

La sorveglianza microbiologica post-ricondizionamento degli endoscopi flessibili termolabili

Documento multi-societario di SIMPIOS, ANOTE-ANIGEA, AIGO, AICO, AIOS, AIPO-ITS, ISSE e SIED

Beatrice CASINI¹, Angelo PAN², Alessandra GUARINI³, Cinzia RIVARA⁴, Angelo ZULLO³, Fabio MONICA⁵, Monica CIMBRO⁶, Salvatore CASARANO⁷, Agostino INGLESE⁸, Adriano VAGHI⁹, Luigi SCHIFFINO¹⁰, Erminio CAPEZZUTO¹⁰, Paola DA MASSA CARRARA¹², Luigi PASQUALE¹³

e Gruppo di Lavoro sulle Infezioni in Endoscopia (Appendice)

¹. Dipartimento di Ricerca Traslazionale e Nuove Tecnologie in Medicina e Chirurgia Università di Pisa

². Malattie Infettive, ASST Cremona

³. Gastroenterologia, Ospedale Nuovo Regina Margherita, Roma

⁴. Gastroenterologia, S.C. ASL TO4 Ciriè-Chivasso-Cuorgnè, Torino

⁵. Gastroenterologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Cattinara, Trieste

⁶. Microbiologia, Consulente ANOTE, Milano

⁷. Blocco Operatorio, Ospedale Cardinale Giovanni Panico, Tricase, Lecce

⁸. Blocco Operatorio, Ospedale Don Tonino Bello, Molfetta, Bari

⁹. Pneumologia, Ospedale Generale di Garbagnate Milanese, Milano

¹⁰. Gastroenterologia, UOS Territoriale RM2, Roma

¹¹. Gastroenterologia, Ospedale G.B. Grassi, Ostia, Roma

¹². Gastroenterologia, Ospedale S. Jacopo, Pistoia

¹³. Gastroenterologia, S. O. Ospedale Frangipane, Ariano Irpino, Avellino

The potential transmission of infections with endoscopes, particularly duodenoscopes, has been documented in recent years.

To reduce this risk, different scientific societies have delivered recommendations on improving reprocessing procedures and microbial surveillance on endoscopes.

Based on the importance of this issue, 8 Italian scientific societies of physicians, nurses and technical operators have prepared a joint document which takes into account institutional advisories and facilities across Italy.

The recommendations for a correct microbial surveillance on endoscopes was detailed in terms of what, how and when to perform the procedure, including suggestions on what to do in the event of contamination.

ABSTRACT

Nonostante sia nota la possibilità di trasmissione di infezione attraverso strumenti endoscopici contaminati, la modalità di sorveglianza microbiologica non è uniformemente standardizzata a livello internazionale. Il controllo su tutti gli endoscopi flessibili dopo il ricondizionamento, lo stoccaggio e prima dell'uso non è raccomandato negli standard statunitensi (1). L'American Society for Microbiology, infatti, sostiene l'importanza delle analisi microbiologiche solo a fini epidemiologici mirati a verificare il ruolo di questi strumenti nella trasmissione di infezioni correlate all'endoscopia o nel caso si debba verificare l'efficacia di procedure di ricondizionamento nuove o modificate.

Anche le più recenti Linee Guida (LG) multidisciplinari dell'American Society for Gastrointestinal Endoscopy (ASGE) e della Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) non sostengono la necessità di effettuare la sorveglianza microbiologica sugli endoscopi (2).

Nel 2015, a seguito dei casi di infezione da *Klebsiella pneumoniae* di classe A produttrice di KPC (carbapenemasi di classe K) legati all'utilizzo di duodenoscopi, è stato prodotto un documento condiviso da Centers for Disease Control and Prevention (CDC), American Society of Microbiology (ASM) e Food and Drug Administration (FDA) sull'importanza di effettuare colture di sorveglianza sui duodenoscopi al fine di garantirne la sicurezza d'uso (3). Tale documento è stato successivamente aggiornato nel 2018 dettagliando le procedure da seguire per la sorveglianza microbiologica sui duodenoscopi e con il suggerimento di adattarle qualora il protocollo venga applicato ad altri tipi di endoscopi (4). Le LG di altre Società scientifiche, come la European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE), la European Society of Gastroenterology and Endoscopy Nurses and Associates (ESGENA) e quelle australiane (GESA-AGEA-GENCA), riportano un'esplicita raccomandazione a effettuare l'indagine microbiologica su tutti gli endoscopi, non solo i duodenoscopi (5, 6).

In considerazione della rilevanza del problema in termini di potenziale trasmissione di infezioni di ceppi batterici multi-resistenti, le Associazioni SIMPIOS (Società Italiana Multidisciplinare per la Prevenzione delle Infezioni nelle Organizzazioni Sanitarie), ANOTE-ANIGEA (Associazione Nazionale Operatori Tecniche Endoscopiche-Associazione Nazionale Infermieri di Gastroenterologia e Associati), AIGO (Associazione Italiana dei Gastroenterologi ed endoscopisti Ospedalieri),

AICO (Associazione Infermieri di Area Chirurgica e di Camera Operatoria), AIOS (Associazione Italiana Operatori addetti alla Sterilizzazione) AIPO-ITS (Associazione Italiana Pneumologi Ospedalieri - Italian Thoracic Society), ISSE (Italian Society of Surgical Endoscopy) e SIED (Società Italiana di Endoscopia Digestiva), hanno preparato un documento condiviso sulla sorveglianza microbiologica post-ricondizionamento degli endoscopi flessibili termolabili, a supporto di coloro che devono garantire la qualità del processo per la sicurezza del paziente. A queste Associazioni afferiscono operatori coinvolti nell'utilizzo degli endoscopi, nel processo di ricondizionamento e nella prevenzione delle infezioni correlate all'assistenza.

