

IL LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA NELLA DIAGNOSI DELLE POLMONITI

ALLU' MARIA TERESA
U.O.C. PATOLOGIA CLINICA
OSPEDALE CIVILE RAGUSA
26 SETTEMBRE

LA DIAGNOSI MICROBIOLOGICA DI INFEZIONI DELLE BASSE VIE AEREE

PERCHE' EFFETTUARE UNA DIAGNOSI EZIOLOGICA ?

- 1-EVITARE DI NON TRATTARE O DI TRATTARE IN MODO INADEGUATO I CASI DI HAP DI VAP O DI HCAP, PERCHE' QUESTO COSTITUISCE UN FATTORE RILEVANTE ASSOCIATO AD UN INCREMENTO DELLA MORTALITA'
- 2-TRATTARE ADEGUATAMENTE TUTTI I PAZIENTI CON HAP SOSTENUTE DA GERMI MULTIRESISTENTI (PSEUDOMONAS AERUGINOSA, ACINETOBACTER, MRSA, VRE)
- 3-EVITARE IL RICORSO ECCESSIVO AGLI ANTIBIOTICI (POSOLOGIA E DURATA) PUNTANDO SU DI UNA STRATEGIA TERAPEUTICA BASATI SUI RISULTATI DELL'ESAME COLTURALE
- 4-RICONOSCERE LA VARIABILITA' EZIOLOGICA DA UN CENTRO ALL'ALTRO, DA UN REPARTO ALL'ALTRO, E IN MOMENTI DIVERSI NELLO STESSO CENTRO AL FINE DI METTERE IN ATTO, SU BASI EPIDEMIOLOGICA, SCHEMI DI TRATTAMENTO E DI PREVENZIONI OTTIMALI
- 5- APPLICARE IDONEE STRATEGIE DI PREVENZIONE

QUALI SONO I PUNTI CRITICI DELLA DIAGNOSI EZIOLÓGICA?

- -LA DISPONIBILITA' DI UN CAMPIONE RAPPRESENTATIVO DELLA SEDE ANATOMICA DI INFEZIONE E NON CONTAMINATO, PRELEVATO PRIMA TERAPIA ANTIBIOTICA
- -IL RICORSO A STRATEGIE DI LABORATORIO INTEGRATE, CHE CONSIDERANO L'ESAME MICROSCOPICO DIRETTO E L'ESAME COLTURALE QUANTITATIVO
- -LA DISPONIBILITA' DI TEST RAPIDI PER LA DIAGNOSI DI INFEZIONE BATTERICA, FUNGINA O VIRALE

La diagnosi microbiologica malattia

← gravità della
→

E'importante ma non
sempre efficace

- ▶ nelle cap che necessitano di ricovero
- ▶ per pazienti ospedalizzati
- ▶ per pazienti immunocompromessi con infezioni delle basse vie

È limitato

- ▶ nelle bronchiti
- ▶ nelle cap non complicate e in assenza di fattori di rischio (sono sufficienti le linee guida)

Eziologia:

Età	Microrganismi più frequenti
Neonato (0-1 mese)	<i>E. coli</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i>
Infante (1-6 mesi)	<i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>respiratory syncytial virus</i>
Bambino (6 mesi -5 anni)	<i>Respiratory syncytial virus</i> , <i>parainfluenza viruses</i>
Bambino (5-15 anni)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>influenza virus type A</i>
Giovane adulto (16-30 anni)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>
Adulto	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i>



Tabella LRI-2. Agenti eziologici di polmonite: tipologia e correlazione con stato immunitario

Presentazione e Stato immunitario	Cause più frequenti	Cause meno frequenti
Community acquired typical pneumonia	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Neisseria meningitidis</i>
Nosocomial pneumonia typical pneumonia	Gram-negative aerobic bacilli (<i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Pseudomonas</i>), <i>Staphylococcus aureus</i> , anaerobic bacteria, standard bacteria*	<i>Legionella</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>
Community acquired primary interstitial pneumonia	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> , respiratory viruses†, influenza virus, <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> , <i>Legionella</i> sp.	Adenovirus, <i>Chlamydomphila psittaci</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , primary tuberculosis, acute fungal pneumonias
Hematogenous pneumonia	<i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i>	Gram-negative aerobic bacilli
Opportunistic pneumonia occurring in immunocompromised host	Standard bacteria*, <i>Pneumocystis jirovecii</i> , Cytomegalovirus, herpes simplex virus, <i>Nocardia</i> , opportunistic fungi (e.g., <i>Candida</i> , <i>Phycomycetes micor</i> , <i>Aspergillus</i>)	<i>Legionella</i> , <i>Listeria</i> , <i>Histoplasma</i> , <i>Coccidioides</i>
Pneumonia acquired by environmental exposure	<i>Histoplasma capsulatum</i> , <i>Coccidioides immitis</i> , <i>Chlamydomphila psittaci</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Burkholderia mallei</i> , <i>Burkholderia pseudomallei</i> <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Yersinia pestis</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Paracoccidioides</i>
Aspiration pneumonia	<i>Prevotella melaninogenicus</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Peptococcus</i> , and other anaerobes, <i>Staphylococcus</i> , Gram-negative aerobic bacilli	

* Standard bacteria:batteri che comunemente causano CAP. † Respiratory viruses include influenza, parainfluenza, and respiratory syncytial virus.

Modificata da: N. Chamberlain, 2010

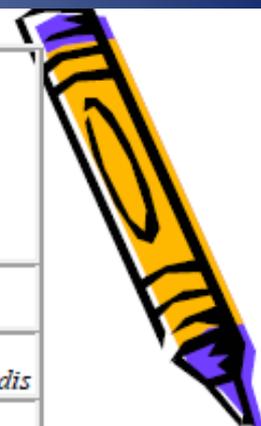


Tabella 3. Cause di Polmoniti secondo l'epoca di esordio, modalità di acquisizione e trasmissione

Esordio	Tipologia di polmonite	Trasmissione	Agenti causali
Acuta	Community acquired	Persona-a-persona	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , influenza virus, <i>Streptococcus pyogenes</i>
Acuta	Community acquired	Animali o esposizione ambientale	<i>Legionella</i> , <i>Francisella tularensis</i> , <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Chlamydophila psittaci</i> , <i>Yersinia pestis</i> (peste), <i>Bacillus anthracis</i> (antrace), <i>Burkholderia pseudomallei</i> (melioidosi), <i>Pasteurella multocida</i> (pasteurellosi)
Acuta	Community acquired	Persona a persona in infanti e bambini piccoli	<i>Chlamydia trachomatis</i> (polmonite apiratica), respiratory syncytial virus e altri virus respiratori, <i>Streptococcus agalactiae</i> (Group B), <i>S aureus</i> , Cytomegalovirus, <i>S pneumoniae</i> , <i>H influenza</i>
Acuta	Nosocomial pneumonia	Persona a persona	Enterobacteriaceae, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacters</i> , <i>S aureus</i>
Subacuta interstiziale	Community acquired	Persona a persona	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> , influenza virus
Subacuta	Nosocomial or community acquired	Aspirazione	Mista: anaerobi e aerobi gram-negative, enterobatteri, usualmente polimicrobiche
Subacuta o cronica	Nosocomial or community acquired	Persona a persona o aspirazione in immunocompromessi	<i>Pneumocystis jiroveci</i> , cytomegalovirus, atypical mycobacterium (e.g., <i>Mycobacterium kansasii</i>), <i>Nocardia</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Phycomycetes mucor</i> , <i>Candida albicans</i>
Cronica	Community acquired	Persona a persona	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , la più frequente. Polmoniti MICOTICHE <i>Blastomyces dermatitides</i> , <i>Histoplasma capsulatum</i> , <i>Coccidioides immitis</i> , <i>Coccidioides posadasii</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i>



ELEMENTI ANAMNESTICI NELLE CAP

Anamnesi

Alcolismo

BPCO

Esposizione animali

Uccelli

Ratti, scoiattoli, conigli

Ratti, topi

Cavalli

Gatti

Bestiame, ovini, bovini

Terapia steroidea

Immunodepressione

Viaggi

Tailandia, SE Asia

Asia, Africa, centro e Sud
America

Sistemi idrici contaminati

Microrganismo

K. Pneumoniae, S. pneumoniae, Anaerobi, S aureus

S pneumoniae, H influenzae, M catarralis

C psittaci (psittacosi)

Y pestis, tularemia

Leptospira spp

Pseudomonas mallei

C. burnetii, Pasterella multocida

C burnetii (febbre Q)

S.aureus, M tuberculosis, P carinii, Legionella spp

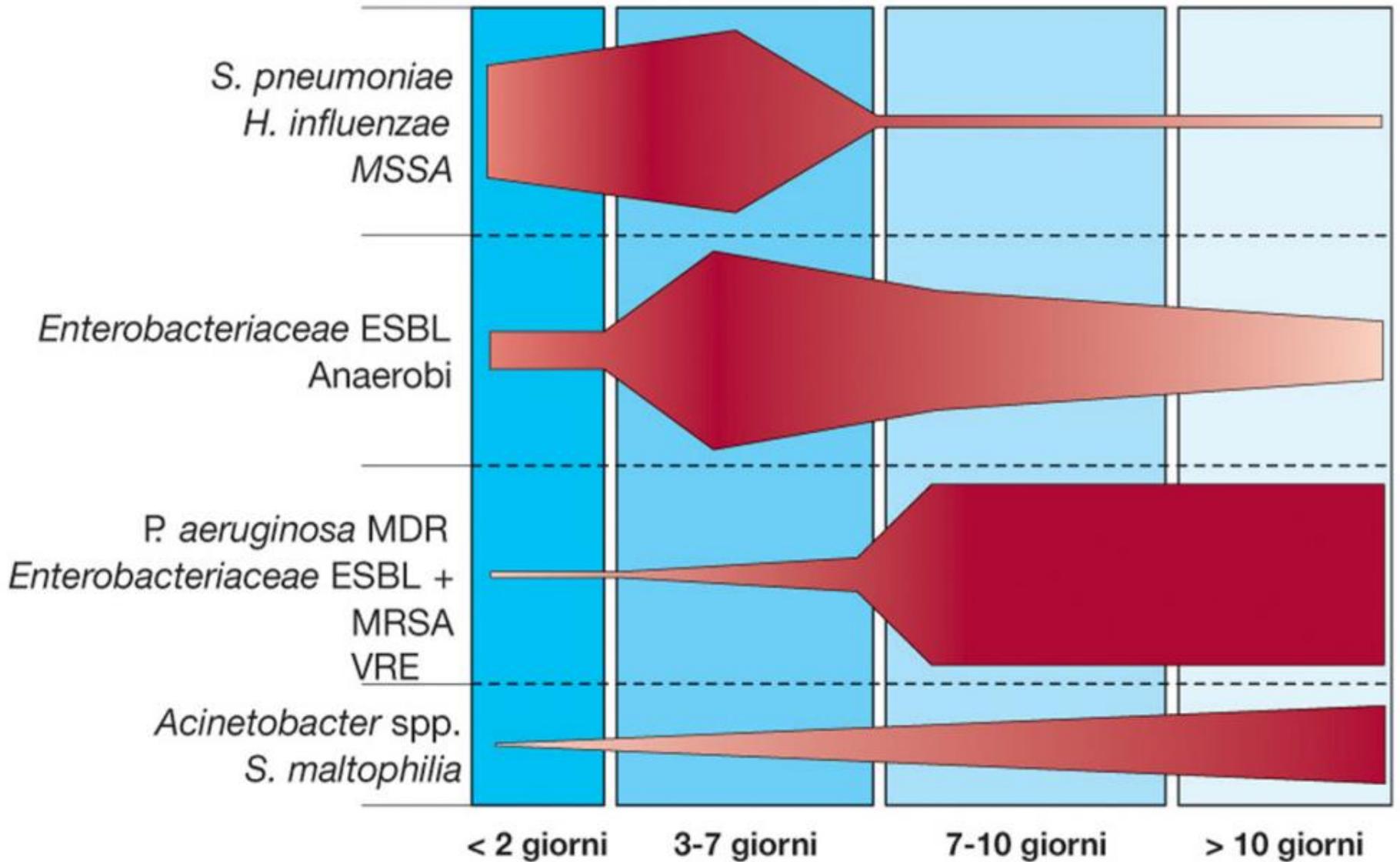
Mycobacterium spp, *P carinii*, funghi, CMV

