

REGIONE DEL VENETO



ULSS7
PEDEMONTANA

Via dei Lotti, n. 40
36061 Bassano del Grappa (VI)
Codice fiscale e partita IVA 00913430245

N. 406 DEL 10/03/2023

DELIBERAZIONE
del

DIRETTORE GENERALE

Nominato con D.P.G.R. n. 26 del 26/02/2021

Coadiuvato dai sigg.:

DIRETTORE AMMINISTRATIVO

dott.ssa MICHELA CONTE

DIRETTORE SANITARIO

dr. ANTONIO DI CAPRIO

DIRETTORE DEI SERVIZI SOCIO – SANITARI

dott. EDDI FREZZA

OGGETTO: AUTORIZZAZIONE ALL'ESECUZIONE DELLO STUDIO CLINICO NO-PROFIT OSSERVAZIONALE "DETERMINAZIONE DELL'INTERSTITIAL WASHDOWN INDEX E DELLA CINETICA DEI FLUIDI PER LA VALUTAZIONE DELLA RIANIMAZIONE VOLEMICA NEL PAZIENTE SETTICO IN UNITÀ SEMI-INTENSIVA MEDICA – STUDIO OSSERVAZIONALE PROSPETTICO"

IL DIRETTORE GENERALE
DELL'AZIENDA ULSS 7 PEDEMONTANA
dott. Carlo Bramezza

Documento informatico firmato digitalmente ai sensi del D. Lgs n. 82/2005, del T.U. n. 445/2000 e norme collegate, il quale sostituisce il documento cartaceo e la firma autografa; il documento informatico è conservato digitalmente negli archivi informatici dell'Azienda.

Proponente: UOC AFFARI GENERALI
Anno Proposta: 2023 Numero Proposta: 310/23

Il Dirigente, Direttore dell'U.O.C. Affari Generali, nonché Responsabile del procedimento, attesta che la presente proposta di deliberazione è stata regolarmente istruita nel rispetto della vigente normativa nazionale, regionale e regolamentare: f.to Cristiano Galizian

Il Direttore dell'U.O.C. Affari Generali relaziona quanto segue.

Premesso che:

- con deliberazione n. 316 del 31/03/2017 si è provveduto ad istituire, ai sensi della deliberazione della Giunta Regionale del Veneto n. 2174 del 23/12/2016, recante “Disposizioni in materia sanitaria connesse alla riforma del sistema sanitario regionale approvata con L.R. 25 ottobre 2016 n. 19”, il Nucleo per la Ricerca Clinica (N.R.C.) dell'Azienda ULSS7 Pedemontana;
- la citata DGRV n. 2174/2016, Allegato L, richiama l'applicazione della disciplina regionale in materia di sperimentazione clinica (DGR n. 1066/2013 e DGR n. 925/2016), che prevede l'istituzione di un N.R.C. per ciascuna Azienda ULSS della Regione;
- la DGR n. 1066/2013 (Allegato B) prevede che il N.R.C. sia istituito preferibilmente “presso il Servizio di Farmacia Ospedaliera ovvero Servizio Farmaceutico territoriale ovvero Servizio di Farmacologia delle istituzioni sanitarie, fermo restando i criteri di indipendenza e di assenza di conflitti di interesse” e sia composto “da professionalità multidisciplinari appartenenti all'ambito sanitario, epidemiologico-statistico, etico-giuridico e organizzativo-gestionale”;
- con deliberazione n. 1477 del 05/08/2022 è stato approvato, in aggiornamento della disciplina aziendale regolata con la deliberazione n. 453 del 28/05/2014, il Regolamento aziendale sulla gestione delle sperimentazioni cliniche profit e no-profit, comprensivo anche della regolamentazione dei fondi per la gestione della ricerca con determinazione delle quote dei fondi stessi e fissazione dei criteri per l'attribuzione dei compensi;
- con deliberazione n. 1684 del 09/09/2022 sono stati aggiornati i componenti del Nucleo per la Ricerca Clinica Aziendale (N.R.C.) ai sensi della DGRV n. 2174 del 23/12/2016.

Rilevato che:

- in data 25/11/2022, con nota agli atti, il dr Massimo Marchetti, Direttore dell'U.O.C. Medicina Generale dell'Ospedale di Santorso, in qualità di Promotore, ha richiesto, inviando la relativa documentazione, il parere per la conduzione, presso l'U.O.C. Medicina Generale dell'Ospedale di Santorso, dello studio dal titolo “Determinazione dell'interstitial washdown index e della cinetica dei fluidi per la valutazione della rianimazione volêmica nel paziente settico in unità semi-intensiva medica – studio osservazionale prospettico” :

SCHEDA STUDIO CLINICO

Titolo	“Determinazione dell'interstitial washdown index e della cinetica dei fluidi per la valutazione della rianimazione volêmica nel paziente settico in unità semi-intensiva medica – studio osservazionale prospettico”
Protocollo	--
Strutture interessate	U.O.C. Medicina Generale dell'Ospedale di Santorso
Sperimentatore	Dr. Massimo Marchetti Direttore U.O.C. Medicina Generale Ospedale di Santorso
Co- sperimentatori	- Dr. Gianni Turcato, - Dr.ssa Daniela Milazzo

	- Dr.ssa Monica Trentin - Dr.ssa Monica Facci - Dr Paolo Ferretto - Dr Luca Filippi Dirigenti Medici dell'U.O.C. Medicina Generale Ospedale di Santorso
Promotore	- Azienda ULSS7 Pedemontana - via dei Lotti, 40 – Bassano del Grappa - dr. Massimo Marchetti - U.O.C. Medicina Generale dell'Ospedale di Santorso

- è stato individuato, quale Responsabile dello Studio, il dr Massimo Marchetti Dirigente Medico nonché Direttore dell'U.O.C. Medicina Generale dell'Ospedale di Santorso;
- vengono altresì individuati, quali co-sperimentatori, i seguenti Dirigenti Medici, in servizio presso l'U.O.C. Medicina Generale dell'Ospedale di Santorso: il dr. Gianni Turcato, la dr.ssa Daniela Milazzo, la dr.ssa Monica Trentin, la dr.ssa Monica Facci, il dr Paolo Ferretto e il dr Luca Filippi;

Tenuto conto che:

- il N.R.C. Aziendale, nella sua composizione prevista dalla Deliberazione n. 1684 del 09/09/2022, considerata la regolarità della documentazione presentata dallo Sperimentatore, ha verificato la fattibilità locale della ricerca sopra citata;
- il N.R.C., con nota al prot. 8223 del 31/01/2023, ha pertanto trasmesso la documentazione dello studio al Comitato Etico per le sperimentazioni Cliniche della Provincia di Vicenza CESC, per acquisirne il parere;
- il Comitato Etico per le sperimentazioni Cliniche della Provincia di Vicenza (CESC) in occasione della seduta del 14/02/2023, nota ns. prot. n. 19814 del 6/03/2023, ha espresso il proprio parere favorevole all'unanimità, alla conduzione dello studio clinico presso l'U.O.C. Medicina Generale dell'Ospedale di Santorso;
- tale ricerca si propone di verificare se la presenza di un interstitial washdown (lavaggio interstiziale) attivo a precisi intervalli temporali, durante la terapia eseguita sul paziente con sepsi, possa indicare i pazienti fluid-responder e fornire indicazioni sulla prognosi del paziente;
- trattasi di uno studio no-profit, osservazionale, prospettico, monocentrico che prevede l'arruolamento di n 182 pazienti e della durata di 14 mesi.

Per quanto sopra, il Direttore dell'U.O.C. Affari Generali, propone di autorizzare lo svolgimento dello studio multicentrico no-profit dal titolo: "Determinazione interstitial washdown index e della cinetica dei fluidi per la valutazione della rianimazione volemica nel paziente settico in unità semi-intensiva medica – studio osservazionale prospettico" presso l'U.O.C. Medicina Generale dell'Ospedale di Santorso sotto la Responsabilità del dr Massimo Marchetti, promotore dello studio nonché Direttore dell'U.O.C. interessata, secondo quanto approvato dal CESC riunitosi il 14.02.2023 (vd nota ns. prot. n. 19814 del 6/03/2023).