● METODO

Ogni società scientifica partecipante ha indicato un delegato per la costituzione di un panel di esperti. È stata effettuata la revisione della letteratura, con particolare riguardo alle LG internazionali e ai documenti istituzionali (FDA, CDC, ISO, ecc.). È stata preparata una prima versione del documento che è stata discussa ed emendata dal panel in specifici incontri in presenza e telematici. La versione aggiornata è stata inviata ad altri esperti indicati dalle società, per un massimo di 10 componenti per ciascuna di essa, i quali hanno valutato e ulteriormente emendato il documento, che è stato quindi preparato nella sua versione finale e condivisa da tutti i partecipanti.

● COSA CAMPIONARE

La sorveglianza microbiologica deve essere effettuata mediante un campionamento adeguato delle matrici a potenziale rischio di contaminazione che possono invalidare il corretto processo di ricondizionamento degli endoscopi (7, 8).

Queste comprendono:

- le superfici esterne e interne dell'endoscopio dopo ricondizionamento;
- l'acqua della bottiglia utilizzata per il lavaggio durante l'esame endoscopico;
- l'acqua utilizzata durante la disinfezione manuale o nelle macchine lava-disinfettatrici.
- le superfici degli armadi di stoccaggio.
- La non corretta esecuzione delle varie fasi della procedura di ricondizionamento, in particolare il lavaggio manuale, può causare contamina-

zione degli endoscopi. Inoltre, l'uso prolungato di accessori all'interno dei canali (pinze, anse, spazzolini, etc.) può provocare la formazione di microlesioni che costituiscono una sede di annidamento di batteri, anche con formazione di biofilm (3). L'indagine prevede il campionamento degli endoscopi sulle superfici esterne (parte distale della sonda, elevatore dei duodenoscopi/eco-endoscopi, cilindro di ingresso dei canali di alloggiamento delle valvole, etc.) e nei canali interni (aria/acqua, ausiliario, bioptico, canale elevatore dei duodenoscopi ed ecoendoscopi).

- L'acqua della bottiglia aria-acqua utilizzata durante le fasi di pulizia della lente nella pratica endoscopica può essere fonte di contaminazione e pertanto va sottoposta a indagine microbiologica (9).
- L'acqua utilizzata per il risciacquo finale dell'endoscopio nelle macchine lava-disinfettatrici deve essere sottoposta ad indagine per escludere la contaminazione dei circuiti idraulici. Particolare attenzione deve essere prestata, inoltre, alla valutazione della qualità igienica dell'acqua in ingresso nella lava-endoscopi.
- Gli ambienti di stoccaggio, compresi gli armadi conformi alla norma EN ISO 16442:2015, devono essere sottoposti a pulizia periodica e adeguata disinfezione, pertanto il monitoraggio microbiologico è richiesto per verificare l'efficacia di queste procedure.

● GLI INDICATORI MICROBIOLOGICI

Nel sistema di sorveglianza microbiologica non è necessario testare tutti i patogeni potenzialmente veicolati con gli endoscopi, ma solo quei microrganismi che rappresentano un indicatore di processo. La sorveglianza microbiologica, inoltre, non comprende la ricerca di virus, anche se in letteratura siano stati riportati casi di infezione da epatite B e C associati all'attività endoscopica (10). Per le analisi virologiche, infatti, non sono disponibili protocolli di campionamento e di analisi standardizzati. A causa della non coltivabilità di alcuni virus, viene fatto ricorso a metodiche di biologia molecolare, non sempre in grado di rilevare l'infettività virale e quindi di identificare il reale rischio infettivo. In particolare, la trasmissione del SARS-CoV-2 tramite endoscopia è stata segnalata come poco probabile, sia a seguito dell'utilizzo di broncoscopi che di endoscopi digestivi (11) e recentemente è stata dimostrata l'assenza

del genoma di SARS-CoV-2 dopo un adeguato ricondizionamento (12).

Nella **tabella 1** vengono riportati gli indicatori utilizzati, il loro significato e le azioni correttive.

● COME CAMPIONARE

Il campionamento deve essere eseguito da due operatori adeguatamente formati. Uno di essi dovrà svolgere tutte le operazioni in modo asettico, mentre l'altro dovrà fornire il supporto per la gestione dei contenitori e di altro materiale necessario. Per evitare la contaminazione del materiale da analizzare, gli operatori dovranno indossare adeguati dispositivi di protezione individuale (camice monouso, guanti sterili, mascherina chirurgica, a coprire naso e bocca, e cuffia). Si dovrà inoltre allestire un piano di lavoro sterile.

- *Endoscopi*: l'indagine microbiologica sugli strumenti deve essere eseguita dopo almeno 6-12 ore di stoccaggio per aumentare la probabilità di identificare batteri provenienti da un eventuale biofilm formatosi all'interno dei canali (3, 6). Ogni canale dell'endoscopio deve essere analizzato attraverso l'irrigazione di un'opportuna quantità di eluente stabilita in base alla dimensione del canale. La procedura di campionamento indicata nelle LG statunitensi prevede di seguire il metodo "Flush-Brush-Flush" (lavaggio-scovolatura-lavaggio). Su ogni endoscopio devono essere utilizzati scovolini e spazzolini monouso sterili o sterilizzati in autoclave in ciclo gomma (4). Nelle LG francesi, invece, è indicata la tecnica di aspirazione "Flush-Suction-Flush" (lavaggio-aspirazione-lavaggio) (13). I risultati di uno studio hanno dimostrato che l'aggiunta della fase di aspirazione durante la procedura consente di incrementare significativamente il recupero delle colture di sorveglianza rispetto al solo lavaggio con soluzione fisiologica, sia sugli endoscopi che su un modello artificiale di canale sul quale è stato creato un biofilm (14). Al momento, non vi sono specifici studi comparativi tra la procedura statunitense e quella francese.

Nel **box 1** sono riportate nel dettaglio tutte le fasi da seguire. Il campionamento sulle superfici esterne si effettua attraverso l'uso di tamponi sterili imbevuti di eluente e vanno campionati le valvole, i cilindri dei canali e la superficie esterna della guaina.