Pseudomonas pseudomallei (melioidosi)

Paragonimus westermani (paragonimiasi)

L. pneumophila

Agenti eziologici di polmonite in corso di ventilazione assistita (VAP) in relazione al tempo di insorgenza dopo l'intubazione



Quale l'approccio microbiologico?

- Fase pre-analitica (raccolta e trasporto campione)
- Fase analitica-diagnostica: se e chi è il patogeno?
- Test di Sensibilità
- Resistenze e problematiche correlate



Fattori interferenti con la diagnosi microbiologica

- Adeguatezza del campione (assenza di contaminazione da parte della flora del tratto respiratorio superiore)

- Uso di test diagnostici rapidi e sensibili

importanti sono:

esame microscopico

la ricerca di antigeni

tests di biologia molecolare

Diagnosi eziologica infezioni respiratorie

INDAGINI MICROBIOLOGICHE	UTILITÀ INDAGINI
Emocolture ≥ 2	+++
Microscopia e coltura QT escreato	+++
Ag urinario <i>L. pneumophila</i>	+++
Ag. urinario <i>S. pneumoniae</i>	+
Sierologia <i>M.pneumoniae</i> , <i>C.pneumoniae</i> , <i>L.pneumophila</i>	\pm
Microscopia e coltura QT del l.pleurico, BAL, brushing	++

+++ fortemente consigliato, ++ consigliato, + utile, \pm opzionale

Materiali ad **alto rischio** di contaminazione con saliva

- Espettorato
- Espettorato indotto
- Espettorato protetto
- Aspirato endotracheale
- Aspirato da tracheostomia
- Lavaggio bronchiale

I microbi del cavo orale

Patogeni (stato di portatore sano)

- <i>S. aureus</i>	35-40 %
- <i>N. meningitidis</i>	5-15 %
- <i>S. pneumoniae</i>	0-50 %
- <i>Haemophilus influenzae</i>	5-20 %

I microbi del cavo orale

Flora endogena 10^{15} CFU

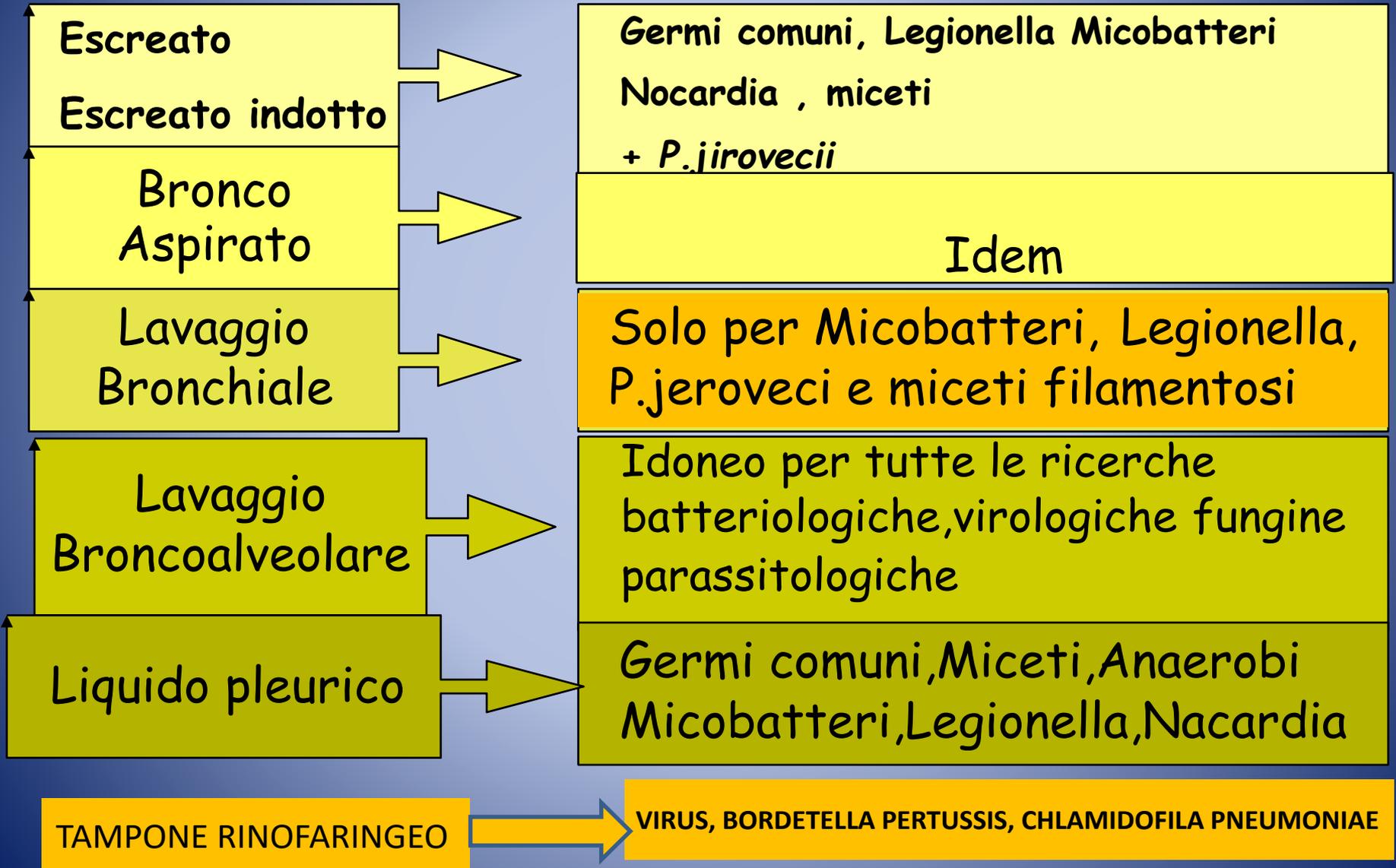
Opportunisti

- Streptococchi α emolitici
- Stafilococchi coagulasi negativi
- *Neisseriacee*
- *Candida* spp.
- *Haemophilus* spp
- *Actinobacillus* spp
- Anaerobi

Materiali a **basso rischio** di contaminazione con saliva

- Lavaggio bronco-alveolare (BAL)
- Lavaggio bronco-alveolare mirato con cateterino
- Spazzolatura endobronchiale protetta (PSB)
- Aspirato transcricotiroideo

Materiale Idoneo



Raccolta dei campioni



- Tempo ottimale di prelievo:
 - Emocolture: prima possibile e precedente a terapia antibiotica (alta specificità ma positive solo nel 4-18% dei casi, 34% se eseguite nei primi 4 giorni dall'esordio sintomi)
 - Escreato: preferibile campione della mattina
 - Preferibile campione precedente alla terapia

antibiotica (*Legionella* può risultare positiva anche dopo inizio

terapia)



Raccolta dei campioni

Tipo di campione appropriato e metodo di prelievo

- Escreato profondo
- Se tosse secca, possibilmente fare fisioterapia o drenaggio posturale o inalazione di aerosol
- **Quantità adeguata e numero appropriato di campioni**
 - » Per Emocolture: almeno 2 campioni
 - » Per BAL max volume
 - » Escreato: almeno 2 ml, possibilmente ripetere il campione per 3 giorni consecutivi



Esame microscopico

Permette di

Stabilire l'idoneità del materiale

**Valutare la quantità di PMN e
microrganismi**

(processo infiammatorio e infezione batterica)

Fare una diagnosi presuntiva mediante
il rilevamento di potenziali patogeni

**può indurre ad attuare iter diagnostici
diversi da quelli routinari**

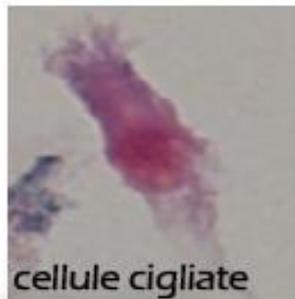
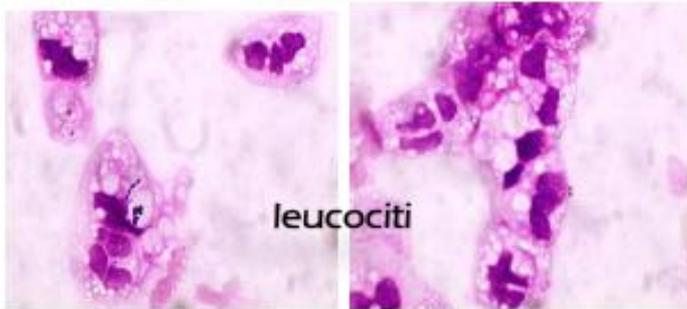
OSSERVAZIONE MICROSCOPICA del CAMPIONE RESPIRATORIO

VALUTAZIONE DELLA CELLULARITÀ PER CALCOLO DEL **Q** **SCORE:**

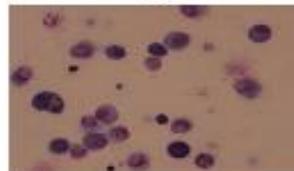
n. medio cellule epiteliali squamose

n. medio leucociti neutrofilii

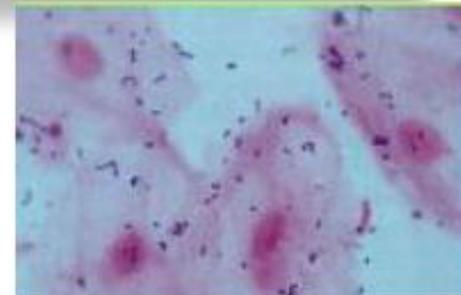
Presenza di cellule cigliate e di macrofagi alveolari (+ → +++)



macrofagi alveolari



Presenza di cellule epiteliali squamose
>1%: contaminazione con flora
orofaringea