IL DIRETTORE GENERALE

Vista la relazione e la proposta del Responsabile del procedimento;

Dato atto che il responsabile del Servizio competente ha attestato l'avvenuta regolare istruttoria della pratica, in ordine alla compatibilità con la vigente legislazione statale, regionale e regolamentare;

Visti:

- il decreto ministeriale 15/07/1997;
- la circolare del Ministero della Salute 02/09/2002 n. 6;
- il D.lgs 24/06/2003, n. 211;
- il decreto ministeriale 17/12/2004;
- la DGRV 28/12/2006, n. 4430;
- il decreto ministeriale 12/05/2006;
- il D.lgs 6/11/2007, n. 200;
- il decreto ministeriale 21/12/2007;
- la determinazione AIFA 20/03/2008;
- la DRGV 07/10/2008, n. 2855;
- la Legge 08/11/2012, n. 189 – Decreto Balduzzi;
- il decreto del Ministero della Salute 08/02/2013;
- la DRGV 28/06/2013 n. 1066;
- il D.M. 30/11/2021

Acquisito il parere favorevole del Direttore Amministrativo, Sanitario e dei Servizi Socio-Sanitari, per quanto di rispettiva competenza

DELIBERA

1. di prendere atto che il Comitato Etico per le Sperimentazioni Cliniche della Provincia di Vicenza (CESC), in occasione della seduta del 14/02/2023 (nota ns. prot. n. 19814 del 6/03/2023), ha espresso parere favorevole all'unanimità, in ordine alla conduzione dello studio clinico osservazionale, no-profit, prospettico “Determinazione dell’interstitial washdown index e della cinetica dei fluidi per la valutazione della rianimazione volemica nel paziente settico in unità semi-intensiva medica – studio osservazionale prospettico”;
2. di autorizzare, per quanto in premessa illustrato, lo svolgimento dello studio presso l’U.O.C. Medicina Generale dell’Ospedale di Santorso, sotto la diretta Responsabilità del dr. Massimo Marchetti Dirigente Medico nonché Direttore dell’U.O.C. interessata;
3. di dare atto che il dr Massimo Marchetti e i Co-sperimentatori, Dirigenti Medici dell’U.O.C. di Medicina Generale dell’Ospedale di Santorso, il dr. Gianni Turcato, la dr.ssa Daniela Milazzo, la dr.ssa Monica Trentin, la dr.ssa Monica Facci, il dr Paolo Ferretto e il dr Luca Filippi, sono autorizzati a svolgere l’attività di ricerca durante l’attività istituzionale, come previsto dall’art.15 co 2 del Regolamento aziendale sulla gestione delle sperimentazioni cliniche, adottato con deliberazione n. 1477 del 5/08/2022;
4. di dare atto che per l’attività di ricerca non sono previsti compensi per il personale coinvolto;
5. di stabilire che lo studio clinico dovrà essere eseguito secondo quanto previsto dal Protocollo di studio, allegato alla presente deliberazione di cui è parte integrante e sostanziale e secondo quanto previsto dalla normativa vigente in ambito di sperimentazioni e dalle norme di buona pratica clinica (GCP);
6. di dare atto che, ai sensi dell’art.8 del Regolamento aziendale sulla gestione delle sperimentazioni cliniche (deliberazione n. 1477/2022):
 - a) il Responsabile della Sperimentazione durante il corso dello studio è tenuto a comunicare al CESC, per il tramite del NRC, le informazioni necessarie a consentire il periodico

aggiornamento sull'andamento della ricerca, ogni evento o reazione avversa, l'interruzione anticipata di uno studio, con l'indicazione dettagliata dei motivi e degli eventuali risultati parziali ottenuti

- b) lo Sperimentatore si impegna a fornire annualmente al CESC un rapporto scritto sullo stato di avanzamento dello studio (monitoraggio periodico) e una relazione analitica alla conclusione dello studio e pubblicazione se previsto;
7. di dare atto che dall'esecuzione del predetto studio non deriverà nessun onere aggiuntivo di spesa in capo all'Azienda ULSS 7 Pedemontana;
 8. di dare atto che la presente deliberazione viene pubblicata all'albo del sito istituzionale dell'Azienda per 10 gg. continuativi, inviata contestualmente al Collegio Sindacale e diventa esecutiva il giorno stesso della sua pubblicazione come da norma regolamentare approvata con deliberazione n. 1386 del 22/07/2022.

Titolo: “Determinazione dell’interstitial washdown index e della cinetica dei fluidi per la valutazione della rianimazione volemica nel paziente settico in unità semi-intensiva medica - studio osservazionale prospettico”

PROMOTORE: Dr. Massimo Marchetti

Sperimentatori principali: Dr. Massimo Marchetti

Sperimentatori associati: Dr. Gianni Turcato
Dr. Paolo Ferretto
Dr.ssa Daniela Milazzo
Dr.ssa Monica Trentin

INTRODUZIONE

Sepsi, definizione ed epidemiologia

La “Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock” (Sepsis-3) definisce la “sepsi” come una condizione di disfunzione d’organo con pericolo per la vita causata da una inappropriata risposta dell’ospite all’infezione [1]. La Surviving Sepsis Campaign (SSC) ha ribadito nelle recenti “International Guidelines for management of sepsis and septic shock 2021”, come la deregolazione della risposta immunitaria dell’ospite nei confronti di un agente infettivo sia la causa fisiopatologica delle possibili gravissime alterazioni d’organo che si osservano in corso di sepsi [2, 3, 4]. La sepsi e lo shock settico sono problemi sanitari globali che colpiscono milioni di persone in tutto il mondo con una mortalità che può arrivare anche a 1 su 3 persone colpite [5, 6]. Una recente revisione sistematica (2020), ha suggerito come l’incidenza aggregata era di 189 (95% CI 133 – 267) casi di sepsi trattati in ospedale per 100.000 persona/anno con una mortalità del 26.7% (22.9 – 30.7). L’incidenza stimata della sepsi trattata in terapia intensiva era di 58 (42 – 81) casi per 100.000 persone/anno, di cui il 41.9% (95% CI 36.2 – 47.7) è morto prima della dimissione dall’ospedale [7]. Nell’ultimo decennio, probabilmente anche per un notevole incremento delle conoscenze sulla sepsi e la produzione di numerosi documenti di consenso, l’incidenza della sepsi è incrementata esponenzialmente con una maggiore quota di pazienti settici trattata in ospedale [7].

La sepsi è una patologia tempo-dipendente. Una precoce identificazione e una rapida gestione terapeutica delle primissime ore possono incidere fortemente sull’outcome del paziente [8, 9]. Si stima che la mortalità del paziente settico peggiori progressivamente con il ritardo diagnostico ed è noto come un avvio non precoce degli interventi terapeutici specifici sia associato ad un peggioramento di tutti gli esiti del paziente [10, 11]. Per tanto, la SSC ha ribadito anche nelle ultime linee guida appena pubblicate come una serie di manovre salvavita, riassunte inizialmente nella definizione di Six Bundle Rules (SBR), devono essere tempestivamente compiute già al primo

contatto medico con il paziente settico [1, 2, 12]. Tra le SBR, la SSC raccomanda l'esecuzione di un bolo di cristalloidi a 30 ml/Kg entro le prime tre ore per supportare il volume plasmatico, prevenire le alterazioni del microcircolo vascolare e contrastare l'ipoperfusione dei tessuti sepsi indotta [2, 13, 14]

Fluid-bolus

Nonostante la rianimazione volemica sia fortemente discussa, il fluid-bolus rimane uno dei capisaldi del trattamento del paziente settico in Emergency Department (ED) [15, 16]. L'espansione del volume plasmatico ha l'obiettivo di aumentare il cardiac output (CO) per sostenere i cambiamenti vascolari indotti dalla deregolata risposta infiammatoria sistemica, affrontare le maggiori richieste metaboliche dei tessuti ed evitare un'attivazione irreversibile dei sistemi energetici anaerobici cellulari [16, 17, 18, 19]. Tuttavia, l'aumento del CO come risposta alla rianimazione volemica non è costante ma viene limitato dalla curvilinearità della relazione di Starling. Questa suggerisce che a livelli di stress ventricolari elevati, indotti da una massiva infusione di liquidi, ulteriori interventi sul volume plasmatico non possono apportare miglioramenti della cinetica cardiaca [19, 20]. Oltre a non avere un effetto positivo sul CO in presenza di elevati valori pressori/volumetrici endodiastolici a livello atriale destro, un fluid-bolus non ragionato potrebbe provocare danni alla componente microcircolatoria provocando aumento della spazialità capillare e disfunzione endoteliale che si riflettono su un'alterazione degli scambi tra vaso e interstizio [21, 22].