- *Bottiglia aria-acqua*: l'acqua utilizzata per riempire la bottiglia aria-acqua, monouso e plu-

Tabella 1 - Indicatori microbiologici di processo.

Indicatori	Analisi delle cause	Azioni correttive
<i>E. coli</i> e altre enterobatteriacee	<p>Pericolo: presenza di residui organici e/o microrganismi.</p> <p>Rischio: inefficacia della disinfezione o sterilizzazione.</p> <p>Causa: mancata o ritardata effettuazione della fase di pre-cleaning. Errori nella fase di cleaning (insufficiente o inadeguato contatto con il detergente proteolitico, inadeguata scovolinatura-spazzolatura, insufficiente o inadeguata concentrazione del disinfettante).</p> <p>Insufficiente asciugatura degli endoscopi prima dello stoccaggio.</p>	<p>Revisione della procedura di ricondizionamento con particolare attenzione alla pulizia manuale.</p> <p>Verificare la concentrazione del disinfettante secondo quanto raccomandato dal produttore.</p> <p>Revisione della procedura di asciugatura degli endoscopi.</p>
<i>P. aeruginosa</i>	<p>Pericolo: contaminazione dell'acqua utilizzata nel risciacquo o degli ambienti di stoccaggio degli endoscopi.</p> <p>Rischio: contaminazione degli endoscopi.</p> <p>Causa: contaminazione dei sistemi di filtrazione della macchina lava-endoscopi (formazione di biofilm).</p> <p>Insufficiente asciugatura prima dello stoccaggio. Inadeguata procedura di sanificazione degli ambienti di stoccaggio degli endoscopi.</p>	<p>Revisione della qualità dell'acqua utilizzata dalla macchina lava-endoscopi.</p> <p>Predisporre la manutenzione della macchina ed eventualmente cambiare i filtri. Eseguire un ciclo di auto-disinfezione in accordo con le istruzioni del produttore.</p> <p>Revisione della procedura di asciugatura degli endoscopi. Revisione della procedura di sanificazione degli ambienti di stoccaggio.</p>
<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i>	<p>Pericolo: contaminazione delle mani degli operatori; contaminazione degli ambienti di stoccaggio degli endoscopi.</p> <p>Rischio: contaminazione degli endoscopi.</p> <p>Causa: inadeguata igiene delle mani degli operatori, inadeguato trasporto e stoccaggio degli endoscopi.</p> <p>Contaminazione durante l'effettuazione del campionamento.</p>	<p>Revisione della procedura dell'igiene delle mani.</p> <p>Revisione della procedura di sanificazione degli ambienti di stoccaggio degli endoscopi.</p> <p>Ripetere il campionamento.</p>
Micobatteri atipici, <i>Legionella spp</i>	<p>Pericolo: contaminazione dell'acqua utilizzata nel risciacquo finale degli endoscopi; inefficacia del ricondizionamento</p> <p>Rischio: contaminazione degli endoscopi.</p> <p>Causa: contaminazione dei sistemi di filtrazione della macchina lava-endoscopi (formazione di biofilm). Inefficacia della disinfezione (<i>M. chelonae</i> è resistente all'azione della glutaraldeide e può contaminare le lava-disinfettatrici).</p> <p>Insufficiente asciugatura degli endoscopi prima dello stoccaggio.</p>	<p>Revisione della qualità dell'acqua utilizzata dalla macchina lava-endoscopi.</p> <p>Predisporre la completa manutenzione della macchina e dei sistemi di filtrazione.</p> <p>Eseguire ciclo di auto-disinfezione in accordo con le istruzioni del produttore.</p> <p>Revisione della procedura di asciugatura degli endoscopi.</p>

Modificata da referenza 7.

La preparazione del setting:

il campionamento deve essere effettuato da almeno due operatori. Il primo operatore (campionatore) conduce le fasi del campionamento in modo asettico, mentre il secondo operatore (facilitatore) supporta, in maniera asettica, l'attività del campionatore nelle fasi di apertura e chiusura dei contenitori del materiale necessario al campionamento. Prima di iniziare il campionamento dovrà essere effettuata l'igiene delle mani e dovranno essere indossati i dispositivi di protezione individuale (camice monouso sterile, guanti sterili, mascherina chirurgica e cuffia). Si dovrà procedere disinfettando la superficie di appoggio, sulla quale verrà steso un telo monouso sterile, dove appoggerà lo strumento.

Prelievo dall'estremità distale della sonda dei duodenoscopi con distale fisso o con cappuccio rimovibile e degli ecoendoscopi lineari: passare un tampone sterile, inumidito con l'eluente, all'interno del canale che ospita l'elevatore. La punta del tampone viene recisa con forbici sterili e raccolta in un contenitore sterile.

Utilizzando una pipetta Pasteur sterile e/o una siringa sterile, instillare nel canale dell'elevatore 1 ml di eluente con la leva abbassata e 1 ml con la leva alzata e ripetere l'operazione in modo da utilizzare 4 ml di eluente che viene fatto colare per gravità nel contenitore di raccolta (fase di lavaggio o "Flush"). Nella fase successiva di scovolatura (Fase "Brush"), passare uno scovolino sterile (o sterilizzato in ciclo gomma) nel recesso dell'elevatore, una volta con l'elevatore abbassato e una volta alzata. Tagliare l'estremità dello scovolino e cumularla al resto del campione nel contenitore di raccolta. Se si

utilizza uno scovolino metallico, il taglio della punta può essere omesso e, in tal caso, si scuote la spazzola nell'eluente accumulato nel contenitore di raccolta.

Ripetere la fase Flush come descritto precedentemente, raccogliendo altri 4 ml nel contenitore di raccolta.

