

ASP 7 RAGUSA

MANUALE DEI PRELIEVI

U.O.C. PATOLOGIA CLINICA E MICROBIOLOGIA

OSPEDALE CIVILE RAGUSA

DIRETTORE: R.M.GIORDANO

RESPONSABILE SERVIZIO MICROBIOLOGIA : M.TERESA ALLU' (TEL. int. 2148/0932600148)

MODALITA' DI PRELIEVO , RACCOLTA ED INVIO DEI CAMPIONI MICROBIOLOGICI

CONSIDERAZIONI GENERALI

La finalita' delle indagini microbiologiche e' quella di cercare gli agenti responsabili dei processi infettivi, identificarli e determinare la sensibilita' agli antibiotici.

Per raggiungere questo obiettivo e' necessario disporre di campioni biologici che possono garantire la sopravvivenza e l'isolamento dei microrganismi patogeni, al fine di fornire al clinico risultati attendibili e non inutili o dannosi per il paziente. Cio' sara' possibile solo se i campioni saranno prelevati correttamente .

Lo scopo di questo manuale e' quello di fornire le informazioni necessarie per una corretta modalita' di raccolta, trasporto e conservazione dei campioni microbiologici.

CRITERI GENERALI PER UN CORRETTO PRELIEVO DEL CAMPIONE

- 1)Eeguire la raccolta del campione **prima dell'inizio della terapia antibiotica**
- 2)Eeguire sterilmente la raccolta nella **sede anatomica** del processo infettivo
- 3)Evitare ogni contaminazione esogena o endogena del campione :
 - a. *contaminazione endogena* : flora residente del distretto corporeo
 - b. *contaminazione esogena* : batteri normalmente presenti nell'ambiente
- 4) Trasportare in laboratorio rispettando i tempi e le condizioni richieste per i singoli materiali.
- 5)Identificare il campione
- 6) Fornire notizie cliniche

CAMPIONI NON IDONEI

Il mancato rispetto dei criteri di raccolta , trasporto e/o conservazione , comportera' una “ Non conformita'” della fase preanalitica che il laboratorio provvedera' a comunicare al mittente.

TEMPI DI REFERTAZIONE

I tempi stabiliti sono indicativi , in quanto possono verificarsi condizioni particolari (ripetere esami, colture miste, test aggiuntivi) da ritardare i tempi di refertazione.

EMOCOLTURE

L' Emocoltura permette di confermare il sospetto clinico di sepsi di isolare l'agente eziologico e studiare lo spettro di sensibilita' agli antibiotici.

Il Risultato Ottimale di questo esame dipende da molteplici

fattori fra cui principalmente :

- 1) IL volume del campione ;
- 2) Il momento del prelievo;
- 3) L'intervallo ed il numero dei prelievi ;
- 4) L' accuratezza del prelievo (il metodo di disinfezione della cute) ;
- 5) Le caratteristiche del mezzo di coltura ;
- 6) La capacita' del sistema analitico di evidenziare lo sviluppo batterico ;
- 7) L'interpretazione del risultato (patogeni vs contaminanti)

Deve esserci un rapporto ottimale fra volume del campione e volume del brodo di coltura :

-nell'**adulto** la quantita' di sangue e' di **10 ml per set** di prelievo (5ml nel flacone per aerobi e 5 ml nel flacone per anaerobi)

-in **eta' pediatrica** si prelevano da 1-3 ml di sangue per set di prelievo

EMOCOLTURA

Momento del prelievo

Non è necessario attendere la comparsa dei brividi o del picco febbrile

Prima della terapia antibiotica
Almeno un'ora dopo il termine dell'infusione dell'antibiotico

Prima della nuova somministrazione di antibiotico

Prelevare i due set di emocoltura simultaneamente o entro breve intervallo



Selezionare il sito per la puntura

Pulire l'area cutanea identificata (circa 5 cm di diametro)

Asciugare l'area cutanea pulita, lasciare asciugare.