La capacità dei cristalloidi di aumentare il volume intravascolare è dibattuta. In volontari sani, un bolo di cristalloidi a 25 mL/Kg ha aumentato il volume plasmatico entro la prima ora per poi regredire rapidamente stimando un'emivita media per i cristalloidi pari ad appena 8 minuti [23]. Contemporaneamente, il fluid-bolus comportava un progressivo incremento del volume di liquido interstiziale maggiore rispetto all'incremento a livello vasale [24, 25]. In un altro studio sui volontari sani, Chowdhury et al. hanno riportato che solo il 15% di un bolo cristalloide rimane a livello

intravascolare dopo 3 ore dall'infusione [26] mentre Sanchez et al. hanno dimostrato che nei pazienti settici meno del 5% di volume infuso rimaneva nei vasi un'ora dopo la fine dell'infusione [27]. L'incremento di liquido a livello interstiziale può provocare vari gradi di edema tissutale che compromettono la diffusione dell'ossigeno e dei metaboliti, distorce l'architettura dei tessuti, impedisce il flusso sanguigno capillare e il drenaggio linfatico e disturba le interazioni cellula-cellula, portando alla disfunzione dell'organo [28, 29]. La risposta ai liquidi in corso di infezione sistemica pare differente da paziente a paziente, influenzata dalle condizioni vasali ed endoteliali e andrebbe individualizzata già durante le prime manovre eseguite sul paziente in ED [30]. Il concetto di “fluid-responder”, ossia l'importanza di determinare rapidamente il paziente che può giovare in termini di sopravvivenza da una più aggressiva fluido-terapia, è presente ampiamente anche nelle linee guida SSC del 2021. L'esame fisico, la radiografia del torace, la pressione venosa centrale (CVP), l'output urinario) e l'indice di collapsabilità della vena cava, hanno un valore limitato nel determinare la risposta ai fluidi e nel guidare la gestione dei fluidi [31, 32]. Recentemente la valutazione della variazione di stroke volume post-terapia infusiva o addirittura durante la manovra di rialzo degli arti inferiori (“passive leg raising test” PLR) sono stati validati per identificare il paziente “fluid-responder” [33, 34, 35]. Questa manovra è risultata un buon predittore della reattività ai fluidi sia nei pazienti intubati che in quelli non intubati anche se in condizioni non ottimali ha presentato accuratezza diagnostica ridotte [35, 36, 37]. Muller et al. hanno dimostrato che i cambiamenti dell'integrale della velocità di flusso attraverso la valvola aortica dopo un mini-bolo di 100 ml di colloide su 1 minuto possono essere un ottimo surrogato dello stroke volume con una affidabile capacità di predire risposta ai fluidi (AUROC 0.92) [38]. Tuttavia, queste tecniche proposte in terapia intensiva risultano complicate da applicare routinariamente in ED, visto il poco tempo a disposizione, il costante sovra afflusso continuo di pazienti, le scarse risorse disponibili e le capacità ecocardiografiche ancora non così ampiamente diffuse [39, 40, 41]. Infine, se le diverse modalità di valutazione dello stroke volume e i device disponibili esplorano la risposta macrocircolatoria

fornendo semmai scarse e indirette stime sulla componente microcircolatoria, pochissimi sono gli strumenti proposti per valutare in maniera precisa il benessere del microcircolo, il volume plasmatico e i suoi movimenti tra vasi e interstizio e l'integrità della componente cellulare endoteliale [42, 43].

Cinetica dei fluidi, interstitial washdown e refill albumina

La comprensione completa di come i fluidi si distribuiscono nel corpo umano durante le condizioni patologiche note per alterare la componente circolatoria (sepsi) potrebbe migliorare le nostre capacità di intervento. Recenti evidenze prodotte dal gruppo di Hanh, hanno suggerito che la distribuzione e la cinetica dei cristalloidi differiscono notevolmente tra lo stato di veglia, l'anestesia generale e le sindromi metaboliche come l'iperglicemia [23, 25, 44]. In particolare, la cinetica dei fluidi, ossia la l'applicazione delle regole della farmacocinetica classica alla terapia infusiva considerata come un farmaco, ha dimostrato alcuni interessanti risvolti sulla mobilitazione dei fluidi in questi contesti sperimentali. In particolare, è servita a proporre un possibile importante ruolo di un meccanismo originariamente proposto dall'eminente fisiologo Arthur Guyton e ancora poco conosciuto clinicamente come "lavaggio interstiziale" (*interstitial washdown*) che fisiologicamente servirebbe a contrastare l'edema periferico quando la filtrazione capillare è aumentata [25, 45]. Secondo questo modello, l'albumina interstiziale può essere "reclutata" dal plasma o per accelerazione del flusso linfatico o per qualche altro meccanismo che trasferisce l'albumina dall'interstizio al plasma stesso. Il processo può avere delle somiglianze con la traslocazione del fluido in seguito a un'emorragia o al cambiamento della posizione del corpo, che sono meccanismi compensatori ben studiati che ripristinano il volume del plasma in risposta all'ipovolemia assoluta o relativa [46, 47]. Inoltre, è noto come in modelli animali, il flusso linfatico aumenta prontamente in risposta al carico di volume endovenoso ma non si sa se l'aumento del flusso linfatico indotto dall'infusione di cristalloidi sia sufficiente a prevenire l'edema durante la fluidoterapia nell'uomo e soprattutto non sono ancora note le tempistiche di questo processo linfatico. In alcuni modelli sperimentali umani sembra che il

lavaggio interstiziale abbia prolungato l'espansione del volume plasmatico a spese dell'edema interstiziale durante la fluidoterapia con cristalloide. L'infusione di cristalloide è nota per aumentare notevolmente il tasso di perdita capillare di fluido dal plasma allo spazio interstiziale ma, al termine dell'infusione, il volume viene restituito al plasma per corrispondere all'escrezione renale stimolata. Il fluido restituito potrebbe, in tutto o in parte, consistere in linfa, che contiene sia albumina che globuline in una concentrazione circa la metà di quella del plasma. Anche se il plasma perda costantemente piccole quantità di albumina, un flusso linfatico accelerato potrebbe restituire più proteine di quelle perse, con conseguente arricchimento proteico intravascolare. Nei loro studi di cinetica dei fluidi Hanh et al. hanno dimostrato come il carico di fluido ha causato un aumento da cinque a sei volte della filtrazione capillare ma a sua volta determina però un aumento del flusso linfatico con conseguente diminuzione della concentrazione proteica interstiziale portando a un ritorno di proteine dal sistema linfatico al plasma che si verifica in corso di un'accelerazione del flusso linfatico aiutato anche dal fatto che la perdita transendoteliale di proteine avviene più lentamente. In tali circostanze, la concentrazione proteica del plasma aumenterebbe e questo potrebbe agire per migliorare l'espansione di volume del plasma indotta dal fluido infuso. Nella revisione dei lavori fino a qui compiuti, Hant et al. hanno proposto una semplice formula per poter stimare la presenza di interstitial washdown attraverso il solo prelievo ematico. La formula si basa sul fatto che il refill di albumina abbia luogo quando il reclutamento di albumina al plasma supera la perdita capillare di albumina e pertanto si basa sul confronto tra la diluizione del plasma basata sull'emoglobina del sangue e l'albumina del plasma. Negli studi su volontari sani e in corso di chetoacidosi, l'infusione di 25 mL/kg di cristalloidi portava ad un reclutamento transitorio di albumina con un massimo a 30 minuti dalla fine dell'infusione nei volontari sani e ancora più prolungato nei pazienti con anestesia generale, dimostrando la presenza di questo sistema "fisiologico" di difesa interstiziale anche durante la fluidoterapia. Se questo possa essere presente anche nei pazienti settici, come il suo variare possa indicare pazienti più o meno gravi e soprattutto

la sua possibile correlazione con la prognosi del paziente dovrebbero essere esplorate per valutare se la presenza di interstitial washdown (e la sua quantificazione) possa anche in corso di sepsi diventare un semplice target diagnostico e prognostico.