Verifica di idoneità del campione mediante calcolo del "Q score"

Cellule epiteliali squamose (CS)

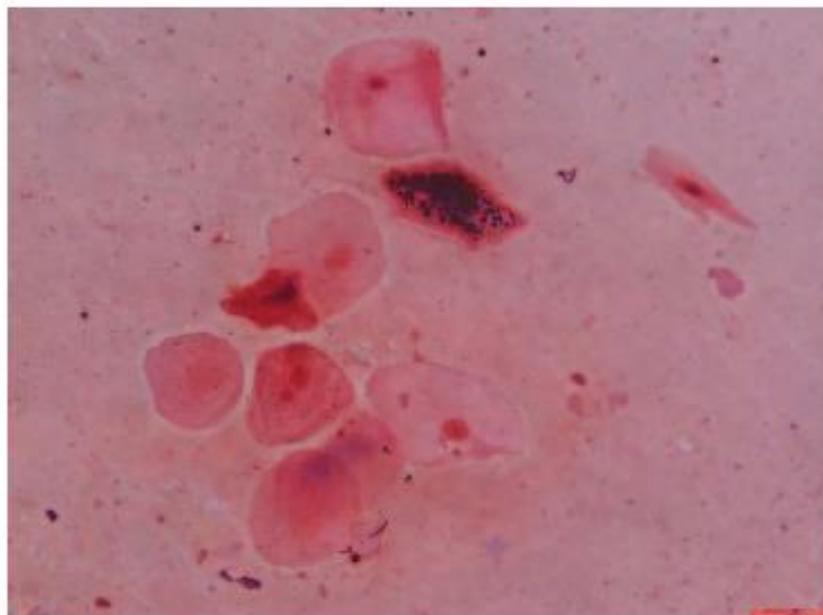
Esame Microscopico		n.	1-9	10-24	> 25	
Referto		0	+	++	+++	
Leucociti (GB)	n.	0	0	- 1	- 2	- 3
	1-9	+	+ 1	0	- 1	- 2
	10-24	++	+ 2	+ 1	0	- 1
	> 25	+++	+ 3	+ 2	+ 1	0
	Punteggio "Q"					

se Q score ≤ 0

Campione non idoneo

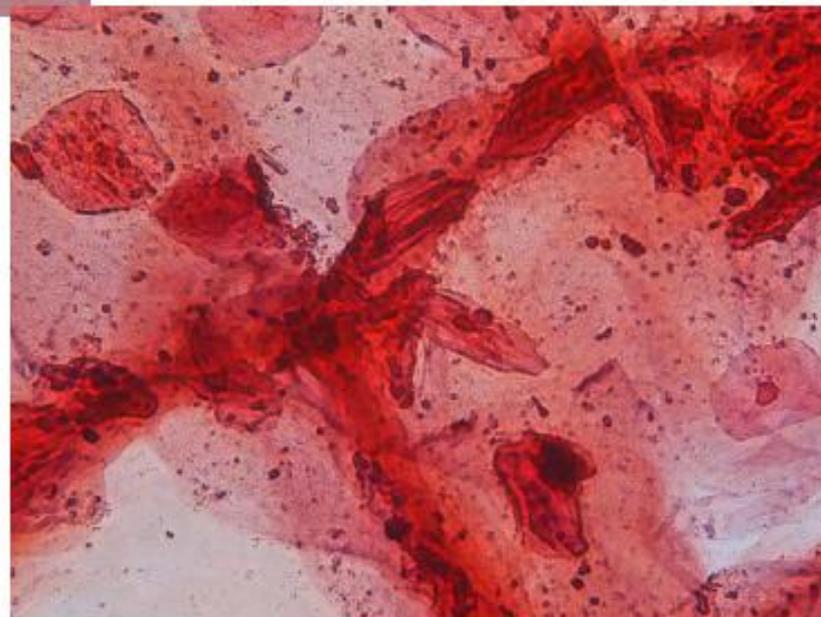
se Q score ≥ 1

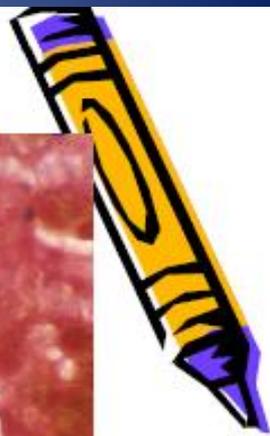
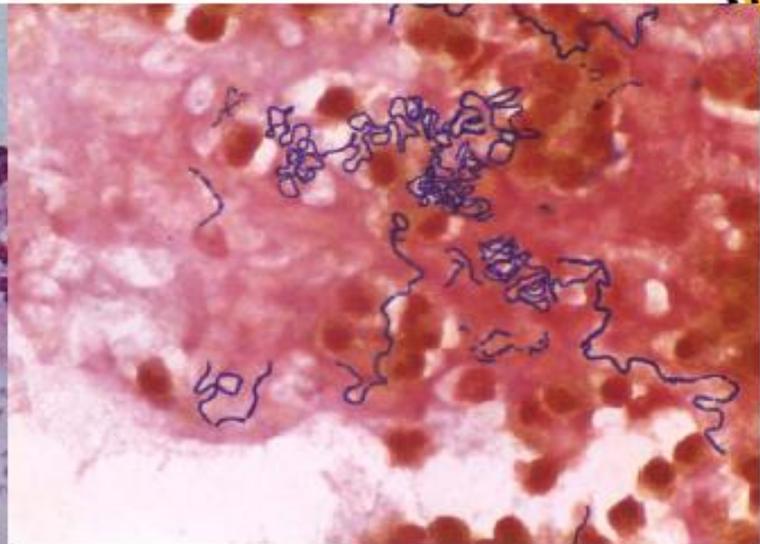
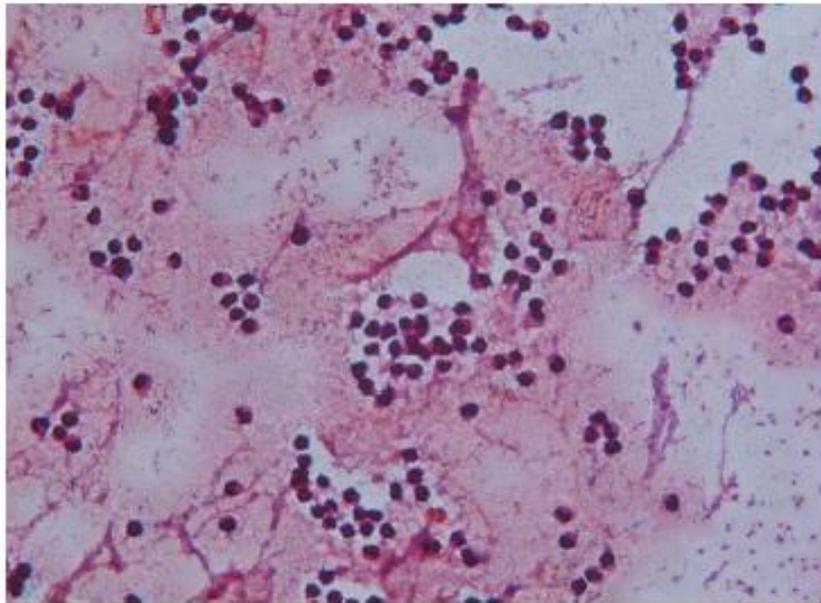
Campione idoneo per
microscopia e coltura



ESCREATO: Campioni non idonei

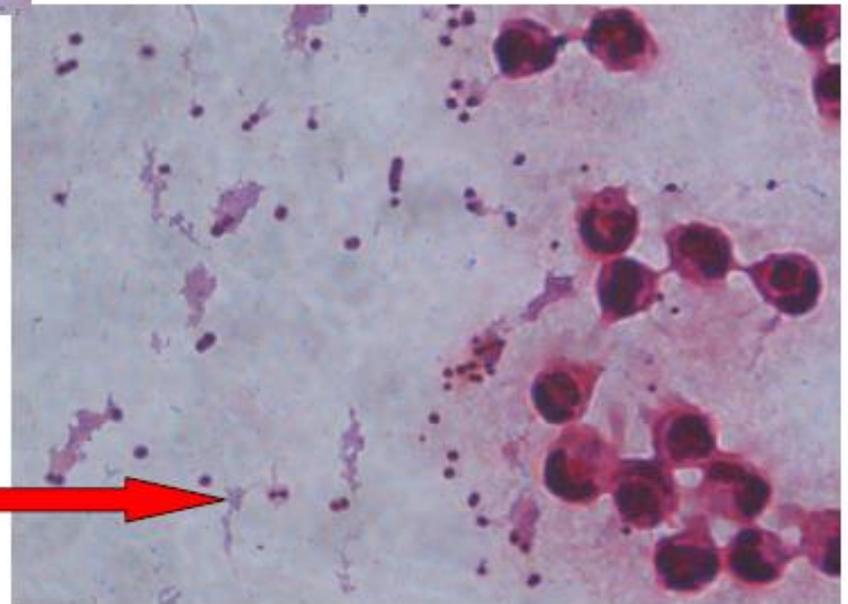
> 10 cell squamose/campo,
<25 PMN/campo





ESCREATO: Campioni idonei

Circa il 30-50% dei campioni di pz con CAP!!



