

Diagnostica delle sepsi: analisi dei risultati dell'indagine nazionale del GdS-Malattie Infettive

I. Bianco^a, M. Pradella^b

^aPatologia Clinica Ospedale Renzetti, Lanciano (CH)

^bAutorizzazione e Accreditamento, Asolo (TV)

Riassunto

Il gruppo di Studio Malattie Infettive della SIMeL ha realizzato un'indagine nazionale sulle emocolture in Italia. Sono stati raccolti dati su: tipologia dell'ospedale; numero di posti letto; numero di ricoveri; autonomia della Microbiologia; attività nei festivi; protocolli con i reparti; numero di emocolture eseguite per anno; percentuale di isolamenti e tipologia; effettuazione di esame microscopico e comunicazione dei risultati preliminari; esecuzione di prove dirette, di marcatori di sepsi e utilizzo della diagnostica molecolare; tempo di risposta medio (TAT) delle emocolture; numero di emocolture singole rispetto a 2 o 3 coppie di prelievi.

Dall'analisi dei risultati è emersa la necessità di definire protocolli di comportamento sia per la diagnostica delle batteriemie e delle sepsi che per la definizione delle situazioni di contaminazione nonché per il miglioramento della fase post-analitica.

Summary

Sepsis diagnosis: a national survey on blood culture in Italy

The SIMeL Infectious Diseases Study Group has completed a national survey on blood culture in Italy. Data collected include the type of hospital, number of beds, number of hospitalizations; the autonomy of Microbiology service; the activity during the holidays; the protocols with clinical departments, the number of blood cultures per year; the percentage and type of the isolates; the microscopic examination and disclosure of the preliminary results; direct testing, markers of sepsis and use of molecular diagnostics; the average turn-around time (TAT) of blood cultures; the number of individual emocoltures vs the use of two or three sets.

An analysis of the results showed the need to establish codes of behaviour for both the definition of contamination and bacteriemias and sepsis diagnosis.

Key words: sepsis diagnosis, blood culture, turn-around time.

Introduzione

L'emocoltura rappresenta uno strumento indispensabile e una procedura validata per rilevare la presenza di microrganismi nel torrente circolatorio e indirizzare verso un'appropriata antibiotico-terapia. I sistemi automatici per l'esecuzione di questa importante indagine stanno rapidamente sostituendo quelli manuali per i numerosi vantaggi che offrono in termini di standardizzazione del risultato. L'elevato potenziale diagnostico di questa ricerca può essere però influenzato da molteplici fattori in grado di diminuirne o aumentarne l'efficacia e che in larga misura dipendono da una politica di appropriatezza nelle diverse fasi^{1,2}:

1. Fase preanalitica: necessità di protocolli condivisi con i reparti ed elaborati dalla Microbiologia, che non sempre presidia questo passaggio critico del percorso analitico delle emocolture. Fattori importanti in questa fase sono rappresentati da:
 - Notizie cliniche sulle terapie intercorrenti e sospetto diagnostico che nell'insieme permettono di mettere in atto idonei sistemi di incubazione monitoraggio, rilevamento della crescita e interpretazione del risultato.
 - Corrette tecniche di pulizia e di antisepsi della cute per ridurre il fenomeno diffuso delle contaminazioni.
 - Numero dei campioni e tempo di prelievo: il prelievo deve essere eseguito utilizzando un set di due flaconi, uno per aerobi e l'altro per anaerobi con un numero