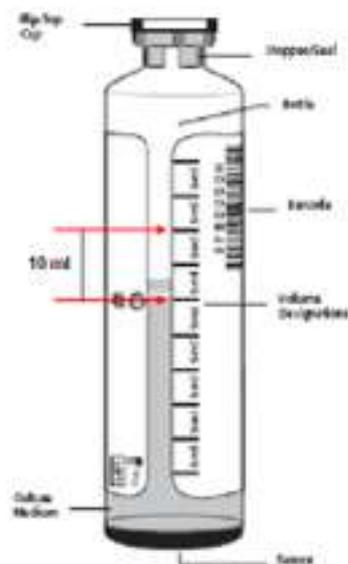
!!! Non toccare l'area / palpare la vena dove è stata applicata la soluzione antibiotica, se necessario indossare guanti sterili



Brodi BacT/ALERT
addizionati di resine
per catturare eventuali
antibiotici
La diluizione del
campione 1:5 o 1:10 è
in grado di diluire 5-10
volte l'antibiotico



IN SINTESI



- Togliere il coperchio di plastica dai flaconi e disinfettare la membrana di gomma (**NO composti iodati**)
- Asepsi della cute; rispettando i tempi di azione dei disinfettanti
- Se si usa una linea ematica inoculare prima il flacone aerobio
IMPORTANTE!
- Non riempire troppo i flaconi. Questo può produrre falsi positivi
- La depressione all'interno del flacone non è calibrata
- Per controllare il volume di sangue da inoculare segnare, sulla scala riportata sull'etichetta, il livello da raggiungere
- Quando si appone l'etichetta (**in verticale**) che identifica il paziente, non coprire completamente il codice a barre del flacone.

Quanti e quali prelievi eseguire?

**PAZIENTE CON FEBBRE AD
ANDAMENTO CONTINUO** con sospetto
di sepsi, endocardite
meningite, polmonite

**3 SET DI EMOCOLTURE DA VP
(Vena Periferica) NELL'ARCO DI 60
MINUTI**

**PAZIENTE CON FEBBRE
AD ANDAMENTO CONTINUO**
Ed antibiotico terapia già in corso

**2 SET DI EMOCOLTURE DA VP NELL'ARCO DI
60 MINUTI DA RIPETERE PER 2 GIORNI
CONSECUTIVI LONTANO DALLA
SOMMINISTRAZIONE DELL'ANTIBIOTICO**

**PAZIENTE CON FEBBRE
INTERMITTENTE O REMITTENTE e
BRIVIDO**

**3 SET DI EMOCOLTURE DA VP NELL'ARCO
DI 60 MINUTI APPENA PRIMA DEL RIALZO
TERMICO O ALL'INIZIO DEL BRIVIDO**

**PAZIENTE CON FEBBRE
AD ANDAMENTO CONTINUO**
Portatore di CVC da almeno 48 h con
sospetto di Sepsis correlata al CVC

**1 SET DI EMOCOLTURE DA CVC + 1 SET di
EMOCOLTURE DA VP prelevate
contemporaneamente;**

**a distanza di 1 h 1 SET DI EMOCOLTURE
PRELEVATE DA VP**

Punti fondamentali da ricordare :

- per SET si intende un flacone per AEROBI (tappo verde) e un flacone per ANAEROBI (tappo arancione)
- rispetto rigoroso delle procedure di asepsi nella procedura di prelievo come riportato nel "Manuale di Modalità di Prelievo"
- effettuare l'emocoltura immediatamente prima della somministrazione della terapia antibiotica
- prelevare una quantità corretta di sangue per flacone (8 - 10 ml) . Attenzione: i flaconi non sono tarati. Bisogna controllare il volume di sangue tenendo il flacone in posizione verticale.

BATTERIEMIE CVC CORRELATE

- METODI COLTURALI
- A) TECNICHE CHE PREVEDONO LA RIMOZIONE DEL CATETERE
(COLTURA DEL CVC)
- B) TECNICHE CHE NON PREVEDONO LA RIMOZIONE DEL CATETERE (DOPPIA EMOCOLTURA)

- PER UNA CORRETTA DIAGNOSI MICROBIOLOGICA ALLA COLTURA DEL CVC VANNO ASSOCIATI DUE SET DI PRELIEVI PER EMOCOLTURA DA VENA PERIFERICA