Obiettivi dello studio

Obiettivo principale

L'obiettivo principale dello studio è di verificare se la presenza di un "interstitial washdown" attivo a precisi intervalli temporali durante la terapia volemica sui pazienti con sepsi possa indicare i pazienti fluid-responder e se possa essere associato con andamenti prognostici migliori.

Obiettivi secondari

Lo studio presenta i seguenti obiettivi secondari:

- applicare l'analisi di cinetica dei fluidi e le sue equazioni come descritto da Hanh et al [25, 49, 50] per studiare il comportamento dei cristalloidi in corso di fluidoterapia nei pazienti settici
- valutare i valori di ePVS come formulato da Duarte e di Delta ePVS come indicato da Strauss ai vari intervalli temporali per indicare valutare se questi indici possano fornire delle indicazioni prognostiche sul paziente settico
- valutare il rapporto tra ePVS e lattati ai vari intervalli temporali per valutare se questo rapporto che potrebbe indicare la differenza tra volume plasmatico presente in relazione al quadro di ipoperfusione anaerobica presente possa essere un nuovo indice prognostico.
- valutare se la presenza di un'attivazione dell'interstitial washdown e di un contemporaneo incremento del volume plasmatico indichino dei pazienti con una migliore prognosi al termine del fluid-bolus
- correlare la presenza di interstitial washdown con alcuni indici macrovascolari come lo stroke volume, la collassabilità della VCI, il PLR, la flow-mediated dilation (FMD) dell'arteria brachiale,

la valutazione e degli indici emodinamici forniti dall'USCOM o altre tecniche di monitoraggio non invasive.

- correlare la presenza di interstitial washdown e il valore di DeltaEpvs con il grado di danno endoteliale presente in corso di terapia volemica.
- valutare come la variazione percentuale di albumina e il suo trend tra i vari punti esplorati possa essere un elemento prognostico per esiti infausti nei pazienti con sepsi
- calcolo de ROX index ad ogni rivalutazione laboratoristica e correlazione con la prognosi del paziente
- Valutare l'utilizzo dell'USCOM sui pazienti settici e in relazione ai dati albumina

Disegno dello studio

Lo studio sarà uno studio osservazionale di coorte monocentrico. Vista l'assenza di informazioni disponibili sui pazienti settici sarà uno studio pilota.

I centri coinvolti nello studio saranno:

- UOC Medicina Generale – Ospedale Alto Vicentino Santorso (VI)

Pazienti

I pazienti eleggibili per lo studio, dovranno rispettare tutti i seguenti criteri d'inclusione:

- accertata o sospetta infezione con ipoperfusione tissutale e presunta alterazione d'organo indicata da un SOFA maggiore o uguale a due come descritto nella “International Guidelines for management of sepsis and septic shock 2021” recentemente edite dalla Surviving Sepsis Campaign
- consenso informato firmato prima della partecipazione allo studio
- partecipanti di entrambi i generi, di età uguale o superiore a 18 anni il giorno della firma dell'assenso

Saranno criteri di esclusione:

- esecuzione di più di 10 ml/kg di cristalloidi ev prima del ricovero del paziente in Reparto o comunque più di 1000 ml
- arrivo da altra struttura ospedaliera o paziente già in Ospedale/Pronto Soccorso da almeno 3 ore prima da quando sono stati soddisfatti i criteri di inclusione
- presenza di patologia oncologica grave con aspettativa di vita inferiore ai 3 mesi al momento dell'arruolamento
- ipotensione dovuta da cause differenti dalla sepsi
- grave condizione di deplezione di volume dovuta ad una causa differente dalla sepsi
- presenza di grave disfunzione cardiaca contrattile nota stimata con una nota frazione di eiezione inferiore al 30%
- condizione di edema polmonare acuto o segni di un nuovo sovraccarico di liquidi
- necessità di IOT prima dell'arrivo in ED o immediatamente all'arrivo in ED
- gravidanza
- età inferiore a 18 anni
- pazienti che non forniscono il consenso informato allo studio

PROCEDURE

Protocollo di studio

I pazienti arruolati nello studio saranno sottoposti al seguente protocollo di studio articolato su diversi step. Si premette che tutte le procedure terapeutiche descritte nel protocollo sono conformi al management clinico raccomandato nelle recenti linee guida della SSC.

Il protocollo di studio è descritto nella Figura 1.

Lo studio si articola nei seguenti step:

- 1) Durante la prima valutazione medica del paziente verranno prelevati i seguenti esami ematochimici: emocromo con formula, creatininemia, sodio, cloro, potassio, magnesio, calcio, funzionalità renale, ALT, AST, albumina, bilirubina diretta e indiretta, emogasanalisi compresa di lattati e FiO₂, PT, aPTT. Verrà posizionato un catetere urinario e una linea arteriosa.
- 2) Verrà avviato a tutti i pazienti un fluid-bolus di cristalloidi con Ringer Lattato a 30 ml/Kg e verrà infuso in tre ore come indicato nelle recenti linee guida della SSC.
- 3) ad intervalli regolari verranno eseguiti da un accesso arterioso i seguenti esami ematochimici: emocromo, albumina, lattati. Gli intervalli temporali saranno a 10 ml/kg, a 20 ml/kg, a 30 ml/Kg che dovrebbe corrispondere a intervalli di 60 minuti
- 4) Al termine del fluid-bolus i pazienti saranno suddivisi in due gruppi a seconda del raggiungimento di una pressione arteriosa media (MAP) pari almeno a 70 mmHg definendo due gruppi: FLUID-RESPONDER per i pazienti che hanno raggiunto il target pressorio e FLUID NON-RESPONDER per quelli con MAP inferiore a 70 dopo fluid-bolus.
- 5) i pazienti FLUID NON-RISPONDER verranno trattati con amine vasoattive come descritto nelle linee guida della SSC e verranno eseguiti prelievi ematici ogni 60 minuti per le successive 6 ore.
- 6) nei pazienti FLUID RESPONDER verrà proseguita la terapia infusiva a 30 ml/Kg da eseguire in un arco temporale di 6 ore. Verranno eseguiti prelievi ematici ogni 60 minuti per le successive 6 ore
- 7) verranno eseguiti ulteriori prelievi ematici a 12 ore, 24 ore, 36 ore, 48 ore e 60 ore dall'arruolamento del paziente se ancora in Pronto Soccorso o in Osservazione Breve Intensiva all'interno del Pronto Soccorso, l'esecuzione dei prelievi non altererà il normale percorso del paziente.

Variabili raccolte nello studio

Durante la prima valutazione medica del paziente, il Ricercatore registrerà nell'apposita scheda paziente tutte le variabili anamnestiche e cliniche presentate dal paziente all'arrivo in ED.

Le variabili cliniche e anamnestiche raccolte saranno:

1) ANAMNESI PATOLOGICA E FARMACOLOGICA

- storia medica pregressa compresa di tutte le patologie croniche e della terapia farmacologica

2) CONDIZIONE CLINICA PRESENTATA AL MOMENTO DELLA VISITA

- anamnesi patologica prossima
- parametri vitali compresi di FR e calcolo del qSOFA
- Peso, altezza e calcolo del Body Mass Index (BMI)

3) FATTORI DI RISCHIO INFETTIVI

- Verranno registrati tutti i noti fattori di rischio per la presenza di germi multiresistenti

Tutte le altre procedure eseguite sul paziente verranno registrate nella scheda paziente e verranno derivate successivamente dalla valutazione del materiale medico disponibile per ogni paziente arruolato nello studio

Verranno allegati nella scheda paziente tutti gli esami eseguiti registrando i vari intervalli di tempo tra l'inizio del fluid-bolus e l'esecuzione dei diversi prelievi durante le rivalutazioni.