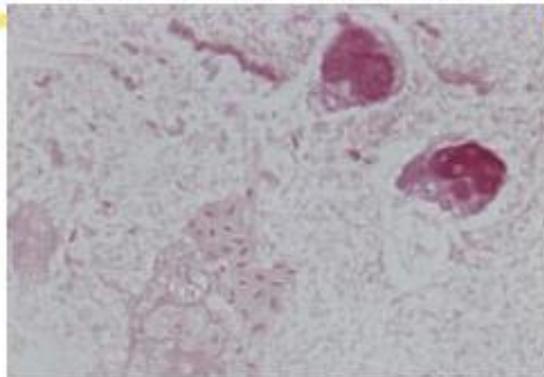
Morfotipi predominanti



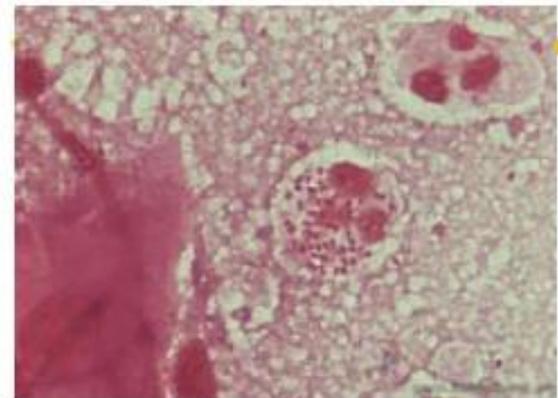
OSSERVAZIONE MICROSCOPICA del CAMPIONE RESPIRATORIO

- batteri extracellulari (+ → +++)
- batteri intracellulari (%)
- batteri: descrizione morfotipi

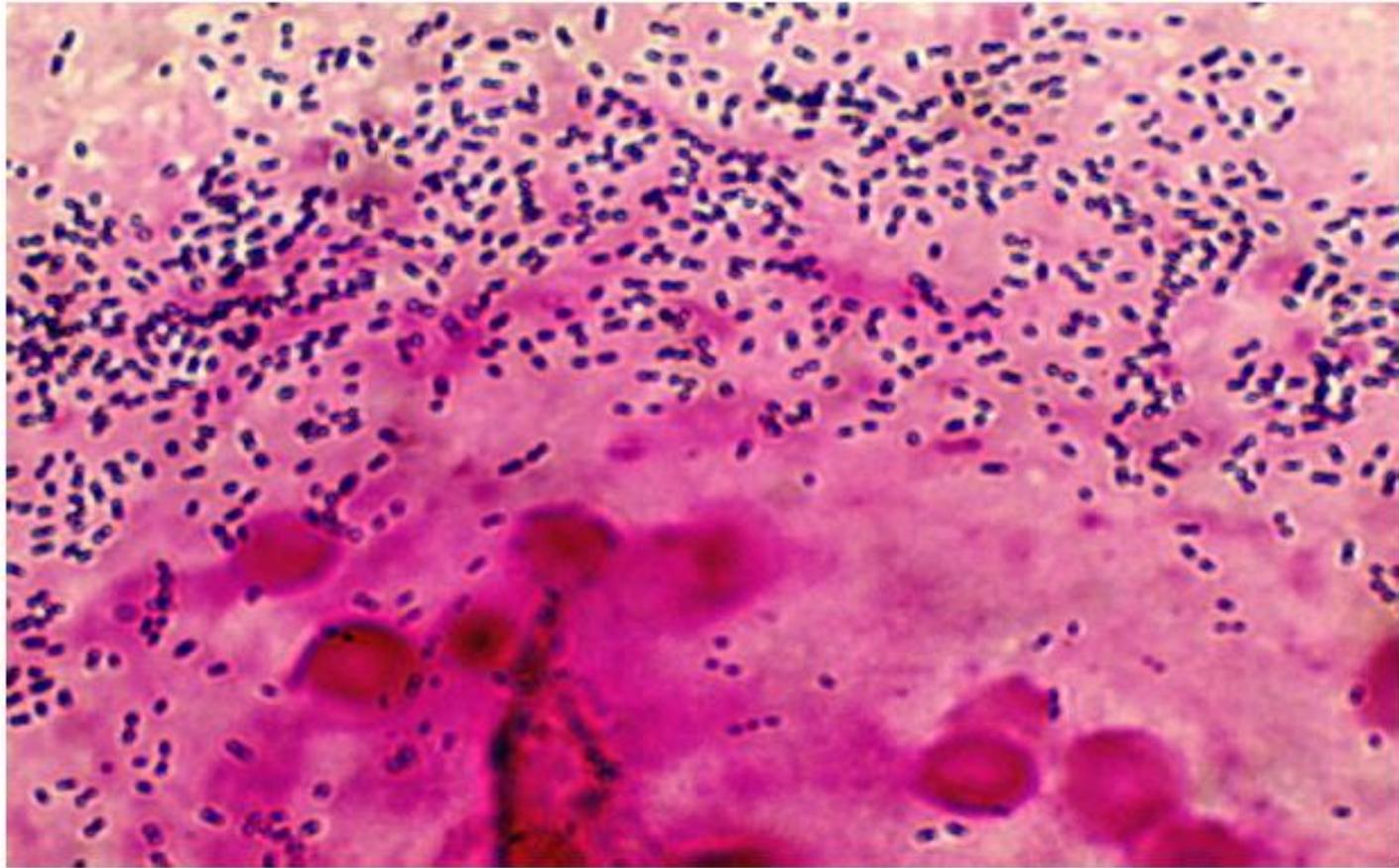
bacilli Gram - extracellulari



diplococchi Gram - intracellulari

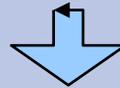


Cocco bacilli Gram + in citocentrifugato di broncoaspirato
in paziente con CAP da *S. pneumoniae*

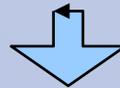


Esame colturale

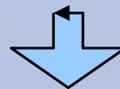
Esame microscopico



Materiale Biologico Idoneo



Esame Colturale



Isolamento batteri e
miceti non esigenti

Esame colturale dei materiali ottenuti con procedimenti non invasivi

spesso
non è specifico
nè sensibile

P
e
r

- l'eventuale precedente terapia antibiotica
- l'eventuale scarsa idoneità del campione
- difficoltà di interpretazione la presenza di flora delle alte vie che può includere eventuali patogeni (falsi positivi)
o coprire il vero patogeno (falsi negativi)

Metodi diretti

Esame colturale di materiali ottenuti con procedimenti invasivi

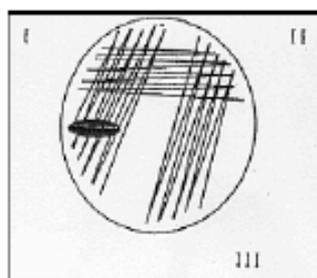
permette

di attribuire un significato eziologico ai
vari isolati se accompagnati da una
valutazione numerica

ESAME COLTURALE E QUANTIFICAZIONE DELLA CARICA MICROBICA

Piastre: COS-Sab-Mac Conkey- HAE2

Seminare 10 µl di escreato fluidificato per piastra secondo la tecnica delle "tre zone"



Carica semiquantitativa	I° quadrante	II° quadrante	III° quadrante	Carica CFU/ml	Significatività vs campione
+	>10	nc	nc	10^3	BAL mirato con cateterino PSB
++	>10	>10	nc	10^4	BAL
+++	>10	>10	<10	10^5	BASP
++++	>10	>10	>10	10^6	Campioni non protetti

- **SIGNIFICATO CLINICO DELLA PRESENZA DI CANDIDA spp. Nei CAMPIONI RESPIRATORI:**
- - MUCOSITE TRACHEOBRONCHIALE
- -FORME POLIVISCERALI O DISSEMINATE CON LOCALIZZAZIONI POLMONARI(ISTOLOGICAMENTE DOCUMENTATI)
- -MARCATORE INDICATIVO CHE IL PAZIENTE HA UNA POSSIBILITA' 1.58 VOLTE SUPERIORE DI SVILUPPARE UNA VAP E DI 2.22 VOLTE SUPERIORE DI AVERE UN'EZIOLOGIA DA PS.AERUGINOSA

Ricerca antigeni su materiali respiratori

VANTAGGI

rapidi

- Idonei per

Virus influenzali A e B

RSV

Adenovirus

Virus parainfluenza 1,2,3

HCMV

HSV1,HSV2

Legionella, Pneumococco

Rivelazione antigeni su urine

- Tests immunocromatografici

S. pneumoniae e

legionella pneumophila

SIEROTIPO 1

Vantaggi

- Rapidi
- semplici
- Positivi anche dopo l'inizio della terapia

S.pneumoniae

Antigene (polisaccaride parete)

Vantaggi

Specificità >90% < nei bambini portatori sani

Sensibilità 50-80%

Svantaggi

Cross-reattività con S.oralis e S.mitis

Non distingue infezione in atto da
infezione pregressa

Il valore diagnostico è maggiore se associato a
emocultura

Antigene urinario di legionella

Il test non rileva tutti i sierotipi

Vantaggi

Svantaggi

.Positività prolungata nel tempo

.Sensibilità 70-100%

.Specificità 100%

Diagnostica molecolare

Si basa

- Ricerca del DNA mediante amplificazione con metodica PCR
- Tecnologia microarray

Microarray

Rappresenta un potenziale interessante per il laboratorio di microbiologia

- Un DNA microarray (o DNA chip) è costituito da una collezione di microscopiche sonde di DNA attaccate ad una superficie solida.
Permette di
- Esaminare il profilo di espressione di un gene
- Di identificare un gene in una miscela di migliaia
- Sfrutta la tecnica di ibridazione inversa

Metodi sierologici

- Tests di immunofluorescenza
- Tests di FC
- Non sono utili per una diagnosi precoce
- Sono importanti a scopi epidemiologici
- Utili per la diagnosi di infezione dei patogeni atipici
- Necessitano di due campioni uno in fase acuta ed uno in fase di convalescenza (sieroconversione)
- Permette di valutare se infezione in atto o infezione pregressa

Diagnostica di alcune patologie

Polmonite da *C.pneumoniae*

- La *C.pneumoniae* è responsabile del 5%-15% delle polmoniti
- Raramente è necessario il ricovero (anziani con comorbidità, associata ad altri patogeni)
- La reinfezione è comune

Polmonite da *C.pneumoniae*

Diagnosi microbiologica difficile

- La chlamydia è difficilmente coltivabile
- La sierologia è problematica e non specifica

Nelle infezioni primarie le IgM possono impiegare anche 3 settimane a manifestarsi

Le IgG 8 settimane: la negatività non esclude la malattia

Nelle reinfezione le IgM rimangono costanti

Le IgG salgono rapidamente

- PCR con marchio CE e IVD

Recentemente è uscita Real time PCR solo qualitativa

Viene eseguita su materiale respiratorio

É specifica per la specie

Polmonite da *M.pneumoniae*

Il *Mycoplasma* è responsabile del 10%-20% delle polmoniti nei giovani adulti

Diagnosi

- Esame colturale (troppo lento)
- Tests sierologici

Le agglut a freddo >1.64 supportano la diagnosi ma sono poco specifiche

La reazione di FC rileva le IgM se il prelievo è precoce

- PCR con marchio CE e IVD

Legionellosi

Diagnosi di laboratorio

metodiche utilizzate:

- esame colturale *
- rilevazione dell'antigene urinario
- test di immunofluorescenza diretta *
- rilevazione di anticorpi
- ibridizzazione degli acidi nucleici *

Esame colturale

Rappresenta il gold standard per la diagnosi

(per un risultato positivo occorrono da 3 a 5 giorni)

Materiali idonei

sputo *

campioni broncoscopici

.Terreni idonei

BCYE (buffered charcoal yeast extract)

BCYE con antibiotico



Esame colturale

Fattori che influenzano la sensibilità

- Scarsa sopravvivenza nelle secrezioni
- Produzione scarsa di secrezioni

Esame colturale

- E' importante per

Confermare i risultati positivi dell'antigenemia

Individuare infezioni sostenute da specie e sierogruppi diversi da sier 1

Identificazione

Vengono valutate le seguenti caratteristiche

Capacità di crescita su BCYE

Morfologia tipica delle colonie

Capacità di reagire con antisieri specifici fluorescenti e non

Test di ibridizzazione del DNA

Ricerca dell'antigene urinario

un metodo rapido che produce una diagnosi precoce (1 giorno dopo l'insorgenza dei sintomi , può permanere per mesi)