In sostituzione dell'eluente, si può utilizzare la soluzione fisiologica instillando 5 ml nel recesso del canale dell'elevatore alzando e abbassando la leva, ripetendo la stessa operazione dopo il brush con altri 5 ml (volume totale: 10 ml).

Prelievo dall'estremità distale della sonda dei duodenoscopi con distale monouso completamente rimovibile e per tutti gli altri endoscopi (gastroscoopi, colonscoopi, enteroscoopi, ecoendoscopi radiali, broncoscoopi): passare un tampone sterile, inumidito con l'eluente, nella parte distale della sonda. La punta del tampone viene recisa con forbici sterili e raccolta in un contenitore sterile.

Prelievo dal canale bioptico: mantenere l'endoscopio verticalmente ed irrigare, con una siringa sterile, il canale bioptico con 20 ml di soluzione di eluizione. Il liquido viene fatto colare per gravità nel contenitore di raccolta. Successivamente viene fatta passare dell'aria per rimuovere ogni residuo (Fase "Flush"). Passare all'interno del canale bioptico uno scovolino sterile fino a farlo uscire dalla parte distale della sonda.

Assicurarsi che lo scovolino emerga dall'estremità opposta dello strumento in modo unidirezionale, ovvero deve essere estratto senza movimento retrogrado. Tagliare la spazzola terminale e lasciarla cadere nel contenitore di raccolta (Fase "Brush").

Nel caso si utilizzi uno scovolino metallico, il taglio della punta può essere omesso, e si scuote la spazzola nell'eluente accumulato nel contenitore di raccolta. Passare altri 20 ml di eluente all'interno del canale bioptico. Il liquido viene raccolto per gravità nello stesso contenitore di raccolta utilizzato in precedenza. Successivamente viene passata dell'aria per rimuoverne ogni residuo (Fase "Flush").

Campionamento degli altri canali: il campionamento dei canali aggiuntivi, come quello di aspirazione o aria/acqua, prevede la metodica di campionamento del "Flush-Brush-Flush" per il canale aspirazione, mentre per il canale aria/acqua e per quello ausiliario, dove non è possibile passare lo scovolino, si procede con la sola fase di lavaggio. Il volume della soluzione eluente varia in base alle dimensioni del canale. È necessario utilizzare connettori specifici e slitta sterili per il modello d'endoscopio campionato. Generalmente il volume utilizzato dovrebbe essere circa tre volte il volume del canale per garantire un'adeguata raccolta di campione.

Trasporto del campione e analisi microbiologiche: nel caso in cui il campione non venga analizzato entro 12 ore dopo aver effettuato il campionamento, aggiungere 45 ml di brodo DE (Dey-Engley neutralizing broth, Sigma-Aldrich) o altra soluzione neutralizzante al campione (20). Trasportare in contenitore di sicurezza a 2-8°C al laboratorio ed analizzare entro 24h. Per la determinazione della carica dei microrganismi indicatori, definiti a "bassa, media o alta rilevanza" dalle linee guida statunitensi (tabella 2), è necessario analizzare l'intero volume del campione.

Tabella 2 - Rilevanza dei microrganismi oggetto di indagine microbiologica

ALTA	Rientrano in questa definizione i microrganismi patogeni il cui isolamento rileva l'inefficacia del ricondizionamento e quindi richiede la rimozione dell'endoscopio dalla pratica clinica, fintanto che azioni correttive non abbiano consentito di abbattere il rischio e ripristinare la sicurezza nell'uso dello strumento. Sono batteri Gram-negativi tipici del tratto gastro-intestinale (es. <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> o altre Enterobacteriaceae) o ambientali, potenzialmente patogeni per l'uomo (<i>P. aeruginosa</i>), batteri Gram-positivi <i>S. aureus</i> , <i>Enterococcus spp.</i> e lieviti).
MEDIA	Microrganismi tipicamente colonizzanti la cavità orale, non di carattere patogeno, che rilevano comunque l'inefficacia del trattamento (es: Streptococchi α -emolitici o viridanti, <i>Moraxella spp.</i> , <i>Neisserie</i> a carattere saprofitico).
BASSA	Microorganismi non patogeni, la cui presenza sugli endoscopi evidenzia una contaminazione avvenuta durante lo stoccaggio o il campionamento: stafilococchi coagulasi negativi, escluso <i>S. lugdunensis</i> , micrococchi, difteroidi, <i>Bacillus spp.</i> e altri bacilli Gram-positivi.

Modificata da referenza 4.

riuso, deve essere sterile e la bottiglia e relativi connettori pluriuso devono essere sterilizzati a fine attività endoscopica giornaliera. Per verificare il mantenimento della sterilità dell'acqua è sufficiente determinare la Carica Microbica Totale a fine giornata lavorativa prelevando con una siringa sterile due campioni da 10 ml di acqua della bottiglia, raccogliendoli in un contenitore sterile e conservando il campione a $\pm 4^{\circ}\text{C}$ fino all'arrivo in laboratorio (**tabella 2**).

- *Acqua in ingresso alla macchina lava-disinfettatrice*: il prelievo dell'acqua in ingresso (campioni da 2 litri) viene effettuato in conformità alla normativa nazionale inerente le acque destinate al consumo umano (D.Lgs 31/2001 e s.m.i.). La norma ISO EN 19458:2006 definisce lo standard di campionamento (15). È importante utilizzare contenitori sterili addizionati di soluzione neutralizzante, quale il tiosolfato di sodio 10%, per mantenere la vitalità dei microrganismi.
- *Acqua utilizzata per il risciacquo finale degli endoscopi*: l'acqua dovrà essere conforme alla EN ISO 15883-1:2014 e alla EN ISO 15883-4:2019 per i parametri Carica Microbica Totale a 22°C e 36°C , ricerca di *P. aeruginosa*, *Legionella spp.* e di micobatteri non tubercolari. Il sito di prelievo deve essere opportunamente sanificato prima di effettuare il campionamento ed il volume di campione non deve essere inferiore a 200 ml per ogni prova da eseguire o comunque in conformità alla norma di riferimento. Nel caso la lava-disinfettatrice lo consenta, è possibile effettuare il campionamento direttamente dalla vasca. Per il prelievo utilizzare siringhe se necessario e contenitori sterili addizionati di soluzione neutralizzante. La frequenza di campionamento deve essere trimestrale.