Gli indici laboratoristici oggetto di studio verranno derivati come segue:

- L'interstitial washdown index sarà valutato attraverso la formula di Hanh come segue:

$$[(\text{Hb}_{\text{PRIMA}}/\text{Hb}_{\text{DOPO}})-1]/(1-\text{Hematocrit}_{\text{PRIMA}})] - [(\text{Albumin}_{\text{PRIMA}}/\text{Albumin}_{\text{DOPO}})-1)]$$

Se la differenza dell'equazione è 0 il reclutamento di albumina nel plasma è uguale alla perdita capillare di albumina mentre valori positivi indicheranno che la diluizione plasmatica dell'albumina è minore della diluizione dell'emoglobina suggerendo un reclutamento di albumina nel plasma e quindi la presenza di un interstitial washdown attivo. L'equilibrio tra

reclutamento di albumina e perdita capillare è riportato moltiplicando la differenza emoglobina-albumina nella diluizione del plasma con la concentrazione plasmatica di albumina per ottenere il "bilancio centrale dell'albumina" (unità: g/L), che indicherebbe la concentrazione di albumina plasmatica che potrebbe essere attribuita al lavaggio [48].

- Il valore di ePVS verrà calcolato attraverso la formula di Duarte et al.:

$$ePVS = \frac{(100 - \text{hematocrit})}{\text{hemoglobin}}$$

- La variazione percentuale di ePVS verrà calcolata tramite la formula di Strauss:

$$\Delta ePVS (\%) = 100 \times \frac{\text{hemoglobin}_{before}}{\text{hemoglobin}_{after}} \times \frac{100 - \text{hematocrit}_{after}}{100 - \text{hematocrit}_{before}}$$

Timing e modalità di rivalutazione del paziente

La Sperimentazione prevede delle rivalutazioni seriate cliniche e laboratoristiche del paziente. Ad ogni rivalutazione il Ricercatore registrerà le seguenti variabili sempre nell'apposita scheda paziente (Scheda_di_rivalutazione)

- Tempo dall'inizio del fluid-bolus e dai precedenti ematochimici
- Parametri vitali, condizione cognitiva del paziente, refill capillare
- Output urinario e quantificazione di urina rispetto al precedente punto di rivalutazione
- Studio ecografico ed ecodoppler di alcuni parametri emodinamici

Verranno inoltre eseguiti gli esami ematochimici (emocromo, emogas arterioso e albumina) per poter calcolare l'interstitial washdown index, epvs e DeltaEpvs ai vari timing di rivalutazione

Il timing delle rivalutazioni sarà il seguente:

- T1: raggiunto il quantitativo di 10 ml/kg di fluid-bolus
- T2: T1: raggiunto il quantitativo di 20 ml/kg di fluid-bolus

- T3: T1: raggiunto il quantitativo di 30 ml/kg di fluid-bolus
- Tx: al termine del fluid-bolus ulteriori rivalutazioni saranno eseguite ogni ora per le 6 ore successive e a 12, 24, 48, 60 ore dall'arruolamento del paziente ancora presente in pronto soccorso o in OBI.

Criteri per l'uscita in itinere dello studio

Non sono presenti criteri per l'uscita dallo studio del paziente arruolato.

MISURE DI OUTCOMES

Primary outcome measures

Outcome primario dello studio sarà la mortalità per tutte le cause a 48 ore, 7 giorni e 28 giorni dal fluid-bolus eseguito in ED. La sopravvivenza del paziente ai vari intervalli temporali sarà determinata utilizzando uno dei seguenti metodi: revisione della cartella clinica, telefonate al paziente o alla persona delegata o alla struttura sanitaria, revisione dei necrologi o contatto con l'ufficio anagrafe.

Secondary Outcome Measures

Gli outcome secondari sono:

- Giorni senza supporto d'organo [Tempo: 28 giorni dopo l'arruolamento] – definito come un paziente vivo e senza respirazione assistita o nuova terapia invasiva di sostituzione renale o utilizzo di vasopressori (escluso l'uso di vasopressori prima delle 48 ore). Ogni giorno in cui un paziente è vivo e senza supporto d'organo rappresenterà i giorni vivi e senza supporto d'organo.
- Giorni senza ventilatore [Tempo: 28 giorni dopo l'arruolamento] – I giorni senza ventilatore sono definiti come 28 giorni meno la durata della ventilazione meccanica fino al giorno 28.

Ai partecipanti che non sopravvivono al giorno 28 vengono assegnati zero giorni senza ventilatore.

- Giorni senza sostituzione renale [Tempo: 28 giorni dopo l'arruolamento] – Il numero di giorni tra l'arruolamento e 28 giorni dopo che il paziente è vivo e senza terapia renale sostitutiva. Ai pazienti che sono morti prima del giorno 28 vengono assegnati zero giorni senza sostituzione renale.
- Giorni senza vasopressore [Tempo: 28 giorni dopo l'arruolamento] – Il numero di giorni di calendario tra il giorno 2 (ammissibilità a partire da 48 ore dopo la randomizzazione) e 26 giorni dopo che il paziente è vivo e senza l'uso di terapia vasopressoria. Ai pazienti che sono morti prima del giorno 28 vengono assegnati zero giorni senza vasopressore.
- Giorni liberi dall'ICU [Tempo: 28 giorni dopo l'arruolamento] – Definito come il numero di giorni trascorsi in vita fuori dall'ICU al giorno 28.
- Necessità di ventilazione meccanica [Tempo: 28 giorni dopo l'arruolamento] – I pazienti che ricevono una ventilazione meccanica invasiva tramite tubo endotracheale o tracheostomica, tranne quelli intubati solo per una procedura ed estubati entro 24 ore, fino al giorno 28 dello studio, soddisfano questo endpoint. La ventilazione meccanica non invasiva non sarà inclusa come risultato. Questo è un risultato binario.
- Inizio della terapia renale sostitutiva [Tempo: 28 giorni dopo l'arruolamento] – I pazienti che ricevono una (nuova) terapia renale sostitutiva fino al giorno 28 soddisfano questo endpoint. I pazienti con terapia renale sostitutiva cronica iniziata prima dell'attuale malattia da sepsi non saranno idonei a soddisfare questo endpoint.
- Cambiamento nello stadio KDIGO basato della creatinina [Tempo: 72 ore dopo l'arruolamento] – la funzione renale sarà valutata utilizzando il sistema di stadiazione KDIGO (solo i criteri della creatinina del siero; non la produzione di urina) tra il basale e le 72 ore per valutare la presenza di una lesione renale acuta (AKI) de novo (ad esempio, soddisfare i criteri

per l'AKI secondo i criteri KDIGO) o il peggioramento dell'AKI (ad esempio, aumento della gravità). I pazienti in terapia renale sostitutiva cronica non saranno ammissibili per questa determinazione dell'endpoint.

- Cambiamento nel punteggio SOFA [Tempo: 72 ore dopo l'arruolamento] – verrà calcolato il punteggio SOFA all'arruolamento e ai diversi timing dello studio 72 ore.
- Sviluppo di ARDS [Tempo: 7 giorni dopo l'arruolamento] – la presenza e la gravità dell'ARDS è determinata utilizzando il rapporto PaO_2/FiO_2 o il rapporto SpO_2/FiO_2 e la conferma dell'ARDS attraverso la radiografia del torace.

TRATTAMENTO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI BIOLOGICI (se applicabile)

Lo studio non prevede il trattamento e la conservazione di campioni biologici.

DATA MANAGEMENT E PROCEDURE PER GARANTIRE LA CONFIDENZIALITA' DEL DATO

Consenso informato e garanzia della Privacy

Il Promotore si impegna a rispettare le Leggi Privacy (come definite nel proseguito), inclusi gli ambiti attinenti alle misure di sicurezza ed alla confidenzialità. Il Promotore garantisce, per sé e per gli Sperimentatori, di essere pienamente edotto circa tutti gli obblighi derivanti da qualsivoglia normativa applicabile relativa al segreto professionale in campo medico ed alla protezione dei dati personali dei pazienti, inclusi a titolo esemplificativo ma non esaustivo il Regolamento UE 2016/679, il Codice Privacy (D.Lgs 196/03, s.m.i.), i provvedimenti, le linee guida e le vigenti autorizzazioni generali dell'Autorità Garante italiana per la protezione dei dati personali (collettivamente "Leggi Privacy").