L'atg è un componente della frazione polisaccaridica della parete

Metodiche

RIA

EIA (per più sierogruppi)

Immunocromatografiche

(solo per legionella p. sier 1)

E' un esame ritenuto sufficiente a fornire un criterio microbiologico di certezza nella definizione di caso

Antigene urinario

Data la sua possibile permanenza protratta nelle urine può risultare difficile la distinzione tra

- infezione acuta
- fase di convalescenza
- infezione pregressa

Antigene urinario

- Test immunocromatografico (BIOTEST)

Sensibilità 70-100 % (dopo centrifugazione aumenta)

Specificità 100 %

Vantaggi semplicità
 rapidità

Svantaggi rileva solo la presenza di Lp 1

Immunofluorescenza diretta

Questa tecnica che utilizza anticorpi fluorescenti specifici messi a contatto con frammenti di tessuto polmonare o secrezioni respiratorie permette di

- di rilevare la presenza di legionelle nei materiali respiratori
- di identificare eventuali colonie sviluppatesi su terreni selettivi per legionella

Immunofluorescenza diretta

- Permette di evidenziare le legionelle anche dopo alcuni giorni dall'inizio della terapia antibiotica
- E' possibile identificare *L.pneumophila* (sensibilità da 25 a 75% specificità sup a 95%)
- *L. non pneumophila* (specificità e sensibilità di questi reagenti non è stata ancora ben valutata)



Diagnosi sierologica

La rilevazione di anticorpi specifici (IgG, IgM, IgA) può essere fatta con varie metodiche

- Immunofluorescenza indiretta
- Metodi immunoenzimatici
- Metodi di microagglutinazione

E' utile per una diagnosi retrospettiva

(E' significativo un aumento del titolo di almeno 4 volte)

PCR

Produce :

- Diagnosi rapida
- Rileva la presenza di varie specie e sierogruppi di legionella
- E' applicabile a campioni ambientali
- Ha una sensibilità simile all'esame colturale

Sindrome polmonare da hantavirus

- Malattia sistemica frequentemente letale

Diagnosi

- Sierologica

Rilevazione IgM specifiche
IgG specifiche in aumento

- PCR

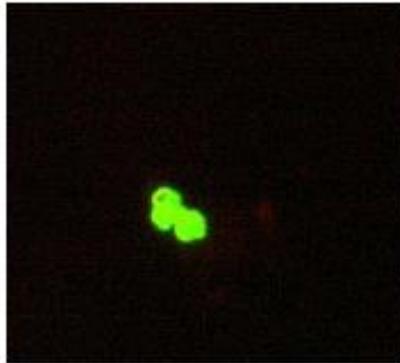
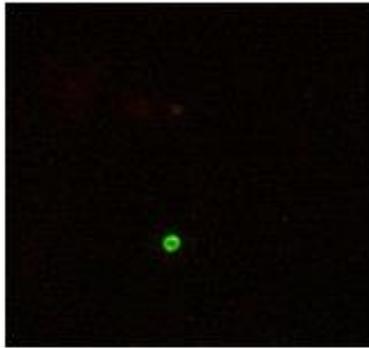
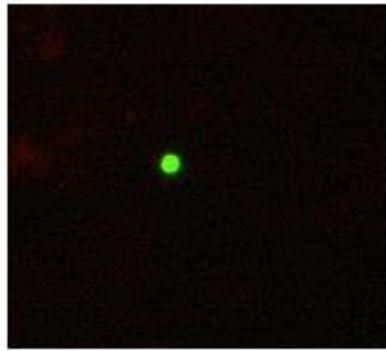
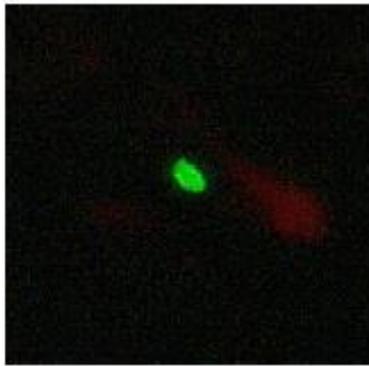
Rilevazione RNA specifico nei campioni clinici

Polmonite da P.JIROVECII

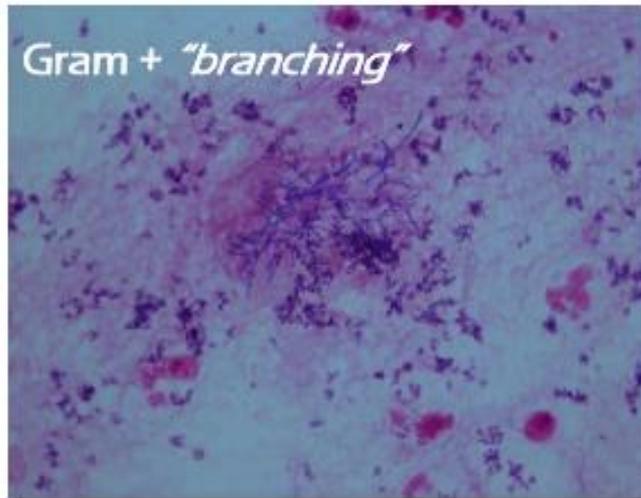
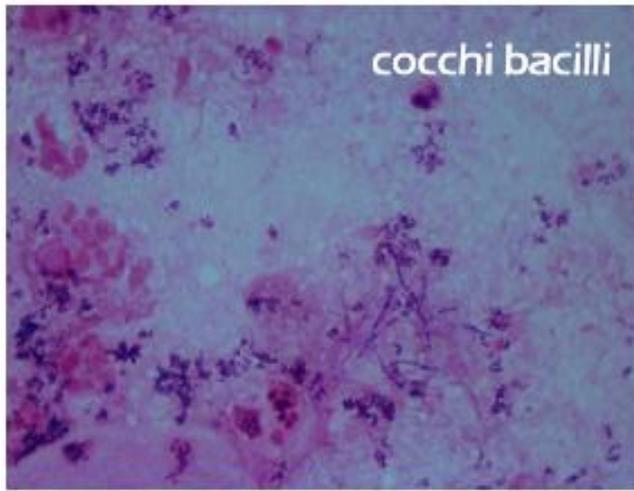
In pazienti con deficit dell'immunità cellulo-
mediata

diagnosi immunofluorescenza diretta sul BAL

PCR



Pneumocystis carinii in BAL
di un soggetto immunocompromesso HIV +



***Nocardia asteroides* in escreato
di un soggetto immunocompromesso**

Aspergillosi polmonare

- Diagnosi
- es. microscopico diretto non specifico
- Rilevazione del galattomannano su siero

-La positività può precedere di 5-8 gg i sintomi clinici

-Il test dovrebbe essere usato come screening

-La rilevazione di risultati positivi in due campioni successivi supporta la diagnosi

-Può essere usato come follow up della risposta clinica alla terapia

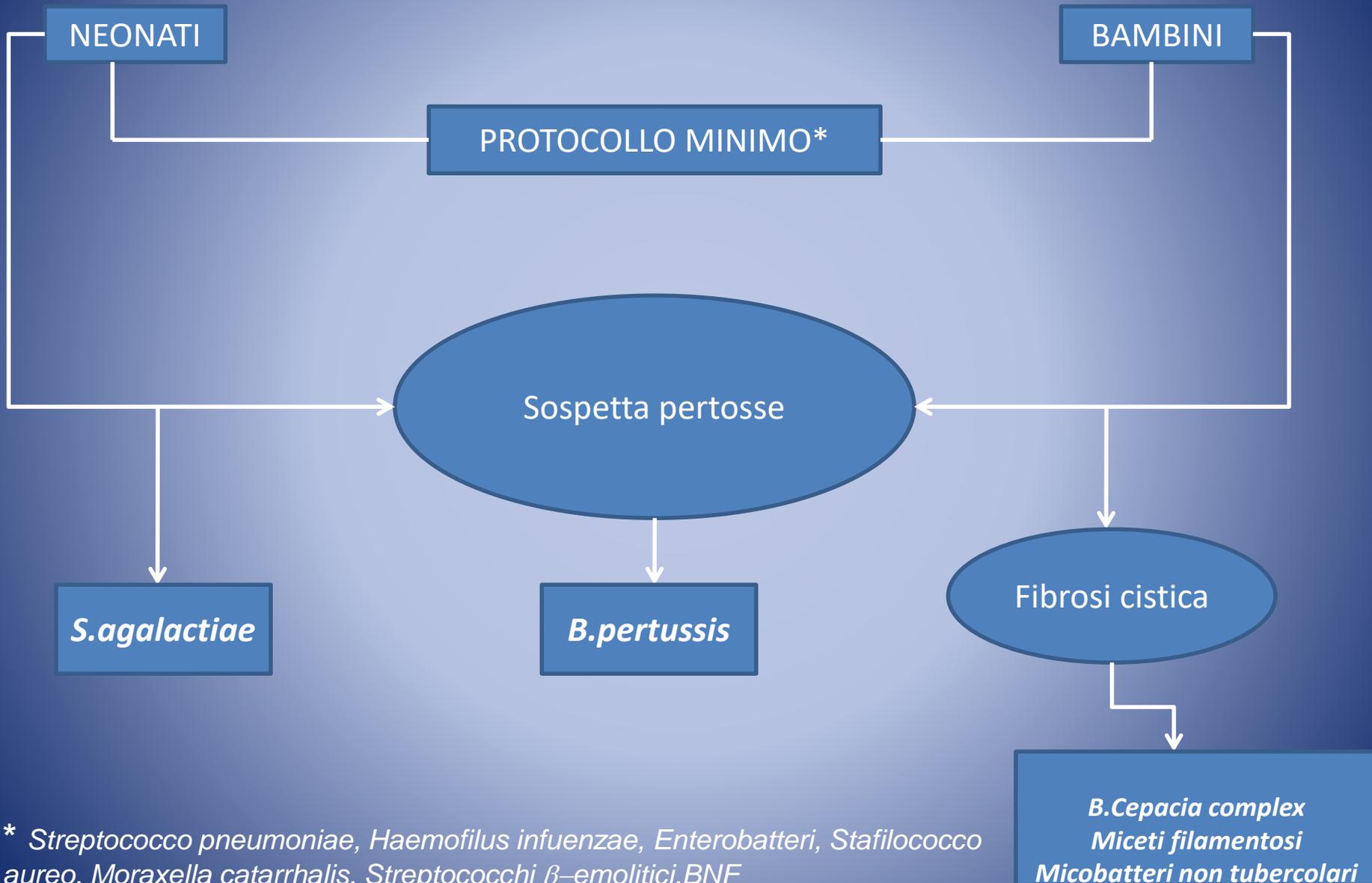
-Il titolo diminuisce in caso di risposta clinica eccetto che per i paz. In terapia con echinocandine