- *Armadi di stoccaggio*: le superfici interne degli armadi, sia di quelli a stoccaggio temporaneo che permanente (medicali), devono essere sanizzate settimanalmente con soluzioni detergenti e disinfettanti. Per gli armadi medicali, per la scelta del prodotto da utilizzare si fa riferimento alle indicazioni del fabbricante (UNI TR 11662). Gli armadi medicali conformi alla EN ISO 16442:2015, devono rispettare i limiti di accettabilità della contaminazione delle superfici (≤ 25 UFC/24 cm^2) e dell'aria all'interno degli stessi, così come previsti dalla norma. Ciascuna superficie a contatto con gli endoscopi dovrà essere campionata con una frequenza semestrale, effettuando il campionamento secondo la metodica ISO 14698, utilizzando piastre Rodac da contatto. Utilizzare almeno 4 piastre per le vasche (ai due angoli diagonalmente opposti e al centro di due pareti laterali) e 1 per il coperchio (al centro della parete interna), per gli armadi con ripianti orizzontali.

Nella **tabella 3** sono riportate le fasi della procedura.

● COSA UTILIZZARE

La soluzione eluente da utilizzare per il lavaggio dei canali interni degli endoscopi deve essere sterile, non tossica per i microrganismi, in grado di neutralizzare l'attività di eventuali residui di disinfettante ed avere una buona capacità di recupero. Nelle LG statunitensi del 2015, viene consigliata una soluzione neutralizzante composta da tampone fosfato salino alla concentrazione 0,01M a cui viene aggiunto lo 0,02% di Tween 80 (3), mentre in quelle del 2018 viene suggerito

Tabella 3 - Matrice da sottoporre ad analisi e parametri da indagare

Sito di campionamento	Matrice da analizzare	Parametri da indagare	Metodo analitico	Limiti di riferimento
Acqua della bottiglia aria-acqua	2 x 1 ml	Carica Microbica Totale a 36°C e 22°C	ISO 6222:1999	0 UFC/ml
Acqua in ingresso della lava-disinfettatrice	2 x 500 ml	Carica Microbica Totale a 36°C e 22°C	ISO 6222:1999	≤10 UFC/ml a 36°C e ≤100 UFC/ml a 22°C
		Coliformi, <i>E.coli</i>	ISO 9308-1: 2014	0 UFC/100ml
		Enterococchi	ISO 7899.2:2003	0 UFC/100ml
		<i>P. aeruginosa</i>	ISO 16266:2008	0 UFC/250ml
Acqua del risciacquo finale della lava-disinfettatrice (ISO 15883-1, ISO 15883-4)	2 x 800 ml	Carica Microbica Totale a 28°-32°C/5gg	ISO 6222:1999, ISO 16266:2008	≤10 UFC/100ml 0 UFC/250ml
		<i>P. aeruginosa</i>	WHO, 2004	0 UFC/100ml
		Micobatteri non tubercolari	WHO, 2004	0 UFC/100ml
		<i>Legionella spp.</i>	ISO 11731 2:2017	0 UFC/1000ml
Endoscopi: canali interni	45-90 ml	Carica Microbica Totale a 36°C	ISO 6222:1999	≤10 UFC/eluato
		Coliformi, <i>E.coli</i>	ISO 9308-1: 2014	assenti
		Enterococchi	ISO 7899.2:2003	assenti
		<i>P. aeruginosa</i>	ISO 16266:2008	assente
		<i>Staphylococcus spp.</i>	Rapporti ISTISAN 07/05	assenti
Endoscopi: superfici esterne	Tamponi imbevuti di eluente	Coliformi, <i>E.coli</i>	ISO 14698-1	assenti
		<i>P. aeruginosa</i>	ISO 14698-1	assente
		<i>Staphylococcus spp.</i>	ISO 14698-1	assenti

l'uso dell'acqua sterile deionizzata (4), anche se la sua capacità di recupero può variare dal 65% al 100%.

Il Tween 80 ha dimostrato di possedere capacità disgreganti sul biofilm microbico e neutralizzanti dell'attività residua del disinfettante.

Nelle LG francesi, invece, si raccomanda l'uso di una soluzione composta da tampone fosfato 0,067 M, cloruro di sodio 0,43% [m/v], peptone 0,1%

[m/v], Tween 80 0,1% [v/v] e acqua distillata 100 ml. Lo stesso documento indica la soluzione salina 0,9% come alternativa (14, 15), sottolineando che la capacità di recupero può essere inferiore, non avendo questa soluzione proprietà neutralizzanti né emulsionanti. Viene, invece, sconsigliato l'uso di acqua sterile perché non ritenuta idonea al recupero e alla conservazione della vitalità dei microrganismi (16).