- che va da due a tre set, in rapida successione per aumentare le possibilità di isolare il vero agente eziologico. E' necessario il rispetto dei tempi di campionamento, legati generalmente alla puntata febbrile e al carattere transitorio continuo o intermittente delle batteriemie; nei pazienti con cateteri venosi e il sospetto di batteriemia a partenza dal catetere stesso è importante l'esecuzione di campioni paralleli di sangue da catetere e da vena periferica controlaterale o direttamente la coltura della punta per identificare il punto di partenza dell'infezione².
- Volume dei campioni: la quantità di sangue rappresenta un fattore molto importante ai fini di una corretta diagnostica di infezione. Il numero di microrganismi in una batteriemia di un paziente adulto è frequentemente basso, spesso $<1 \times 10^3$ unità formanti colonie/L, elemento questo che giustifica la criticità del volume. Il volume raccomandato va da 20 a 30 ml di sangue, ma la maggior parte dei sistemi automatici indica come sufficiente un volume di 10 ml. Nei neonati e nei bambini la batteriemia, solitamente più elevata rispetto all'adulto, giustifica un volume di massimo 1-2 ml².
 - Trasporto e conservazione: le emocolture dopo l'esecuzione devono essere trasportate in Microbiologia e immediatamente processate sia che si utilizzi un sistema manuale che automatico. In caso di impossibilità alla consegna tempestiva le emocolture possono essere incubate in termostato a 35-37 °C subito dopo il prelievo. La conservazione a temperatura ambiente può essere accettata in assenza di termostato. Se l'esecuzione dell'esame dovesse essere ritardata è necessario accertarsi al momento della processazione che non vi sia già una crescita (torbidità del terreno, esame microscopico) per eseguire subito delle sub-colture².
2. Il processo analitico delle emocolture deve essere basato su protocolli validati, ispirato a principi di efficienza ed efficacia³⁻¹⁰, quindi comprendere:
- Valutazione del percorso preanalitico (volume, timing, quesito etc).
 - Condizioni e tempo di incubazione dei campioni: con l'utilizzo di sistemi automatici i flaconi sono messi in incubazione in strumenti che mantengono la temperatura di 36 °C (± 1 °C) e un tempo di incubazione che va dai 5 ai 7 giorni, idoneo anche per sistemi manuali.
 - Su un campione sospetto di positività, servendosi di sistemi di prelievo standardizzati, deve essere sempre eseguito un esame microscopico con colorazione di Gram. Questo semplice passaggio permetterà di verificare la presenza di flora, mono o poli microbica, la morfologia del germe, ed indirizzare idonee sottocolture. Sarebbe importante in questa fase analitica per incidere positivamente sul TAT, sulla base dell'esame microscopico, servirsi di procedure di identificazione diretta (prova della coagulasi, gallerie di identificazione) e di rilevazione delle principali resistenze (meticillino-resistenza, beta-lattamasi a spettro esteso), tecniche di cui auspichiamo la standardizzazione⁴. Queste preziose informazioni sotto forma di risultato preliminare scritto o telefonico, con rintracciabilità dell'azione, devono essere tempestivamente comunicate al clinico. Un primo risultato in tempi rapidi permetterà, infatti, l'impostazione di una terapia empirica nell'attesa del dato definitivo.
- Ricerca di marcatori ad alta specificità come la procalcitonina che in una fase precoce di un evento febbrile può aiutare a distinguere le sepsi da altre situazioni non infettive e successivamente essere impiegata per il monitoraggio.
 - Utilizzo di nuove metodiche di diagnostica molecolare che possono offrire in tempi brevissimi l'identificazione del germe e alcuni importanti profili di antibiotico-resistenza ma che non possono sostituirsi alla diagnostica microbiologica classica e prescindere da un continuum analitico.
 - La valutazione degli isolati come clinicamente significativi o come contaminanti e/o colonizzanti deve tener conto del rispetto delle condizioni indicate in pre-analitica, del tipo di germe isolato, su quale numero di flaconi, delle condizioni di immunocompetenza del paziente, della presenza di dispositivi protesici. Gli stafilococchi coagulasi-negativi (CoNS) pongono spesso problemi interpretativi e non è sempre facile stabilire se il ceppo sia in causa nella batteriemia o sia il risultato di procedure non corrette.
- In generale per l'attribuzione di una corretta eziologia della sepsi da CoNS sono validi i seguenti criteri^{5,6}:
- a. Il ritrovamento di CoNS su più set di emocolture eseguite nella stessa giornata.
 - b. L'identificazione fenotipica e il profilo di antibiotico-sensibilità: Stafilococchi epidermidis, schleiferi, haemolyticus, lugdunensis, simulans sono più coinvolti in sepsi vere rispetto ad altri fenotipi più facilmente colonizzanti.
 - c. Il tempo di positivizzazione: un ruolo eziologico più probabile con tempi minori e comunque inferiori alle 72 ore.
 - d. La positività dei CoNS su un'emocoltura solitaria, pratica da scoraggiare per l'interpretazione sempre difficoltosa su un solo campione, può essere basata anch'essa sulla valutazione complessiva del percorso, ma il rischio di fornire identificazione e antibiogramma per un germe non responsabile del processo infettivo è alto.
- La diagnosi di batteriemia catetere-correlata è spesso problematica e in generale si basa sul riscontro di:
 - a. Isolamento dello stesso microrganismo dal sangue e dal sito di inserzione del catetere (con carica >15 CFU)
 - b. Sepsì clinica che non risponde alla terapia antimicrobica, ma si risolve con la rimozione del catetere.
 - c. Differente carica microbica nella coltura quantitativa proveniente da catetere (>10 volte) rispetto a quello da vena periferica controlaterale
 - d. Con l'utilizzo di sistemi automatici, differente tempo di positivizzazione dell'emocoltura da catetere, rispetto a quella da vena periferica: la precocità della positivizzazione dell'emocoltura dall'accesso venoso (< 2 h) depone per un ruolo attivo nella sepsi⁷⁻¹⁰.
3. La fase post-analitica richiede un intervento valutativo dell'isolato sulla base di tutte le notizie acquisite di carattere tecnico e clinico¹¹⁻¹⁴. La risposta dovrà contenere dei commenti o dei messaggi di richiamo, soprattutto nei casi di dubbia interpretazione, nei quali l'antibiogramma dovrà essere eseguito solo se tutte le condizioni pri-