Sensibilità 80%

Specificità 89,2%

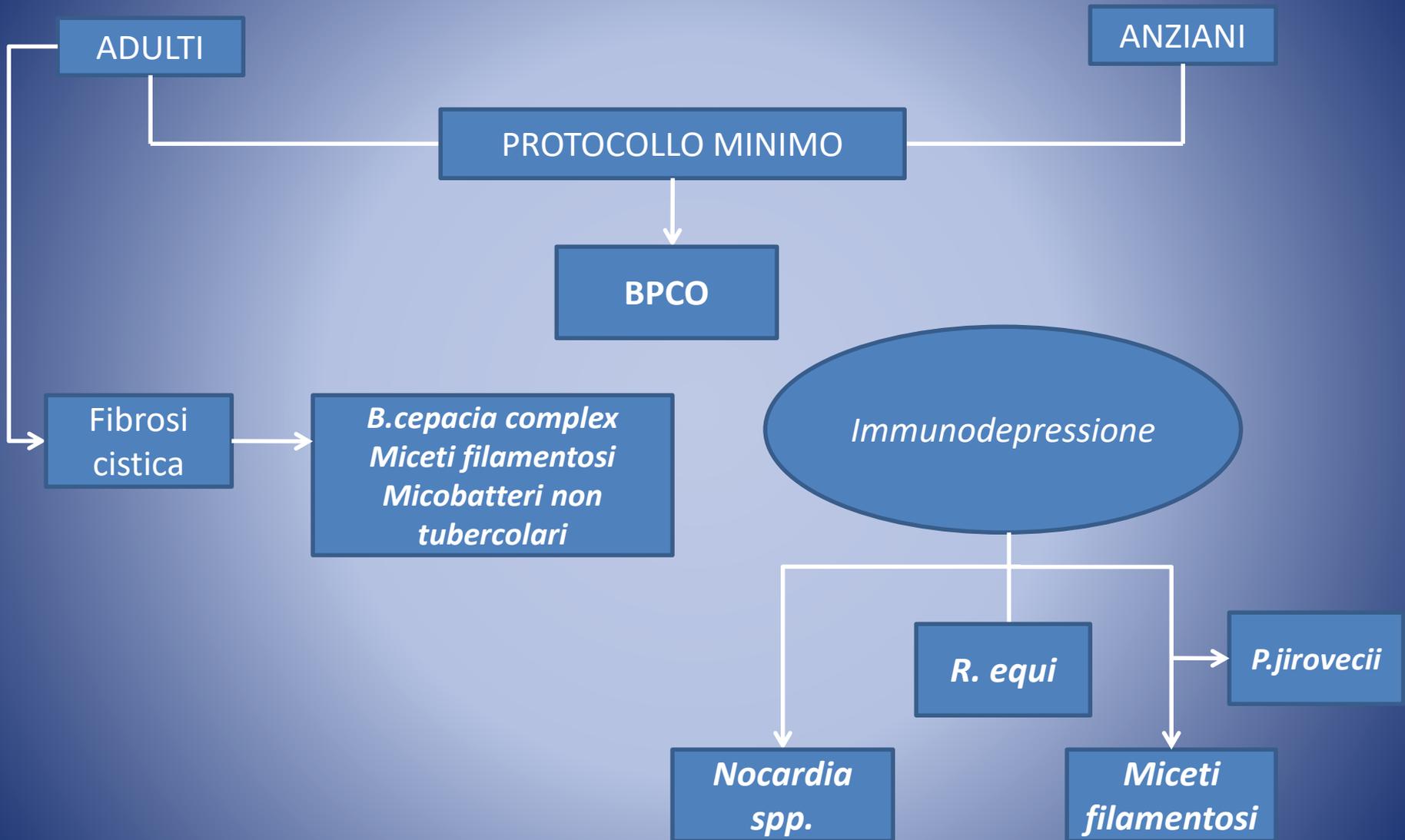
- PCR

Diagnosi eziologica di polmoniti (esami colturali)
In neonati e bambini



* *Streptococco pneumoniae*, *Haemofilus influenzae*, *Enterobatteri*, *Stafilococco aureo*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococchi β-emolitici*, *BNF*

Diagnosi eziologica di polmoniti(esami colturali)
In adulti e anziani



Diagnosi eziologica delle polmoniti

Nel viaggiatore internazionale e nel soggetto esposto a contatto con animali
(esami colturali
indagini sierologiche)



Diagnosi eziologica - polmoniti

Emocoltura

Urine

Aspirato rino-
faringeo

Coltura materiale
respiratorio

Siero

Da effettuare
di *routine*
2-3 set ad intervallo 5-15'

Ag. *Legionella*/
Ag *S.pneumoniae*
da effettuare
di *routine*

Ricerca Antigeni
RSV-Adenovirus:
da riservare a
casi particolari

Da effettuare
di *routine* per i
casi di HAP.
Da riservare
ad altri casi
particolari

Ricerca
Anticorpi: da
riservare a
casi
particolari

Flow Chart
1

Flow Chart
2

Flow Chart
3

Flow Chart 1: aspirato rino-faringeo

Tampone nasale o faringeo

Indicazione:

in tutti i casi di:

- * soggetti ospedalizzati per bronchiolite
- * soggetti con Fibrosi Cistica
- * soggetti di età < 2 anni
- * soggetti provenienti da RSA

numero campioni: 1

*prelievo: con tampone floccato

Entro 3 gg.dall'esordio sintomatologico e non oltre la 5° giornata di malattia

Ricerca: Antigeni di RSV/ Adenovirus

* tecnica: EIA

NEGATIVO

POSITIVO

NEGATIVO

Referto
definitivo

POSITIVO

Referto
definitivo
commentato

Inviare a Centro di Referenza

Indicazione:

- *Se Ag RSV / Adenovirus NEG
- *se soggetti di età < 2 anni
- Ricerca: Metapneumo-, Echo-, Parainfluenza-virus,
- *tecnica: IF
- *conferma: Biologia Molecolare

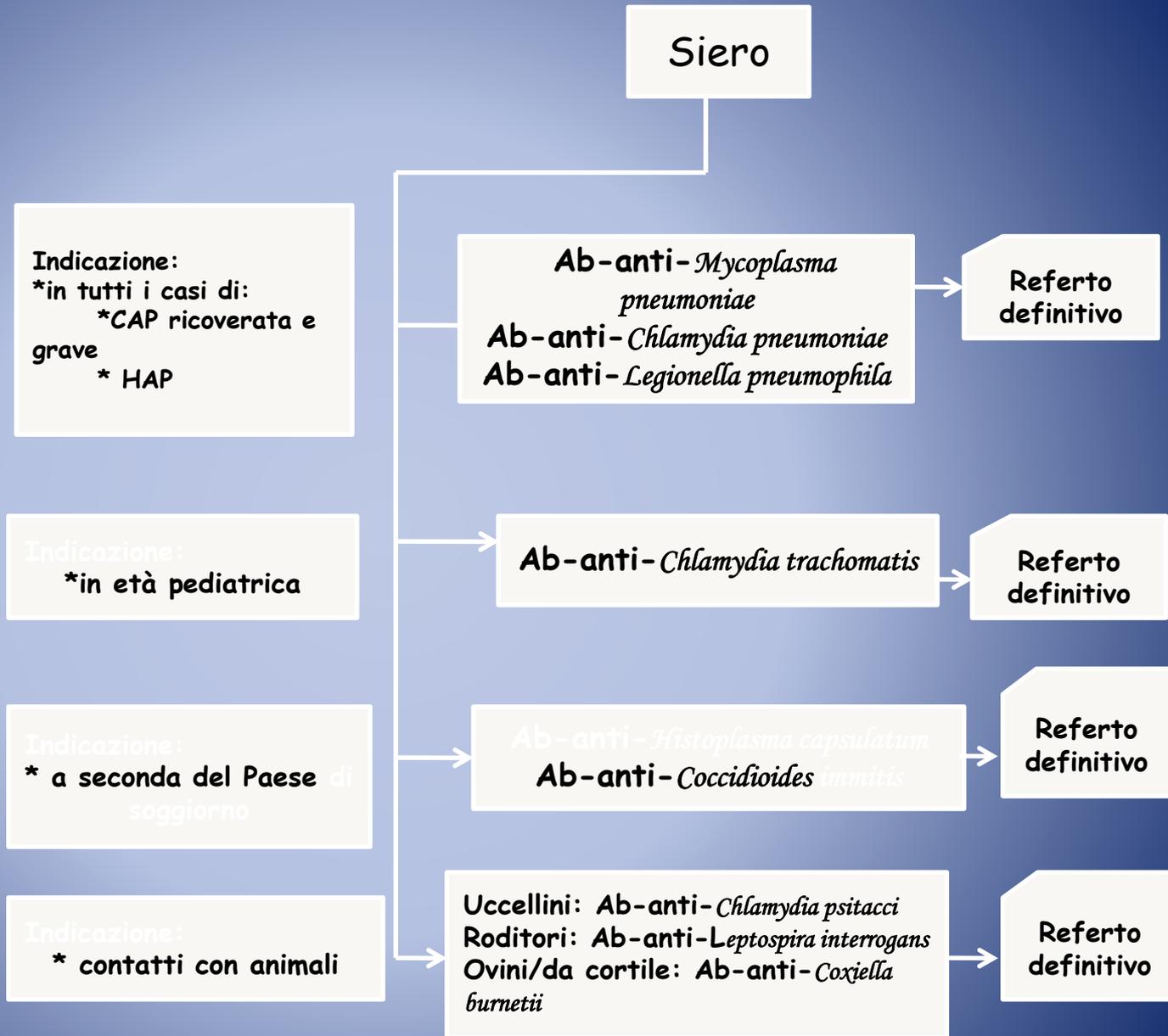
Indicazione:

- *se Ag RSV / Adenovirus NEG
- *se periodo epidemico (influenza)
- Ricerca: Influenza-virus
- *tecnica: EIA
- *conferma: Biologia Molecolare