Il Promotore si impegna affinché tutto il proprio personale coinvolto nello svolgimento dello studio rispetti le Leggi Privacy e le istruzioni del Promotore relativamente alla protezione dei dati personali, inclusi gli aspetti di sicurezza e confidenzialità dei dati. Tale obbligazione include, per esempio: (1) fornire al paziente coinvolto nello studio un'informativa privacy completa ed a norma di legge (in particolare, Regolamento UE 2016/679, D.Lgs. 196/2003 s.m.i, nonché delle sopra menzionate Linee guida 24 luglio 2008); (2) ottenere il consenso informato scritto del paziente prima della sua partecipazione nello studio; (3) rispettare i diritti privacy di ogni interessato come stabilito dalle Leggi Privacy applicabili; (4) adottare tutte le adeguate misure fisiche, logiche, organizzative, tecniche ed informatiche in ossequio alle Leggi Privacy applicabili.

In virtù della particolare delicatezza dei dati trattati nello studio sono stati adottati specifici accorgimenti tecnici per aumentare il livello di sicurezza dei dati, senza pregiudizio di ogni altra misura minima. Ciò, con particolare riferimento alle operazioni di registrazione con strumenti elettronici e/o cartacei dei dati delle persone coinvolte nello studio presso i centri di sperimentazione, al loro trasferimento in via telematica verso un unico database presso un Promotore o gli altri soggetti che svolgono, per conto di quest'ultimo, la validazione e l'elaborazione statistica dei dati, nonché alla gestione della medesima banca dati. In relazione a tali operazioni di trattamento, i Promotori hanno adottato idonei accorgimenti per garantire la protezione dei dati registrati dai rischi di accesso abusivo, furto o smarrimento parziali o integrali dei documenti cartacei, dei supporti di memorizzazione o dei sistemi di elaborazione portatili o fissi. Per garantire la segretezza del dato, nonché per evitare la manipolazione e la perdita dei dati vengono prese le seguenti misure precauzionali:

1) l'accesso ai dati è riservato solo ai membri autorizzati. I membri autorizzati sono gli autori di questo protocollo di ricerca;

- 2) la rete di ogni Promotore è protetta da firewall;
- 3) la connessione ad Internet è criptata con un certificato digitale (tecnologia SSL);
- 4) il database si trova su un server, protetto da password che viene cambiata periodicamente;
- 5) l'accesso al database è protetto da password ed è accessibile solo alle persone responsabili del centro;
- 6) vengono eseguiti backups periodici;
- 7) l'eventuale materiale cartaceo sarà crittografato istantaneamente al termine del periodo di follow-up, verrà quanto prima trasferito in forma elettronica sarà reso anonimo in entrambe le forme;
- 8) il materiale cartaceo fino alla sua elettronicizzazione sarà conservati in armadi, le cui chiavi saranno in possesso solo delle persone autorizzate dai responsabili dello studio.

I Promotori hanno adottato protocolli di comunicazione sicuri basati sull'utilizzo di standard crittografici per la trasmissione elettronica dei dati raccolti dai centri di sperimentazione al database centralizzato presso il Promotore o gli altri soggetti che effettuano la successiva validazione ed elaborazione statistica dei dati.

Si precisa infine che con specifico riferimento al database sono adottati idonei sistemi di autenticazione e di autorizzazione per gli incaricati in funzione dei ruoli e delle esigenze di accesso e trattamento e idonee procedure per la verifica periodica della qualità e coerenza delle credenziali di autenticazione e dei profili di autorizzazione assegnati agli incaricati del trattamento.

Gli Sperimentatori provvederanno a dissociare in modo adeguato i dati identificativi dei pazienti dai dati relativi ai risultati della Sperimentazione (e.g. rendendo tali dati anonimi tramite l'individuazione dei risultati con un codice alfanumerico generato casualmente) affinché vengano trattati dai Promotori solamente dati pseudo-anonimizzati.

I Promotori consentiranno l'accesso ai dati clinici (incluse le cartelle cliniche) e ad ogni altra informazione che possa essere rilevante per lo studio, sempre in ossequio alle Leggi Privacy applicabili e rispettando le misure di sicurezza, nonché la confidenzialità dei dati. Entro i limiti di quanto previsto dall'Informativa fornita ai pazienti dello studio, i dati personali di tali soggetti saranno accessibili esclusivamente ai collaboratori dei Promotori.

I Promotori e gli Sperimentatori si impegnano ad informare il più possibile, in modo chiaro e completo ogni paziente dello studio circa le modalità di trattamento dei dati personali prima della relativa partecipazione alla Sperimentazione, secondo quanto previsto dalle Leggi Privacy applicabili. Vista la complessità della patologia e dello stato clinico ad essa associata nonché le condizioni di possibile imminente pericolo di vita del paziente al momento dell'arruolamento nella Sperimentazione, ogni Sperimentatore cercherà di illustrare nel migliore dei modi tutte le disposizioni della Sperimentazione. Prima dell'acquisizione dei dati, lo Sperimentatore si impegna a rendere idonea informativa a ciascun paziente circa natura, finalità, risultati, conseguenze e rischi dello studio prima della relativa partecipazione allo studio. Prima dell'arruolamento del paziente, lo Sperimentatore o un suo delegato autorizzato, otterranno per iscritto il consenso informato del paziente: (1) a partecipare allo studio; (2) alla comunicazione delle relative informazioni confidenziali; (3) al trattamento dei dati personali; (4) al trasferimento della documentazione contenente i dati personali del paziente, inclusi i dati sensibili sulla salute, ai Promotori e/o alle competenti autorità e/o ad altre istituzioni anche al di fuori dell'Unione Europea, in conformità a quanto richiesto dalle leggi e in conformità alle Leggi Privacy applicabili.

I Promotori si impegnano a mantenere la documentazione cartacea in originale (ad es. consenso informato) per almeno 7 anni in ottemperanza al dl 200/2007.

Raccolta dei dati e qualità del dato e data entry

Nel rispetto di quanto riportato nell'art. 8, i Promotori si impegnano ad assicurare la qualità del dato raccolto anche nel trasferimento delle informazioni da materiale cartaceo a database informatico. Il trasferimento verrà eseguito dagli autori dello studio utilizzando la metodica del “*double data entry*” direttamente in un database precompilato.

Procedure per garantire la confidenzialità del dato

Per garantire la confidenzialità dei dati, ogni paziente verrà registrato e de-identificato tramite un codice identificativo.

DURATA DELLO STUDIO

Arruolamento dei pazienti e raccolta dati: 1 anno

Analisi dei dati: 3 mesi

Coinvolgimento del paziente: 3 mesi

Durata totale: 15 mesi

CALCOLO DELLA NUMEROSITA' CAMPIONARIA

Non sono presenti dati in letteratura circa la presenza e il ruolo dell'interstitial wasdown nei pazienti con sepsi. Anche in altre condizioni patogenetiche esplorate nessun dato prognostico è stato correlato con il reclutamento di albumina in corso di fluidoterapia. Lo studio corrente è il primo proposto per verificare una possibile associazione tra l'interstitial washdonw index e la sopravvivenza dei pazienti e pertanto avrà un carattere esplorativo e sarà uno studio pilota.

Una precisa stima campionaria non è stata stimata ma solamente proposta.

In precedenza, Hanh et al. hanno dimostrato che il reclutamento di albumina è presente nei volontari sani con un massimo nei primi trenta minuti dopo l'infusione mentre nei pazienti chetoacidotici è presente in modo meno evidente fino a qualche ora continuando l'infusione [25].

Nessun dato di sopravvivenza è disponibile nei soggetti chetodiabietici infusi ma possiamo ritenere che condizioni patologiche meno gravi o che tendono a rispondere positivamente ai fluidi, presentino andamento di reclutamento dell'albumina più simili a quanto presentato dai pazienti sani. Ipotizzando a priori che i pazienti che non presentano un adeguato reclutamento di albumina avranno una mortalità superiore, probabilmente doppia rispetto ai pazienti con adeguato refill di albumina, e sostenendo per i pazienti settici che si presentano in ED con un qSOFA almeno di 2 una mortalità a 28 giorni pari al 30%, una potenza del 80% e un errore dello 0.05, si stima una grandezza campionaria esplorativa pari a 182 pazienti. Il calcolo del campione è stato condotto con il software statistico MedCalc.