● FREQUENZA DEL CAMPIONAMENTO

Le indagini microbiologiche devono essere effettuate in maniera sistematica al fine di verificare il mantenimento nel tempo dei requisiti di qualità di tutto il processo di ricondizionamento. Per quanto concerne i duodenoscopi, le LG statunitensi consigliano colture di sorveglianza con una frequenza mensile, oppure dopo 60 procedure di colangiopancreatografia retrograda (CPRE) laddove si eseguono più di 60 esami in un mese e ogni volta che il dispositivo sia stato utilizzato su un paziente di cui sia noto lo stato di colonizzazione/infezione da parte di microrganismi multi-farmaco resistenti (MDR). La cadenza mensile delle prove microbiologiche sui duodenoscopi, così come sugli eco-endoscopi lineari e i broncoscopi, è consigliata anche dalle LG australiane (6). Gli endoscopi sottoposti a verifica non devono essere utilizzati fino a quando non sia stato rilasciato un referto microbiologico negativo. In uno specifico documento ESGE del 2017 sulla prevenzione delle infezioni trasmesse con i duodenoscopi, invece, si suggerisce di effettuare le prove microbiologiche ogni 3 mesi (16). Per quanto concerne gli altri tipi di endoscopi (gastroscoopi, colonscopi, enteroscopi, ecoendoscopi a scansione radiale, broncoscopi), le prove microbiologiche sono consigliate in diverse LG con periodicità variabile. Si passa, infatti, da una frequenza trimestrale indicata nelle LG olandesi (16), tedesche (17), australiane (6) ed europee (8) ad una semestrale in quelle Italiane (18) o annuale in quelle Austriache (19). Inoltre, non vi sono indicazioni concordi sull'esigenza di interrompere l'utilizzo dei dispositivi in attesa della risposta microbiologica. In presenza di un risultato positivo delle indagini microbiologiche è necessario effettuare la revisione dell'intero processo di ricondizionamento, al fine di identificare la causa del fallimento della procedura. In caso di mancata identificazione della causa nel processo (acqua, lava-disinfettatrice, stoccaggio) è auspicabile rilevare l'eventuale presenza di micro-lesioni dei canali interni degli strumenti, che possono diventare siti di permanenza dei contaminanti (14).

● COME INTERPRETARE I RISULTATI

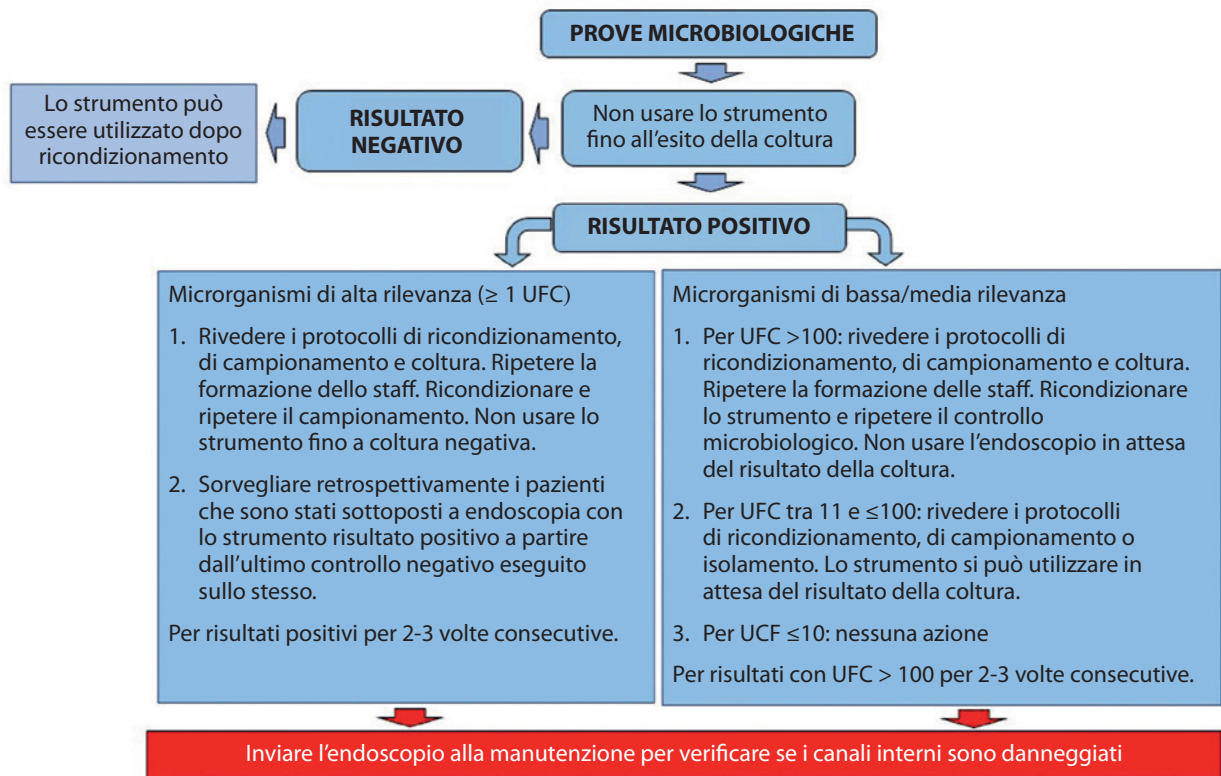
I livelli dei microrganismi di bassa e media rilevanza che si possono riscontrare sui diversi tipi di endoscopi possono variare in funzione del tipo di ricondizionamento, manipolazione e della metodi-

ca di campionamento eseguita. Pertanto, durante il primo mese di sorveglianza, i livelli di questi microrganismi vanno controllati per definire un appropriato valore obiettivo. Tipicamente un valore <10 UFC/endoscopio non richiede interventi, un valore tra ≥ 10 e <100 UFC/endoscopio prevede la revisione della procedura di ricondizionamento e un nuovo programma di formazione del personale. Per un valore ≥ 100 UFC/endoscopio di microrganismi di bassa/media rilevanza o in caso di rilevazione di microrganismi di alta rilevanza (≥ 1 UFC/endoscopio), sarà necessario tenere in quarantena l'endoscopio, revisionare la procedura di ricondizionamento, ripetere il campionamento e non utilizzare il dispositivo finché la coltura non risulti negativa o con livelli di carica accettabili per i microrganismi di bassa/media rilevanza. In questo caso sarà necessaria anche la sorveglianza dei pazienti che sono stati sottoposti a procedura endoscopica con l'endoscopio risultato positivo (figura 1). I referti della sorveglianza microbiologica devono essere interpretati dal Comitato di Controllo delle Infezioni Correlate all'Assistenza in stretta collaborazione con i medici e gli infermieri di endoscopia, con gli operatori socio-sanitari e gli infermieri addetti alle fasi di ricondizionamento degli endoscopi, al personale dell'ingegneria sanitaria clinica e con le aziende che forniscono gli endoscopi e i dispositivi utilizzati per il loro ricondizionamento.