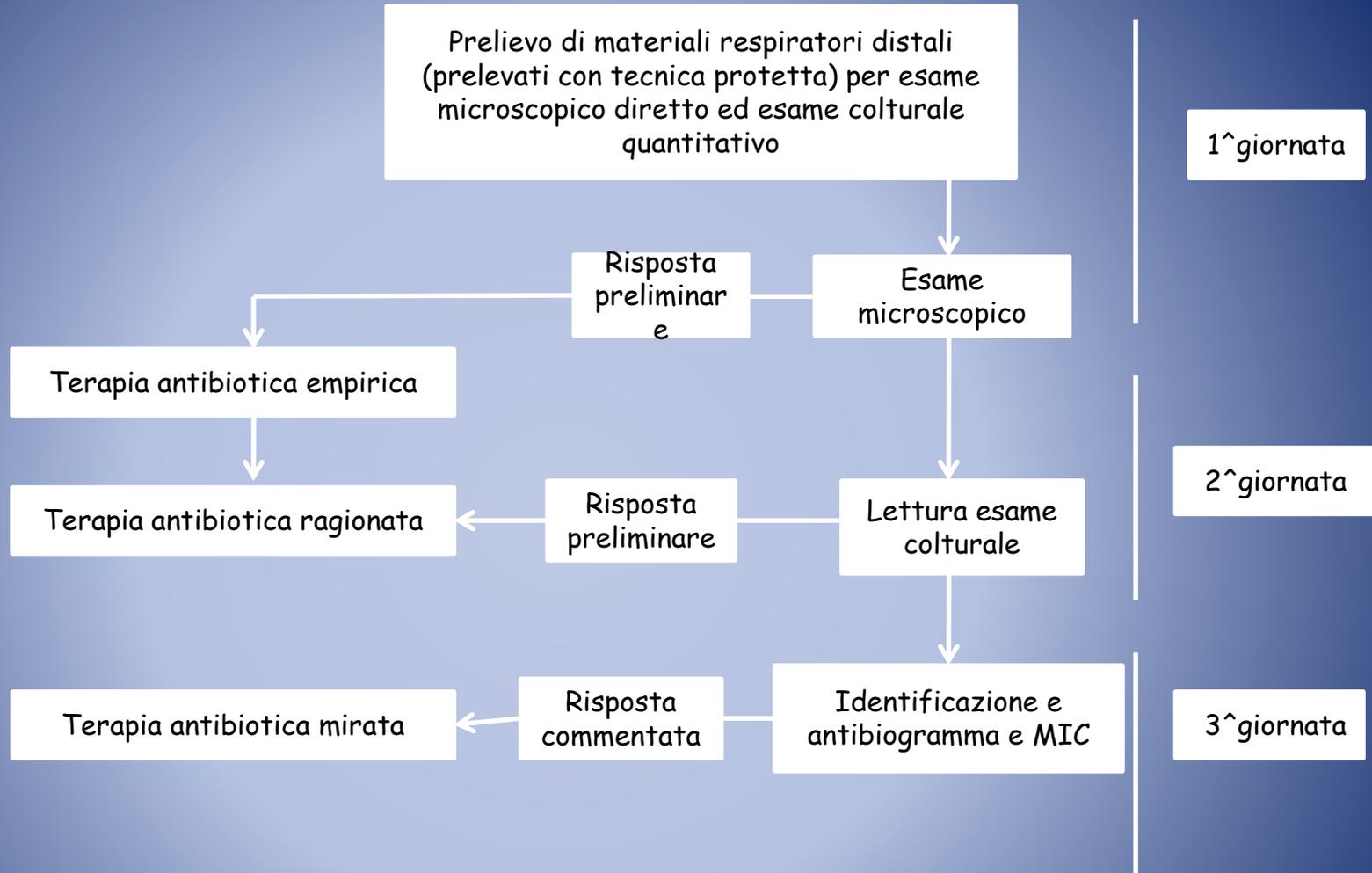
Indicazione:

- *se sospetta pertosse
- Ricerca: *Bordetella pertussis*
- *tecnica: coltura
- *terreno: Bordet Gengou Agar
- *incubazione: 35-37° C in CO2 (5-10%) per 7 giorni

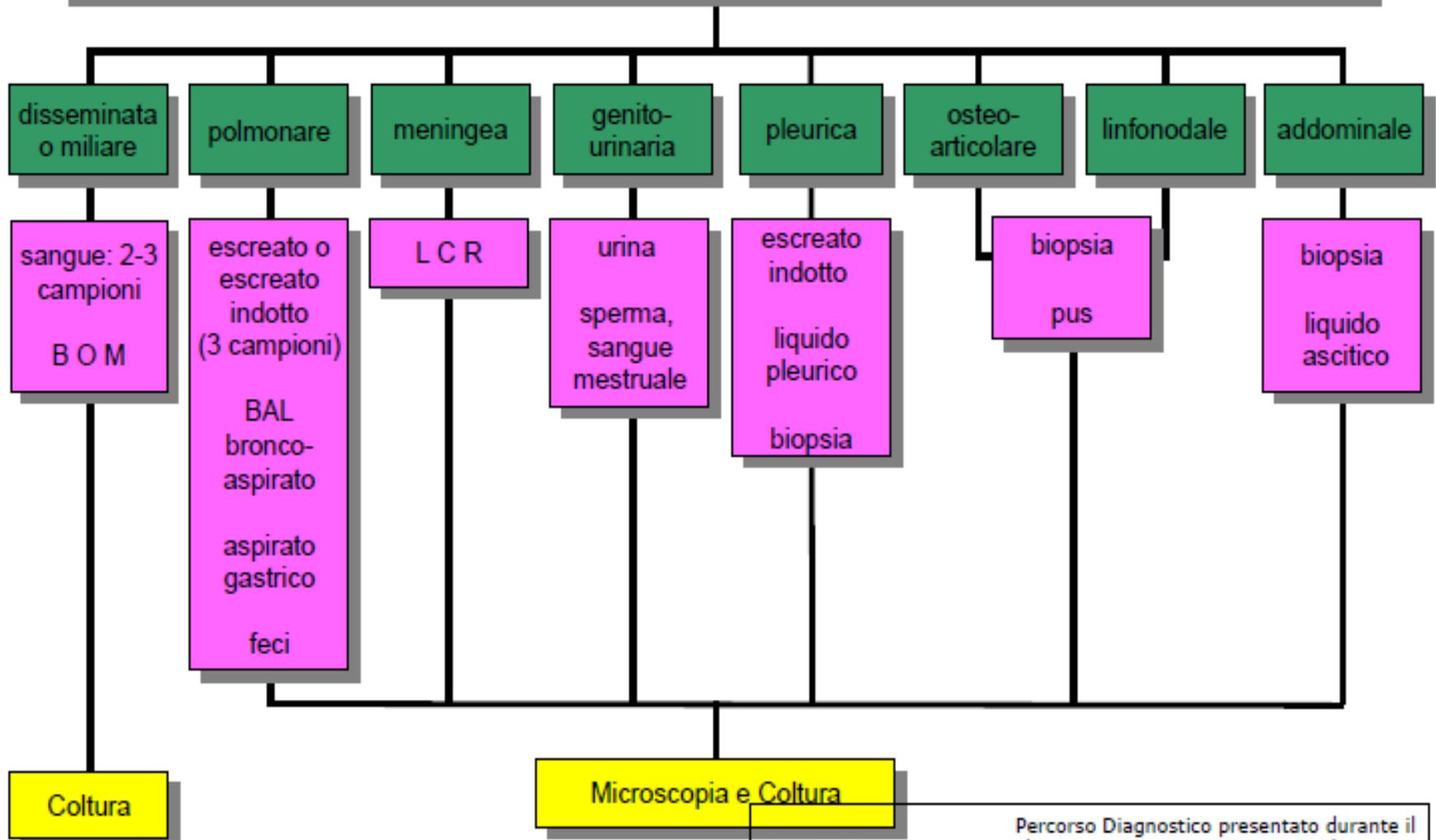
Flow Chart 3: siero



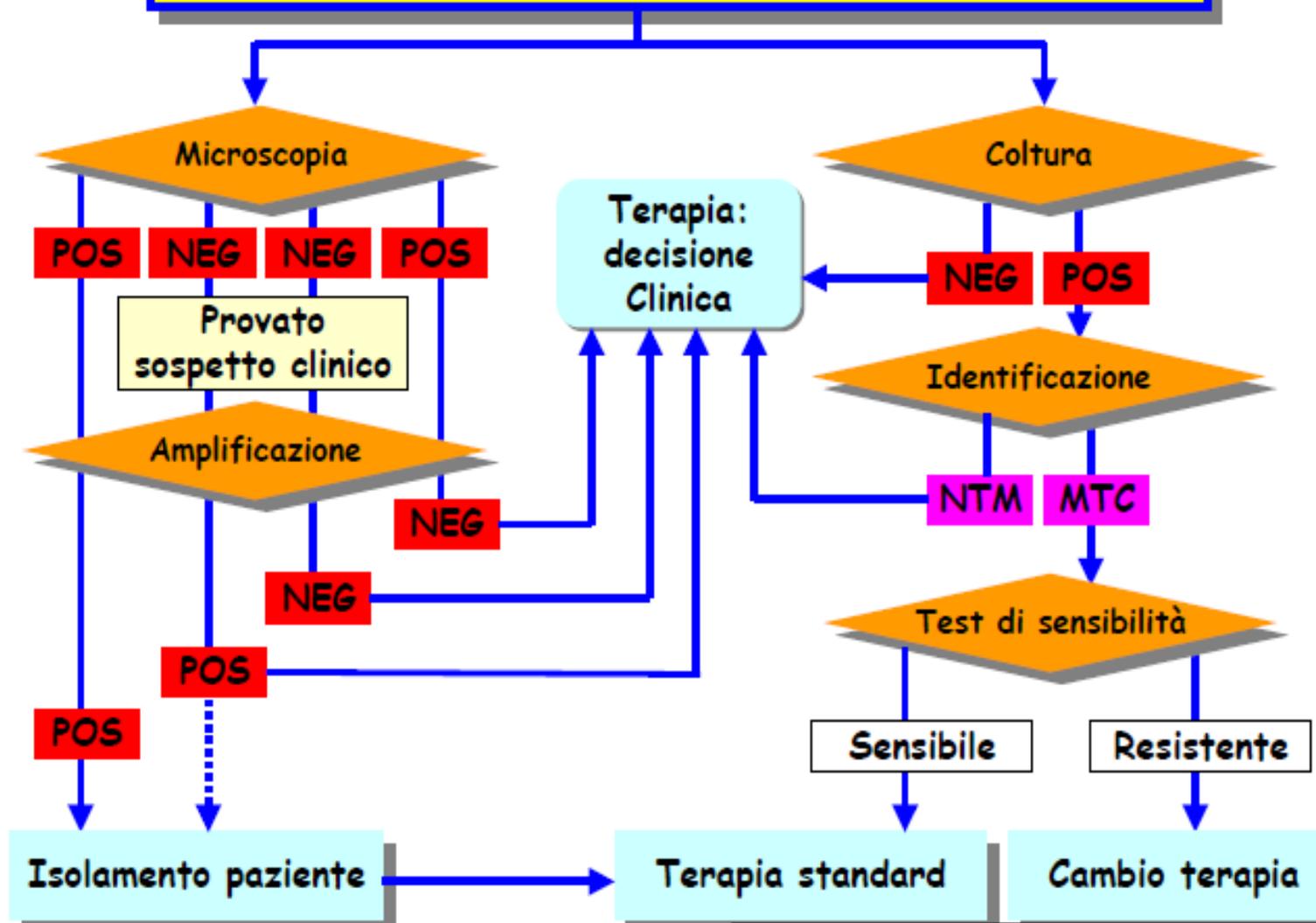
Algoritmo per la gestione delle polmoniti ospedalizzate su base microbiologica



Sospetto di tubercolosi o micobatteriosi con localizzazione . . .

