello venoso in termini di contaminazione e sensibilità.
- Nei pazienti portatori di catetere venoso centrale, le linee guida indicano unanimemente che questi non dovrebbero essere utilizzati per prelevare il sangue, tranne che in pazienti nei quali si sospetti una infezione associata al catetere stesso (catheter related bloodstream infection, CR-BSI): in questo caso devono essere eseguiti un prelievo periferico e uno da catetere in parallelo e un ulteriore prelievo da vena periferica . Tuttavia non sempre è possibile accedere a una vena periferica e pertanto si deve ricorrere al prelievo da CVC anche al di fuori delle sospette CR-BSI.
- Non prelevare da cateteri venosi periferici (aghi cannula picc o midline) già in sede possibilmente va scelto un sito di venipuntura che non sia stato utilizzato in precedenza. Non è raccomandato utilizzare un agocannula anche se è stato posizionato al momento.

### **Modalità di prelievo:**

- Praticare l'igiene delle mani rispettando la corretta procedura

- Recarsi dal paziente, spiegargli la procedura e invitarlo a girare il capo dalla parte opposta durante il prelievo.
- Applicare il laccio emostatico, scegliere il sito per il prelievo, togliere il laccio emostatico.
- Effettuare frizione alcolica delle mani, indossare i dispositivi di protezione individuale.
- Indossare guanti puliti (o sterili nel caso in cui sia necessario ripalpare il sito prescelto)
- Pulire il sito scelto per il prelievo con alcool a 70° per rimuovere lo sporco e lasciare agire per 60 secondi.
- Praticare l'antisepsi del sito prescelto con garze sterili e clorexidina al 2%, utilizzando la tecnica definita "**back and forth, side to side**" una frizione vigorosa avanti e indietro e da destra a sinistra. lasciare agire per circa 30 sec-1minuto (la clorexidina deve essere usata con cautela nei neonati)
- Ripetere l'antisepsi per tre volte.
- Applicare nuovamente il laccio emostatico facendo attenzione a non contaminare la zona disinfettata
- Aprire la confezione del telino sterile e far cadere l'ago farfalla protetto. Innestare l'adattatore *luer lock* sterile nella campana per il prelievo
- Eseguire il prelievo con il sistema *Vacutainer*.
- Nel caso in cui siano previsti anche altri prelievi, l'emocoltura va effettuata per prima
- Riempire prima il flacone con il terreno per aerobi poi quello per anaerobi (in questo modo l'aria residua presente nel tubicino del *butterfly* entrerà nel flacone per emocoltura in aerobiosi)
- Riempire il terreno di coltura con adeguata quantità di sangue (per gli adulti 8-10 mL\* per terreno); 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 il contenitore del terreno di coltura dal *Vacutainer*
- Togliere il laccio e praticare emostasi con tampone asciutto e bendaggio.

**\*Nel caso in cui le condizioni del paziente non permettano di prelevare la quantità richiesta, utilizzare i flaconi pediatrici aspirando quantità inferiori (3mL).**

***N.B.: Non ripalpare la vena prima della puntura se non con guanti sterili.***

#### **Preparazione del terreno di coltura:**

- Togliere il coperchio di plastica dai flaconi e disinfettare la membrana di gomma
- **NON utilizzare composti iodati (Iodio Povidone) corrodono la membrana**
- Coprire la sommità del flacone con tampone imbevuto con alcool a 70° o clorexidina al 2%
- Lasciare il tampone in sede fino all'esecuzione del prelievo
- Una volta rimosso il tampone, lasciare asciugare per 30 secondi.

- Inoculare i flaconi tenendoli in posizione verticale (prima il flacone aerobio e poi l'anaerobio)
- Inserendo circa 8-10 ml di sangue (sorvegliare il volume tenendo come riferimento le tacche da 5 ml riportate sul flacone) Indicare con un pennarello il punto esatto di riempimento del flacone (seconda tacca dopo brodo coltura) corrispondente a 10 ml.
- Smaltire il materiale negli appositi contenitori
- Apporre l'etichetta identificativa del paziente sul contenitore del terreno di coltura (non coprire il codice a barre)
- **Segnalare se I, II o III campione, l'accesso venoso del prelievo, l'ora e la data.**

### **RACCOMANDAZIONI DA SEGUIRE SCRUPOLOSAMENTE:**

- **Sospetta sepsi in paziente privo di catetere venoso** o con CVC o PICC in sede **da meno di 48 ore**: 2-3 set di prelievo raccolti da vene periferiche di distretti differenti simultaneamente, da eseguire preferibilmente il prima possibile dall'insorgenza della sintomatologia (ad es febbre), e prima dell'inizio della terapia antibiotica
- **Sospetta sepsi da catetere correlata** in paziente con CVC o PICC in sede da più di 48 ore: prelevare simultaneamente 1 set di prelievo dal catetere e 1-2 set di prelievo dalla vena periferica

### **Ricerca:**

- Batteri Gram Positivi e Gram Negativi aerobi
- Batteri anaerobi
- Miceti

### **Conservazione:**

- Inviare prima possibile i campioni in laboratorio.
- In caso di effettuazione del prelievo in orari o giorni di chiusura del laboratorio, **non refrigerare mai i campioni, conservarli a temperatura ambiente ed inviarli prima possibile senza coprire con garze o cerotti.**