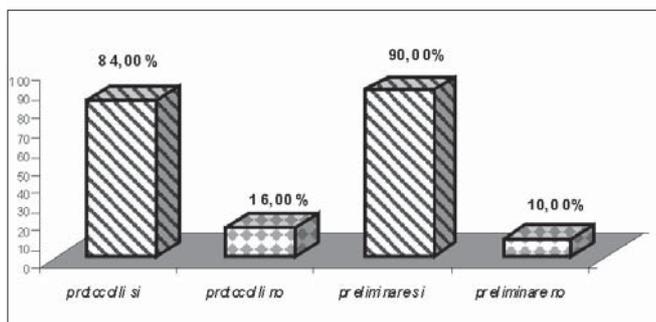


Fig. 1. Organizzazione del servizio: protocolli con i reparti e risultati preliminari.

ma esposte sono state soddisfatte. E' importante altresì intervenire anche in caso di emocolture negative e persistenza della sintomatologia eseguendo, in accordo con il clinico, prove supplementari colturali, sierologiche o molecolari per la definizione dell'eziologia dell'infezione. Non sarà mai sufficiente ripetere che una buona comunicazione interna è una premessa necessaria per il miglioramento dell'intero processo clinico assistenziale e della sicurezza per il paziente.

Materiali e metodi

Il gruppo di Studio Malattie Infettive della SIMeL attraverso un'indagine nazionale sulla situazione delle emocolture in Italia ha cercato di fotografare diverse realtà operative, valutando sia gli elementi legati alle strutture che quelli correlati alle diverse procedure nelle differenti fasi che compongono il percorso diagnostico.

Per le strutture, le caratteristiche richieste sono state: tipologia dell'Ospedale, numero di posti letto, numero di ricoveri; per i servizi: autonomia della Microbiologia; attività nei festivi; presenza/assenza di protocolli d'intesa con i reparti per la corretta esecuzione delle emocolture; numero di emocolture eseguite/anno; percentuale d'isolamenti e tipologia; effettuazione di esame microscopico e comunicazione dei risultati preliminari; esecuzione di prove dirette, di marcatori di sepsi e utilizzo della diagnostica molecolare; tempo di risposta medio (TAT) delle emocolture; numero di emocolture singole rispetto a 2 o 3 set.

Uno degli aspetti più utilizzati, infatti, per valutare l'uso improprio delle emocolture e più in generale della diagnostica delle sepsi sono la percentuale di emocolture singole rispetto a set di almeno due prelievi e/o l'elevato isolamento di potenziali contaminanti. Questi elementi critici correlano con un dispendio economico, uno scarso razionale nell'uso degli antibiotici e un inutile lavoro di diagnostica microbiologica.

Risultati

I principali risultati dell'indagine sono riassunti nelle Figure 1-3.