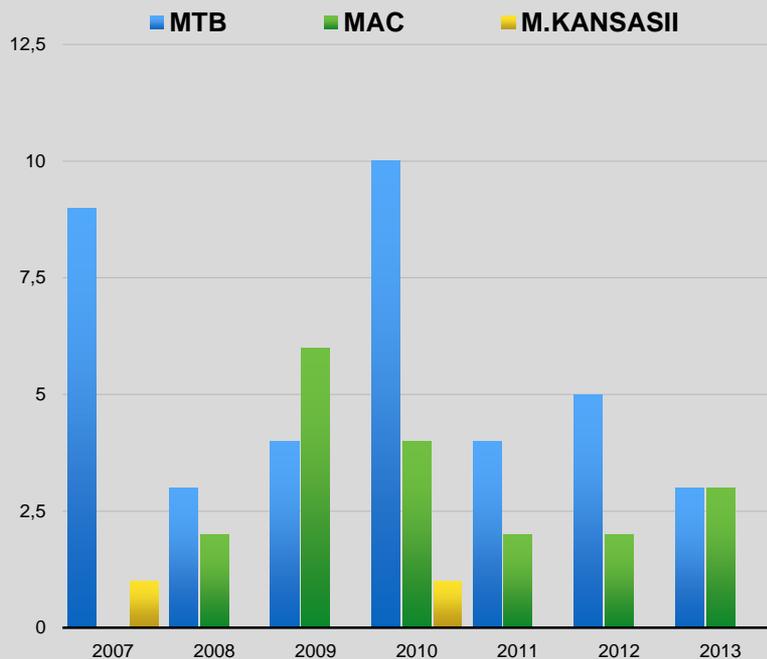


Diagnosi microbiologica di tubercolosi

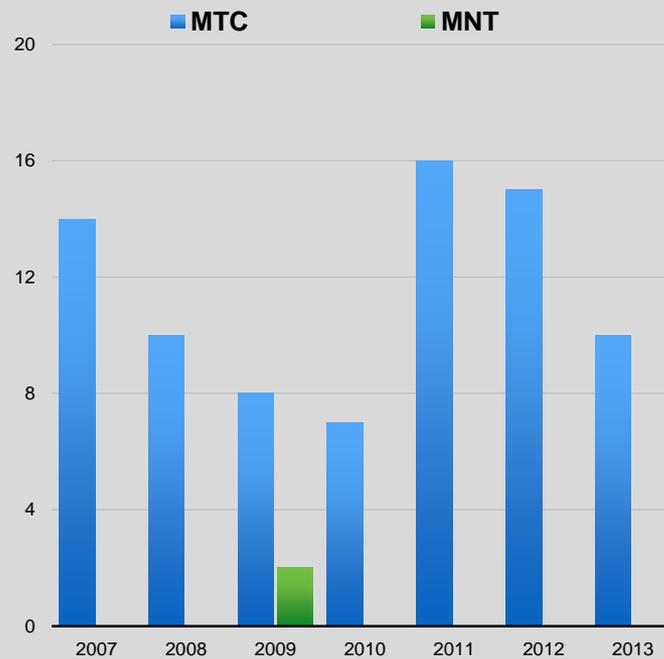


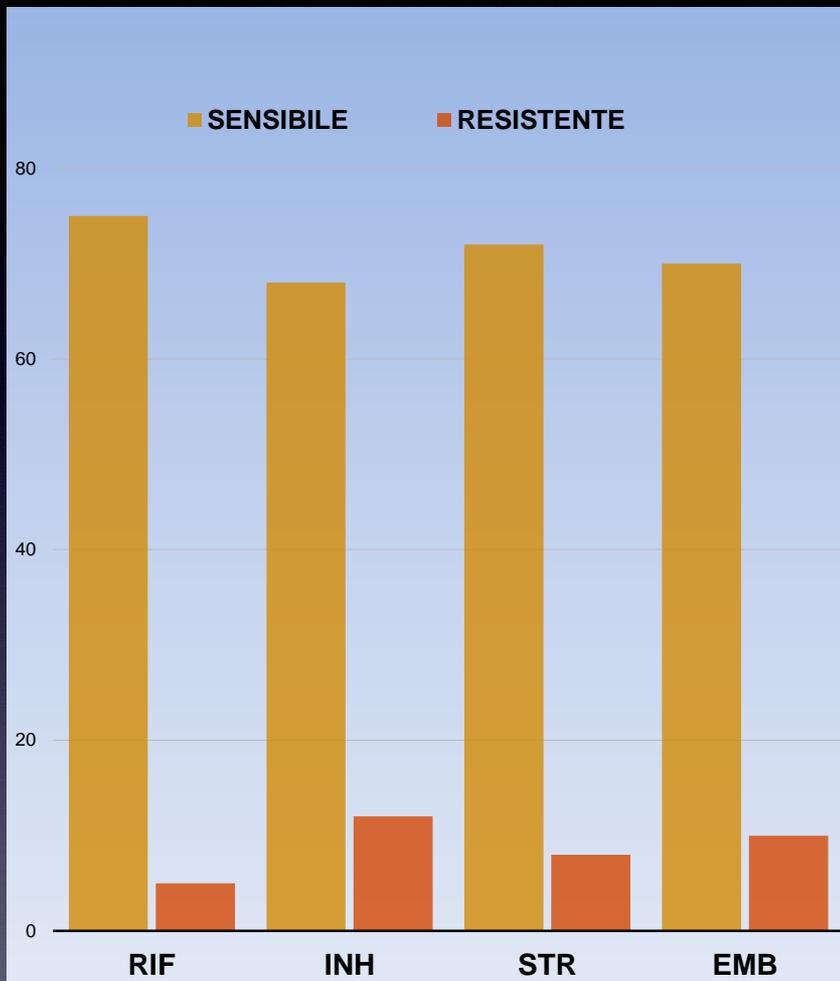
Percorso Diagnostico presentato durante il
XXXVIII Congresso Nazionale AMCLI - Rimini, 17-20 novembre 2009

**CASI TBC E MICOBATTERIOSI PZ.
ITALIANI(2007-2013)**

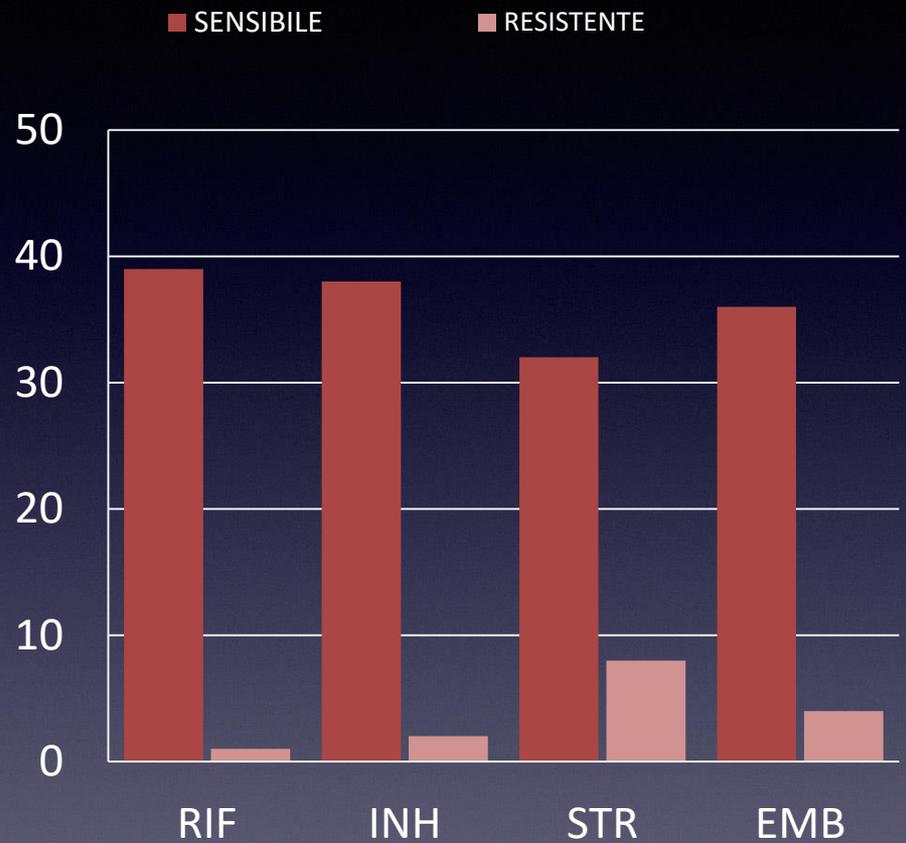


**CASI TBC E MICOBATTERIOSI PZ.
STRANIERI(2007-2013)**





TEST DI SENSIBILITA' MTC IN PZ.ITALIANI



Confronto test di sensibilita' di M.tuberculosis complex tra pz. stranieri e italiani

**IL LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA PER LA DIAGNOSI DI
POLMONITE VIRALE ESEGUE LA RICERCA DEI VIRUS INFLUENZALI
SU TAMPONE NASOFARINGEO MEDIANTE IMMUNOFLUORESCENZA
DIRETTA**

**PER LA RICERCA MICOBATTERI NEI CAMPIONI CLINICI VIENE
ESGUITA TEST DI AMPLIFICAZIONE GENICA , ESAME COLTURALE IN
TERRENO LIQUIDO E SOLIDO ESAME MICROSCOPICO IN
FLUORESCENZA , IDENTIFICAZIONE DI MICOBATTERI NON
TUBERCOLARI CON SONDE GENICHE E TEST DI SENSIBILITÀ AI
FARMICI DI PRIMA LINEA SU ISOLATI MTC.**

**ESEGUIRA' LA RICERCA DI GALATTOMANNANO SU SIERO E BAL
PER LA DIAGNOSI DI ASPERGILLOSI**

**RICERCA DI PNEUMOCISTI JIROVECII SU BAL CON METODO IF
TEST DI AMPLIFICAZIONE GENICA PER MTC E CONTEMPORANEA
RILEVAZIONE DI RESISTENZA AI FARMACI ISONIAZIDE E
RIFAMPICINA E TEST DI SENSIBILITA' PER MTC A CINQUE FARMACI
CON SISTEMA AUTOMATICO**

**IL LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA DAL 2008 PARTECIPA AD UN
PROGRAMMA DI VEQ EUROPEA(INSTAND e.v.) PER OGNI ASPETTO
DELLA DIAGNOSTICA EROGATA**



GRAZIE