**L'ASEPSI E' ESSENZIALE: EVITA I FALSI POSITIVI** (contaminazione con germi saprofiti). Il sangue prelevato da catetere arterioso o CVC spesso dimostra la colonizzazione del catetere intravascolare e non la batteriemia. Per cui ha scarso

significato un'emocoltura eseguita da CVC a meno che non si voglia dimostrarne la contaminazione

### DIAGNOSI DÌ INFEZIONE DA CATETERE VENOSO CENTRALE

- Si preleva contemporaneamente un campione di sangue dal catetere e dal sangue periferico.
- Si valuta la positivizzazione dei due campioni ed il tempo impiegato alla rilevazione (*time to detection*).
- La concentrazione di microrganismi nel sangue proveniente dal catetere infetto è 5 volte superiore a quello del sangue periferico.

### POSSIBILI RISULTATI:

- **Positività di entrambe le emocolture:** se il tempo di positivizzazione del sangue prelevato dal catetere è almeno di 2-3 ore più precoce della positivizzazione di quello prelevato dalla vena periferica è significativo per infezione del catetere venoso centrale. In questo caso se possibile rimuovere sempre il catetere altrimenti ricorrere alla **Antibiotic lock therapy**: può essere attuata in concomitanza alla terapia antibiotica sistemica, per ridurre la carica microbica nel lume del catetere. Viene realizzata riempiendo lo "spazio morto" del catetere con soluzioni concentrate di antibiotico selezionato in base alla sensibilità del patogeno isolato.
- **Negatività dell'emocoltura del solo sangue prelevato dal catetere:** aiuta ad escludere una infezione legata al catetere.

**L'adozione delle buone pratiche può contribuire ad aumentare l'efficacia diagnostica dell'emocoltura e a garantire l'erogazione di cure appropriate al paziente.**

1. **Se il paziente fosse allergico alla Clorexidina**, l'antisepsi cutanea dovrà essere eseguita con Iodopovidone al 10 % in soluzione alcolica al 70 % con un tempo di contatto di circa 2 minuti
2. **Nel caso in cui siano previsti anche esami emato-chimici**, il prelievo per l'emocoltura va effettuato per primo.
3. **Quando** si esegue il prelievo sia da vena periferica che da catetere venoso centrale, va eseguito per primo il prelievo da vena periferica, per evitare che manovre al catetere centrale immettano microrganismi in circolo.
4. **Si ricorda** che il Midline non è un CVC, ma un catetere periferico lungo.
5. **Il prelievo da vena periferica**, quando possibile, dovrebbe essere fatto sull'arto opposto a quello in cui è inserito il CVC.
6. **In caso di prelievo** da accesso vascolare di tipo centrale non deve essere eliminata la prima parte di sangue prelevato.
7. **In caso di prelievo** da accesso vascolare di tipo centrale occorre rimuovere il connettore senz'ago prima di eseguire il prelievo.

8. **Se il catetere venoso centrale** ha più lumi, va specificato il lume da cui è stato prelevato il campione.

## Bibliografia

1. Manuale Procedure Preanalitiche e Modalità di Raccolta e Conservazione dei Campioni Biologici Data aggiornamento: 13/09/22
2. Documento Italiano di Consenso "Procedure di esecuzione, trasporto e conservazione del prelievo per emocoltura in caso di sospetta sepsi" Associazione Microbiologi Clinici (AMCLI) Società Italiana di Farmacia (SIFO) Società Italiana di Microbiologia (SIM) Società Multidisciplinare per la Prevenzione delle Infezioni nelle Organizzazioni Sanitarie (SIMPIOS) Maggio 2018
3. Mauro Pittiruti, Giancarlo Scoppettuolo: "Manuale GaVeCeLT dei PICC e Midline: introduzione, impianto e gestione" Edizione EDRA 2016.
4. Proposta di percorso diagnostico – Infezioni del torrente circolatorio (2014) Associazione Microbiologi Clinici Italiani (AMCLI) Rocchetti A. et altri, Documento di consenso Raccomandazioni APSI-SIMPIOS sull'emocoltura nel paziente settico, GImPIOS vol. 6 n° 4 ottobre-dicembre 2016 129-135
5. Kelly, Colleen R. MD, AGAF, FACG<sup>1</sup>; Fischer, Monika MD, MSc, AGAF, FACG<sup>2</sup>; Allegretti, Jessica R. MD, MPH, FACG<sup>3</sup>; LaPlante, Kerry PharmD, FCCP, FIDSA<sup>4</sup>; Stewart, David B. MD, FACS, FASCRS<sup>5</sup>; Limketkai, Berkeley N. MD, PhD, FACG (GRADE Methodologist)<sup>6</sup>; Stollman, Neil H. MD, FACG<sup>7</sup> ACG Clinical Guidelines: Prevention, Diagnosis, and Treatment of *Clostridioides difficile* Infections, *The American Journal of Gastroenterology*: June 2021 - Volume 116 - Issue 6 - p 1124-1147 doi: 10.14309/ajg.0000000000001278
6. Strausbaugh LJ, Crossley KB, Nurse BA, Thrupp LD. Antimicrobial resistance in long-term-care facilities. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996; 17:129-40