ANALISI STATISTICA

Le variabili continue saranno descritte come mediana e range interquartile o come media e deviazione standard a seconda del rispetto della condizione di normalità. Le variabili categoriali saranno descritte come percentuale e numero di eventi sul totale. A seconda della tipologia di variabili considerate, le analisi univariate saranno condotte con i Test T di Student, Mann-Whitney, Kruskal-Wallis, Esatto di Fisher e Chi-quadro.

Un'analisi multivariata verrà condotta per valutare la possibile associazione indipendente del reclutamento attivo di albumina in corso di fluidoterapia sulla sopravvivenza del paziente. Saranno eseguiti diversi modelli di analisi GEE (Generalized Estimating Equations) per la mortalità a 28 giorni aggiustati con tutti i possibili fattori di confondimento anamnestici, clinici e di laboratorio risultati correlati con l'outcome alle precedenti analisi univariate. Le possibili associazioni verranno riportate in termine di Odd Ratio con i loro rispettivi intervalli di confidenza al 95%.

Eventuali ulteriori analisi multivariate verranno condotte per valutare diverse espressioni dell'interstitial washdown index attraverso l'analisi multivariata di Cox e modelli di regressione logistica.

L'analisi Kaplan-Meier verrà eseguita per valutare la differenza di sopravvivenza tra pazienti con e senza reclutamento dell'albumina come indicato dall'indice di interstitial washdown. Eventuali vari livelli di interstitial washdown saranno utilizzati come fattori. L'analisi verrà condotta con il Log Rank Test.

Ulteriori analisi sull'influenza del lavaggio interstiziale sulla distribuzione e l'eliminazione dei cristalloidi infusi saranno analizzate utilizzando la metodologia già proposta da Hanh et al e applicando le equazioni della cinetica dei fluidi [25, 49, 50]. Tutte le analisi statistiche saranno considerate significative per valori di p inferiore a 0.05. Le analisi saranno condotte con il software statistico STATA v.16

ASPETTI ETICI E BUONA PRATICA CLINICA

L'ultima revisione della dichiarazione di Helsinki nonché la dichiarazione di Oviedo sono la base per la conduzione etica dello studio.

Il protocollo di studio è disegnato e sarà condotto per assicurare l'aderenza ai principi e procedure di Buona Pratica Clinica e per essere conforme alle leggi italiane, così come descritte nei seguenti documenti e accettato dagli investigatori dello studio:

1. ICH Harmonized Tripartite Guidelines for Good Clinical Practice E6 (R2) 2017
2. Directive 91/507/EEC, The Rules Governing Medicinal Products in the European Community.
3. D. L.vo n.211 del 24 giugno 2003.
4. D. L.vo n.200 6 Novembre 2007.
5. D.M. 21 Dicembre 2007.
6. Determinazione AIFA 20 Marzo 2008.

Il Promotore del presente studio in accordo alle responsabilità previste dalle norme della buona pratica clinica (d.lgs. 211/2003) e in conformità alle leggi e ai regolamenti vigenti in materia di protezione dei dati incluso il Regolamento Europeo in materia di protezione dei dati personali 2016/679, tratterà i dati personali raccolti, esclusivamente in funzione della realizzazione dello studio.

PROPRIETÀ DEI DATI E ACCORDI DI PUBBLICAZIONE

Tutti i risultati della raccolta dati verranno pubblicati dai Promotori. Gli Sperimentatori Principali si impegnano a presentare i risultati dello studio in apposite pubblicazioni scientifiche. Gli autori delle eventuali pubblicazioni saranno gli stessi autori del protocollo di ricerca.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA. 2016;315(8):801-810. doi:10.1001/jama.2016.0287
- [2] Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. Intensive Care Med. 2021;47(11):1181-1247. doi:10.1007/s00134-021-06506-y
- [3] Font MD, Thyagarajan B, Khanna AK. Sepsis and Septic Shock - Basics of diagnosis, pathophysiology and clinical decision making. Med Clin North Am. 2020;104(4):573-585. doi:10.1016/j.mcna.2020.02.011
- [4] Taeb AM, Hooper MH, Marik PE. Sepsis: Current Definition, Pathophysiology, Diagnosis, and Management. Nutr Clin Pract. 2017;32(3):296-308. doi:10.1177/0884533617695243
- [5] Rhee C, Dantes R, Epstein L, et al. Incidence and Trends of Sepsis in US Hospitals Using Clinical vs Claims Data, 2009-2014. JAMA. 2017;318(13):1241-1249. doi:10.1001/jama.2017.13836
- [6] Machado FR, Cavalcanti AB, Bozza FA, et al. The epidemiology of sepsis in Brazilian intensive care units (the Sepsis PREvalence Assessment Database, SPREAD): an observational study. Lancet Infect Dis. 2017;17(11):1180-1189. doi:10.1016/S1473-3099(17)30322-5
- [7] Fleischmann-Struzek C, Mellhammar L, Rose N, et al. Incidence and mortality of hospital- and ICU-treated sepsis: results from an updated and expanded systematic review and meta-analysis. Intensive Care Med. 2020;46(8):1552-1562. doi:10.1007/s00134-020-06151-x

- [8] Morr M, Lukasz A, Rübig E, Pavenstädt H, Kämpers P. Sepsis recognition in the emergency department - impact on quality of care and outcome?. BMC Emerg Med. 2017;17(1):11. Published 2017 Mar 23. doi:10.1186/s12873-017-0122-9
- [9] Gatewood MO, Wemple M, Greco S, Kritek PA, Durvasula R. A quality improvement project to improve early sepsis care in the emergency department. BMJ Qual Saf. 2015;24(12):787-795. doi:10.1136/bmjqs-2014-003552
- [10] Kim RY, Ng AM, Persaud AK, et al. Antibiotic Timing and Outcomes in Sepsis. Am J Med Sci. 2018;355(6):524-529. doi:10.1016/j.amjms.2018.02.007
- [11] Sterling SA, Miller WR, Pryor J, Puskarich MA, Jones AE. The Impact of Timing of Antibiotics on Outcomes in Severe Sepsis and Septic Shock: A Systematic Review and Meta-Analysis. Crit Care Med. 2015;43(9):1907-1915. doi:10.1097/CCM.0000000000001142
- [12] Daniels R, Nutbeam T, McNamara G, Galvin C. The sepsis six and the severe sepsis resuscitation bundle: a prospective observational cohort study. Emerg Med J. 2011;28(6):507-512. doi:10.1136/emj.2010.095067
- [13] Loflin R, Winters ME. Fluid Resuscitation in Severe Sepsis. Emerg Med Clin North Am. 2017;35(1):59-74. doi:10.1016/j.emc.2016.08.001

- [14] Leisman D, Wie B, Doerfler M, et al. Association of Fluid Resuscitation Initiation Within 30 Minutes of Severe Sepsis and Septic Shock Recognition With Reduced Mortality and Length of Stay. *Ann Emerg Med*. 2016;68(3):298-311. doi:10.1016/j.annemergmed.2016.02.044
- [15] Marik PE, Linde-Zwirble WT, Bittner EA, Sahatjian J, Hansell D. Fluid administration in severe sepsis and septic shock, patterns and outcomes: an analysis of a large national database. *Intensive Care Med*. 2017;43(5):625-632. doi:10.1007/s00134-016-4675-y
- [16] Semler MW, Rice TW. Sepsis Resuscitation: Fluid Choice and Dose. *Clin Chest Med*. 2016;37(2):241-250. doi:10.1016/j.ccm.2016.01.007
- [17] Latham HE, Bengtson CD, Satterwhite L, et al. Stroke volume guided resuscitation in severe sepsis and septic shock improves outcomes. *J Crit Care*. 2017;42:42-46.
- [18] Marik PE, Levitov A, Young A, Andrews L. The use of bioreactance and carotid Doppler to determine volume responsiveness and blood flow redistribution following passive leg raising in hemodynamically unstable
- [19] Monnet X, Teboul JL. My patient has received fluid. How to assess its efficacy and side effects? *Ann Intensive Care*. 2018;8(1):54.
- [20] Magder S, Vanelli G. Circuit factors in the high cardiac output of sepsis. *J Crit Care*. 1996;11(4):155-166. doi:10.1016/s0883-9441(96)90026-x