Attraverso l'elaborazione dei questionari è stato rilevato il ricorso ancora alto ad emocolture singole per diagnosticare una possibile sepsi nonostante la notevole incidenza di CoNS. Un elevato utilizzo di tale procedura (oltre i livelli soglia definiti critici dal College of American Pathologists) indica uno scarso livello di qualità istituzionale che

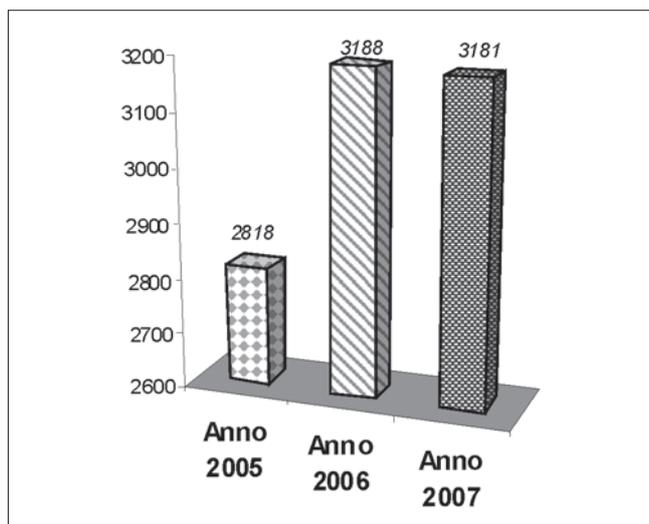


Fig. 2. Dati di attività: numero medio di emocolture effettuate.

richiede un intervento educativo da parte del microbiologo. L'analisi delle risposte ha permesso quindi la stima del livello di potenziale contaminazione dei campioni singoli rispetto a 2 o 3 set completi e dunque lo scarso potere del campione singolo ai fini di una diagnostica di sepsi ad esempio da stafilococchi coagulasi negativi.

Sono emerse anche le difficoltà nella corretta assegnazione di ruolo (patogeno o contaminante) del germe isolato, nonché la scarsa abitudine al commento e l'affidamento in molti casi al solo risultato microbiologico o molecolare, abdicando alle funzioni specialistiche e interpretative proprie del microbiologo clinico.

Il TAT ancora elevato in numerose realtà rappresenta una criticità importante di tutto il processo che necessita invece di risultati sempre più rapidi per incidere positivamente sull'outcome clinico.

Sul fronte della comunicazione interna s'intravede nell'indagine una realtà organizzata a compartimenti stagni dove il lavoro del microbiologo finisce il più delle volte con il risultato dell'esame colturale fine a se stesso. Le ragioni di tali comportamenti sono difficili da identificare e variano di volta in volta dalla scarsa abitudine alla clinica da parte del Laboratorio, alla diffidenza del clinico nei confronti di chi si ritiene confinato alla funzione puramente di batteriologo.

Nelle realtà dove si è trovato invece un buon equilibrio tra i due "schieramenti" l'intero processo ne ha guadagnato con le rispettive organizzazioni finalmente plasmate sui

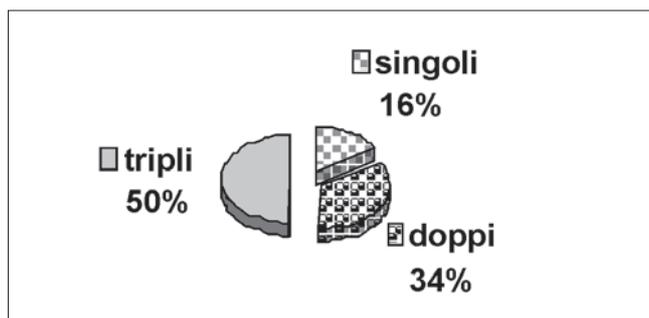


Fig. 3. Valutazione del campionamento: tipo di set utilizzati nei tre anni.

bisogni di salute del paziente.

Discussione e conclusioni

Dall'analisi dei risultati è emersa la necessità di definire protocolli di comportamento che consentano un percorso comune nella diagnostica delle batteriemie e delle sepsi e nella definizione delle situazioni di contaminazione. In particolare appare fondamentale il rispetto dei seguenti punti:

- Indirizzare la diagnosi con protocolli operativi condivisi con i reparti per il prelievo, la conservazione e il trasporto dei campioni per emocolture, allo scopo di trasmettere la logica che governa la pre-analitica e la richiesta appropriata per l'effettuazione di ogni tipo di indagine microbiologica.
- Investire in programmi di formazione del personale e farsene parte attiva per presidiare un momento strategico quale è la pre-analitica.
- Utilizzare procedure validate per la fase analitica delle emocolture, che consentano la corretta identificazione del microorganismo responsabile, la valutazione del ruolo di contaminante (ad esempio, la riduzione drastica del tasso di emocolture solitarie) ed il ricorso ad indagini di altro tipo (procalcitonina, metodiche molecolari).
- Promuovere protocolli efficaci di comunicazione e collaborazione tra microbiologia e clinica, per il miglioramento della qualità dell'assistenza e della sicurezza del paziente ovvero della riduzione del rischio clinico.
- Interpretare il risultato colturale correlandolo al quadro clinico e agli altri elementi a disposizione, nonché facilitare l'uso del dato microbiologico attraverso una risposta commentata, condizioni tutte in grado di influenzare positivamente la decisione clinica e la scelta terapeutica.
- Diminuire i tempi di risposta sia attraverso l'utilizzo dell'automazione e di metodiche più rapide che ci sono messe a disposizione, che con l'ottimizzazione dei flussi di lavoro per una disponibilità più continua della microbiologia, condizione questa che potrebbe, da sola, influenzare in maniera significativa TAT e qualità del servizio.

L'emocoltura, nonostante le apparenze, rimane un esame di laboratorio molto difficile da preparare, eseguire e interpretare.

Le tecniche colturali e i metodi alternativi contribuiscono al miglioramento della capacità diagnostica del laboratorio, ma la competenza del Microbiologo, esercitata anche nelle fasi pre-esame e post-esame, non ha sicuramente un peso inferiore. Al contrario, è l'unico elemento in grado

di evitare non solo che vadano sprecate le risorse impegnate nella tecnologia e nella componente umana del laboratorio, ma soprattutto che al paziente siano erogate cure non appropriate per il proprio caso.

Bibliografia

1. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Principles and Procedures for Blood Cultures; Proposed Guideline. CLSI document M47-P (ISBN 1-56238-619-0). Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2006.
2. Health Protection Agency (2005). Investigation of blood cultures (for organisms other than mycobacterium species). National Standard Method BSOP 37 Issue 5. http://www.hpastandardmethods.org.uk/pdf_sops.asp (data di consultazione: 20.08.2008).
3. College of American Pathologists. Commission on Laboratory Accreditation. Laboratory Accreditation Program. Microbiology Checklist. Revised: 09.27.2007.
4. Carey BE, Nicol L. The combined oxacillin resistance and coagulase (CORC) test for rapid identification and prediction of oxacillin resistance in *Staphylococcus* species directly from blood culture. *J Clin Pathol* 2008; 61:866-8.
5. Weinstein MP. Blood Culture Contamination: Persisting Problems and Partial Progress. *J Clin Microbiol* 2003; 41:2275-8.
6. Tokars JI. Predictive value of blood cultures positive for coagulase-negative staphylococci: implication for patient care and health care quality assurance. *Clin Infect Dis* 2004; 39:333-41.
7. Health Protection Agency. Investigation of Intravascular Cannulae and Associated Specimens. National Standard Method BSOP 20 Issue 5, 2008. http://www.hpastandardmethods.org.uk/pdf_bacteriology.asp (data di consultazione: 20.08.2008).
8. Istituto Superiore di Sanità. Protocollo per la prevenzione, diagnosi e terapia delle infezioni associate a cateteri venosi centrali ISSN 1123-3117 Rapporti ISTISAN 02/34.
9. Jean-Luc Pagani JL, Eggimann P. Management of catheter-related infection. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2008; 6:31-7.
10. Guidelines for the Prevention of Intravascular Catheter - Related Infections. *MMWR* 2002; 51:RR-10.
11. Risk management in Sanità: il problema degli errori. Ministero della Salute. Commissione tecnica sul rischio clinico (DM 5 Marzo 2003).
12. Camporese A. Il microbiologo clinico nel panorama di modernizzazione della medicina di laboratorio. *Riv Med Lab - IJLM* 2004; 5 (Suppl):121-32.
13. Grosso S, Camporese A. Valutazione di appropriatezza, efficienza ed efficacia di alcune procedure analitiche per ridurre il turnaround time delle emocolture. *RIMeL/IJLaM* 2007; 3:203-12.
14. Camporese A. Numero di emocolture solitarie e percentuali di contaminazione come indicatori della qualità preanalitica delle emocolture. *RIMeL / IJLaM* 2007; 3:106-12.