● REQUISITI E RESPONSABILITÀ

Il Responsabile di Processo (RdP) (UNI TR 11662) è la persona formalmente incaricata di progettare, organizzare e gestire l'intero processo e ha la responsabilità della verifica della procedura di campionamento utilizzata per la sorveglianza microbiologica. Per lo svolgimento di tutte le sue funzioni, il RdP può delegare ad altre persone parti del processo, definendone ruoli, qualifiche, competenze e responsabilità. È necessario che ogni delega sia accettata per iscritto dal delegato e documentata. Il RdP deve verificare che gli operatori che effettuano la procedura e il laboratorio addetto alle analisi microbiologiche siano in possesso dei requisiti richiesti dal loro ruolo. Il personale che esegue la procedura dovrà dimostrare, attraverso degli audit periodici, la conoscenza della struttura di ogni tipologia degli endoscopi in uso, di saper effettuare il campionamento in condizioni di asepsi, di conoscere il protocollo di campionamento e di conservazione dei campioni prima del loro invio al laboratorio.

Figura 1



● CONCLUSIONI

La potenziale trasmissione di infezioni attraverso gli endoscopi flessibili e la recente evidenza di contagi con ceppi batterici multi-farmaco resistenti tramite duodenoscopi contaminati hanno stimolato alcune società scientifiche del settore a preparare questo documento condiviso. Per quanto infrequente, la rilevanza clinica del problema infatti, non può essere trascurata se si considera la gravità degli eventi riportati. Il ricondizionamento degli strumenti e l'adeguata pulizia degli ambienti di lavoro e di stoccaggio costituiscono un complesso processo che coinvolge diverse figure professionali. La corretta esecuzione di queste procedure richiede che siano seguite tutte le fasi in modo standardizzato, ogni passaggio deve essere tracciato e rintracciabile e il personale dedicato deve essere adeguatamente formato. Il monitoraggio della qualità può essere eseguito attraverso l'esecuzione di prove microbiologiche su campionamenti che interessino ogni fase e che ricerchino la presenza di microrganismi indicatori di processo. La sempre maggiore complessità strutturale degli endoscopi comporta anche una maggiore difficoltà nel garantire un adeguato controllo del rischio di contaminazione, soprattutto per la formazione

di biofilm (microlesioni dei canali, valvole, lente distale, ecc.) che è scarsamente rimovibile con le normali procedure (20). È auspicabile, quindi, l'esecuzione di una sorveglianza microbiologica per prevenire e ridurre il rischio infettivo e l'implementazione, ove possibile, dell'utilizzo di componenti monouso. Il riepilogo dei suggerimenti del presente documento è riportato nel take home messages.

CORRISPONDENZA

PROF. BEATRICE CASINI

Dipartimento di Ricerca Traslationale e Nuove Tecnologie in Medicina e Chirurgia
Università di Pisa
Via S. Zeno 37/39
56127 Pisa, Italia
Tel. +39 050.2213590
Fax +39 050.2213588
E-mail: beatrice.casini@med.unipi.it

Appendice

SIMPIOS: Costanza Bertoni (Brescia), Cesarina Curti (Milano), Maurizio Giacomini (Pordenone), Marcello Meledandri (Roma), Dalia Palmieri (Pescara), Gaetano Privitera (Pisa), Annibale Raglio (Bergamo), Benedetta Tuvo (Pisa).

ANOTE-ANIGEA: Benedetta Colombo (Roma), Teresa Iannone (Polistena, RC), Giorgio Iori (Reggio Emilia), Antonella Giaquinto (Roma), Angela Minenna (Bari), Giulio Petrocelli (Milano), Monia Valdinoci (Firenze).

ALGO: Francesco Bortoluzzi (Venezia), Francesca Galeazzi (Padova), Raffaele Manta (Perugia), Paolo Montalto (Pistoia), Sergio Segato (Varese), Marco Soncini (Milano), Paolo Usai Satta (Cagliari), Roberto Vassallo (Palermo).

AICO: Fabio Ferraiolo (Ascoli Piceno), Fabio Roseto (Caserta).

AIOS: Milena Bezziccheri (Pesaro), Michele Fighera (Bari), Ada Giampà (Pavia), Antonio Mancini (Reggio Calabria), Caterina Marino (Vercelli), Marina Pisegna Cerone (L'Aquila), Tommaso Risitano (Messina), Emmanuele Sergio (Cefalù, PA), Raffaele Sinopoli (Lamezia Terme).

AIPO-ITS: Maria Teresa De Caprio (Parma), Giuseppe Failla (Napoli), Luigi Lazzari Agli (Rimini), Maria Majori (Parma), Andrea Toccaceli (Ancona).

ISSE: Emanuele Marciano (Pisa), Attilio Maurano (Salerno), Luca Rodella (Verona).

SIED: Gianpaolo Cengia (Manerbio, BS), Enrico Ciliberto (Crotone), Rita Conigliaro (Modena), Bastianello Germanà (Belluno), Antonietta Lamazza (Roma), Antonio Pisani (Castellana Grotte, BA), Rocco Maurizio Zagari (Bologna), Giancarlo Spinzi (Como).