- [21] Uchimido R, Schmidt EP, Shapiro NI. The glycocalyx: a novel diagnostic and therapeutic target in sepsis. *Crit Care*. 2019;23(1):16. Published 2019 Jan 17. doi:10.1186/s13054-018-2292-6
- [22] Marx G. Fluid therapy in sepsis with capillary leakage. *Eur J Anaesthesiol*. 2003;20(6):429-442. doi:10.1017/s0265021503000681
- [23] Hahn RG. Understanding volume kinetics. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2020;64(5):570-578. doi:10.1111/aas.13533
- [24] Hahn RG, Drobin D, Li Y, Zdolsek J. Kinetics of Ringer's Solution in Extracellular Dehydration and Hemorrhage. *Shock*. 2020;53(5):566-573. doi:10.1097/SHK.0000000000001422
- [25] Hahn RG, Dull RO. Interstitial washdown and vascular albumin refill during fluid infusion: novel kinetic analysis from three clinical trials. *Intensive Care Med Exp*. 2021;9(1):44. Published 2021 Aug 27. doi:10.1186/s40635-021-00407-6
- [26] Chowdhury AH, Cox EF, Francis ST, Lobo DN. A randomized, controlled, double-blind crossover study on the effects of 2-L infusions of 0.9% saline and plasma-lyte® 148 on renal blood flow velocity and renal cortical tissue perfusion in healthy volunteers [published correction appears in *Ann Surg*. 2013 Dec;258(6):1118]. *Ann Surg*. 2012;256(1):18-24. doi:10.1097/SLA.0b013e318256be72
- [27] Sánchez M, Jiménez-Lendínez M, Cidoncha M, et al. Comparison of fluid compartments and fluid responsiveness in septic and non-septic patients. *Anaesth Intensive Care*. 2011;39(6):1022-1029. doi:10.1177/0310057X1103900607

- [28] Prowle JR, Kirwan CJ, Bellomo R. Fluid management for the prevention and attenuation of acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol.* 2014;10(1):37-47. doi:10.1038/nrneph.2013.232
- [29] Hilton AK, Bellomo R. A critique of fluid bolus resuscitation in severe sepsis. *Crit Care.* 2012;16(1):302. Published 2012 Jan 25. doi:10.1186/cc11154
- [30] glicocalice, endotelio, alterazioni vascolari in sepsi
- [31] Corl K, Napoli AM, Gardiner F. Bedside sonographic measurement of the inferior vena cava caval index is a poor predictor of fluid responsiveness in emergency department patients. *Emerg Med Australas.* 2012;24(5):534-539. doi:10.1111/j.1742-6723.2012.01596.x
- [32] Saugel B, Ringmaier S, Holzapfel K, et al. Physical examination, central venous pressure, and chest radiography for the prediction of transpulmonary thermodilution-derived hemodynamic parameters in critically ill patients: a prospective trial. *J Crit Care.* 2011;26(4):402-410. doi:10.1016/j.jcrc.2010.11.001
- [33] Marx G, Cope T, McCrossan L, et al. Assessing fluid responsiveness by stroke volume variation in mechanically ventilated patients with severe sepsis. *Eur J Anaesthesiol.* 2004;21(2):132-138. doi:10.1017/s0265021504002091
- [34] Préau S, Saulnier F, Dewavrin F, Durocher A, Chagnon JL. Passive leg raising is predictive of fluid responsiveness in spontaneously breathing patients with severe sepsis or acute pancreatitis. *Crit Care Med.* 2010;38(3):819-825. doi:10.1097/CCM.0b013e3181c8fe7a

- [35] Cavallaro F, Sandroni C, Marano C, et al. Diagnostic accuracy of passive leg raising for prediction of fluid responsiveness in adults: systematic review and meta-analysis of clinical studies. *Intensive Care Med.* 2010;36(9):1475-1483. doi:10.1007/s00134-010-1929-y
- [36] Mallat J, Meddour M, Durville E, et al. Decrease in pulse pressure and stroke volume variations after mini-fluid challenge accurately predicts fluid responsiveness†. *Br J Anaesth.* 2015;115(3):449-456. doi:10.1093/bja/aev222
- [37] Cannesson M, Le Manach Y, Hofer CK, et al. Assessing the diagnostic accuracy of pulse pressure variations for the prediction of fluid responsiveness: a "gray zone" approach. *Anesthesiology.* 2011;115(2):231-241. doi:10.1097/ALN.0b013e318225b80a
- [38] Muller L, Toumi M, Bousquet PJ, et al. An increase in aortic blood flow after an infusion of 100 ml colloid over 1 minute can predict fluid responsiveness: the mini-fluid challenge study. *Anesthesiology.* 2011;115(3):541-547. doi:10.1097/ALN.0b013e318229a500
- [39] Velt KB, Cnossen M, Rood PPM, et al. Emergency department overcrowding: a survey among European neurotrauma centres. *Emerg Med J.* 2018;35(7):447-448. doi:10.1136/emermed-2017-206796
- [40] Di Somma S, Paladino L, Vaughan L, Lalle I, Magrini L, Magnanti M. Overcrowding in emergency department: an international issue. *Intern Emerg Med.* 2015;10(2):171-175. doi:10.1007/s11739-014-1154-8

[41] Mackenzie DC, Noble VE. Assessing volume status and fluid responsiveness in the emergency department. Clin Exp Emerg Med. 2014;1(2):67-77. Published 2014 Dec 31. doi:10.15441/ceem.14.040

[42] Horster S, Stemmler HJ, Sparrer J, Tischer J, Hausmann A, Geiger S. Mechanical ventilation with positive end-expiratory pressure in critically ill patients: comparison of CW-Doppler ultrasound cardiac output monitoring (USCOM) and thermodilution (PiCCO). Acta Cardiol. 2012;67(2):177-185. doi:10.1080/ac.67.2.2154208

[43] Miranda M, Balarini M, Caixeta D, Bouskela E. Microcirculatory dysfunction in sepsis: pathophysiology, clinical monitoring, and potential therapies. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2016;311(1):H24-H35. doi:10.1152/ajpheart.00034.2016

[44] Li Y, Xiaozhu Z, Guomei R, Qiannan D, Hahn RG. Effects of vasoactive drugs on crystalloid fluid kinetics in septic sheep. PLoS One. 2017;12(2):e0172361. Published 2017 Feb 23. doi:10.1371/journal.pone.0172361

[45] Guyton AC, Hall JE (1996) The body fluid compartments: extracellular and intracellular fluids; interstitial fluid and edema. Textbook of Medical Physiology, 9th edn. W.B. Saunders Company, Philadelphia

[46] Dull RO, Hahn RG. Transcapillary refill: The physiology underlying fluid reabsorption. J Trauma Acute Care Surg. 2021;90(2):e31-e39. doi:10.1097/TA.0000000000003013

[47] Lundvall J, Bjerkhoel P. Pronounced and rapid plasma volume reduction upon quiet standing as revealed by a novel approach to the determination of the intravascular volume change. *Acta Physiol Scand*. 1995;154(2):131-142. doi:10.1111/j.1748-1716.1995.tb09895.x

[48] Ewaldsson CA, Hahn RG. Kinetics and extravascular retention of acetated ringer's solution during isoflurane or propofol anesthesia for thyroid surgery. *Anesthesiology*. 2005;103(3):460-469. doi:10.1097/00000542-200509000-00006

[49] Hahn RG. Arterial Pressure and the Rate of Elimination of Crystalloid Fluid. *Anesth Analg*. 2017;124(6):1824-1833. doi:10.1213/ANE.0000000000002075

[50] Owen JS, Fiedler-Kelly J (2014) Introduction to population pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis with nonlinear mixed effects models. Wiley & Sons, Hoboken