Take home message

1. Per i duodenoscopi e gli eco-endoscopi lineari si suggerisce la sorveglianza microbiologica con cadenza mensile, oppure dopo 60 procedure e ogni volta che il dispositivo sia stato utilizzato su un paziente con infezione nota con ceppi batterici multi-farmaco resistenti.
2. Per tutti gli altri endoscopi, si suggerisce la sorveglianza microbiologica ogni 3-6 mesi, a rotazione sugli strumenti disponibili, in modo che tutti vengano testati almeno una volta l'anno.
3. Gli strumenti sottoposti ad indagine microbiologica iniziale non devono essere utilizzati fino all'esito della coltura.
4. Le prove microbiologiche vanno eseguite su tutti i canali dell'endoscopio e sulle parti esterne a rischio di contaminazione.
5. Si suggerisce l'uso di specifici eluenti per il campionamento per incrementare la probabilità di isolamento dei microrganismi. In alternativa, si può utilizzare la soluzione fisiologica. Si sconsiglia, invece, l'uso di acqua deionizzata sterile perché la resa è inferiore.
6. Per il campionamento microbiologico si suggerisce la procedura "flush-brush-flush".
7. L'acqua della bottiglia aria-acqua, l'acqua di risciacquo manuale e quella per il risciacquo finale nelle lava-disinfettatrici vanno sottoposte ad indagini microbiologiche.
8. Le superfici interne degli armadi di stoccaggio vanno sottoposte a campionamento microbiologico.

Bibliografia

1. PETERSEN BT, COHEN J, HAMBRICK RD 3RD, ET AL. Multisociety guideline on reprocessing flexible GI endoscopes: 2016 update. *Gastrointest Endosc.* 2017; 85:282-294.
2. ASGE AND SHEA ISSUE Updated Multisociety Guideline on Reprocessing Flexible Gastrointestinal Endoscopes. 2011. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, Vol. 32, No. 6, pp. 527- 537. Stable URL: <https://www.jstor.org/stable/10.1086/660676>
3. Interim Protocol for Healthcare Facilities Regarding Surveillance for Bacterial Contamination of Duodenoscopes after Reprocessing, vs03.11.15. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/ProductsandMedicalProcedures/ReprocessingofReusableMedicalDevices/UCM597949.pdf>
4. Centers for disease control and prevention. Duodenoscope Surveillance Sampling & Culturing Reducing the risks of Infection. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/ProductsandMedicalProcedures/ReprocessingofReusableMedicalDevices/UCM597949.pdf>
5. BEILENHOF U, BIERING H, BLUM R, ET AL. Esge-Esgena technical specification for process validation and routine testing of endoscope reprocessing in washer-disinfectors according to EN ISO 15883, parts 1, 4 and ISO/TS 15883-5. *Endoscopy* 2017; 49:1262-75.
6. Gastroenterological society of australia, gastroenterological nurses college of australia. 2010. *Infection control in endoscopy*, 3rd ed. Gastroenterological Society of Australia, Sydney, Australia. Available from: http://www.gesa.org.au/files/editor_upload/File/Professional/Endoscopy_infection_control%20%28low%29.pdf.
7. ESGE-ESGENA. Guideline for quality assurance in re-processing: microbiological surveillance testing in endoscopy. *Endoscopy* 2007;39:175-81.
8. BEILENHOF U, BIERING H, BLUM R, ET AL. Reprocessing of flexible endoscopes and endoscopic accessories used in gastrointestinal endoscopy: Position Statement of the European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) and European Society of Gastroenterology Nurses and Associates (ESGENA) - Update 2018. *Endoscopy* 2018; 50, 1205-1234. Doi: <https://doi.org/10.1055/a-0759-1629>
9. Food and drug administration (FDA). Mitigating the risk of cross-contamination from valves and accessories used for irrigation through flexible gastrointestinal endoscopes. 2016. Accessibile: <https://www.fda.gov/media/90148/download>
10. CIANCIO A. Digestive endoscopy is not a major risk factor for transmission of hepatitis C virus. *Annals of Internal Medicine* 2005;142:903-909.
11. REPICI A, MASELLI R, COLOMBO M, ET AL. Coronavirus (COVID-19) outbreak: what the department of endoscopy should know. *Gastrointest Endosc.* 2020;S0016-5107(20)30245-5.
12. CASINI B, TUVO B, MAGGI F, ET AL. COVID-19 emergency management: from the reorganization of the endoscopy service to the verification of the reprocessing efficacy. *Int J Environ Res Public Health* 2020;17:8142. doi: 10.3390/ijerph17218142.
13. SYSTCHENKO R, MARCHETTI B, CANARD JN, ET AL. Guidelines of the French Society of Digestive Endoscopy: recommendations for setting up cleaning and disinfection procedures in gastrointestinal endoscopy. *Endoscopy* 2000;32:807-18.
14. JUNG M, BEILENHOF U. Hygiene: The Looming Achilles Heel in Endoscopy. *Visc Med* 2016;32:21-8.
15. Ctinils 2007. Eléments d'assurance qualité en hygiène relatifs au controle microbiologique des endoscopes et à la traçabilité en endoscopie. Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France, Direction Générale de la Santé, Paris, France.
16. BEILENHOF U, BIERING H, BLUM R, ET AL. Prevention of multidrug-resistant infections from contaminated duodenoscopes: Position Statement of the European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) and European Society of Gastroenterology Nurses and Associates (ESGENA). *Endoscopy* 2017; 49: DOI: 10.1055/s-0043-120523
17. Dutch Advisory Board Cleaning and Disinfection Flexible Endoscopes (SFERD). Professional Standard Handbook Cleaning and Disinfection. Flexible Endoscopes. Version 4.1., 2017.
18. ANOTE/ANIGEA. Linee Guida: pulizia e disinfezione in endoscopia - Update 2011. <https://www.anoteanigea.it/linee-guida-public/linee-guida-pulizia-e-disinfezione-in-endoscopia-update-2011>.
19. Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert-Koch- Institut (RKI) und des Bundesinstituts für Arzneimittel und Medizinprodukt (BfArM). Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten, *Bundesgesundheitsbl.* 2012; 55: 1244-1310.
20. MITH ZL, YOUNG SO, SAEIAN K, ET AL. Transmission of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae during ERCP: time to revisit the current reprocessing guidelines. *Gastrointest Endosc* 2015;81:1041-1045.