- INTERPRETAZIONE DEL RISULTATO

- 1 O 2 SET DI EMOCOLTURA + COLTURA DEL CVC POSITIVI PER LO STESSO MICRORGANISMO (ID e ABG):
• PROBABILE INFEZIONE CATETERE-CORRELATA
- 2 SET DI EMOCOLTURA NEGATIVI E COLTURA DEL CVC POSITIVA: PROBABILE COLONIZZAZIONE DEL CATETERE
- 2 SET DI EMOCOLTURA E COLTURA DEL CVC NEGATIVI: IMPROBABILE INFEZIONE CVC CORRELATA

TECNICA DELLA DOPPIA EMOCOLTURA

- NON PREVEDE LA RIMOZIONE DEL CATETERE
- INVIO DI 2 SET DI CAMPIONI DI SANGUE PER EMOCOLTURA, PRELEVATI NELLO STESSO MOMENTO, 1 DAL CVC E 1 DALLA VENA PERIFERICA
- PER MIGLIORARE LA SENSIBILITA', DOPO 45-60' DAL PRIMO PRELIEVO E' OPPORTUNO INVIARE ALTRI 2 SET DI CAMPIONI PER EMOCOLTURA (1 DA VENA PERIFERICA ED 1 DA CVC)
- INTERPRETAZIONE DEL RISULTATO
- SET DI EMOCOLTURA POSITIVI PER LO STESSO MICRORGANISMO (ID e ABG) DA CVC E DA VENA PERIFERICA:
• PROBABILE INFEZIONE CATETERE-CORRELATA (VPP: 60-70%)
- SET DI EMOCOLTURA DA CVC POSITIVO CON SET DA VENA PERIFERICA NEGATIVA: COLONIZZAZIONE DEL CATETERE O CONTAMINAZIONE DELL'EMOCOLTURA
- SET DI EMOCOLTURA NEGATIVI SIA DA CVC SIA DA VENA PERIFERICA: IMPROBABILE INFEZIONE CVC CORRELATA (VPN > 98%)

INVIO E CONSERVAZIONE

INVIARE I FLACONI IN LABORATORIO OPPURE CONSERVARLE IN REPARTO A TEMPERATURA AMBIENTE.

N.B.: In caso di vistosa contaminazione esterna del contenitore e/o del foglio di accompagnamento, il campione sarà respinto perché potenzialmente pericoloso per il personale.

SPECIFICARE NELLA RICHIESTA (MODULO CARTACEO O VIA ELETTRONICA) L'ESISTENZA O IL SOSPETTO DI CONDIZIONI CHE POSSONO RICHIEDERE MODIFICHE NELLE PROCEDURE DI LABORATORIO:

- 1) **ENDOCARDITE** : L' INCIDENZA DI EMOCOLTURA NEGATIVA IN CORSO DI ENDOCARDITE VARADAL 2,5% AL 64% .SEGUENDO CRITERI DIAGNOSTICI MOLTO RIGOROSI E TECNICHE COLTURALI OTTIMALI, I CASI DI NEGATIVITA' SONO INTORNO AL 5% SE NON SONO GIA' STATI SOMMINISTRATI ANTIBIOTICI.
- 2) a) PRIMO ACCERTAMENTO

SEGNALARE SUL FOGLIO DI RICHIESTA(CARTACEO O VIA ELETTRONICA) IL SOSPETTO DIAGNOSTICO DI ENDOCARDITE PER CONSENTIRE IL PROLUNGAMENTO DELL'INCUBAZIONE OLTRE I 7 GIORNI.

b) CONTROLLI SUCCESSIVI

- SEGNALARE CHE SI TRATTA DI UN CONTROLLO E INDICARE IL MICRORGANISMO ISOLATO NEL PRIMO ACCERTAMENTO

EFFETTUARE 2-3 PRELIEVI DIVERSI A DISTANZA DI CIRCA MEZZ'ORA AL 7°,14°,28°, (42°) GIORNO , DOPO 1 MESE DALLA SOSPENSIONE DELLA TERAPIA ANTIMICROBICA E, OVE INDICATO, DOPO 3-5 MESI.

3)SOSPETTA INFEZIONE DA MICETI: SEGNALARE IL SOSPETTO CLINICO PER POTERE PROLUNGARE L'INCUBAZIONE(3 SETTIMANE)

4) SOSPETTA INFEZIONE DA BRUCELLA SP., GRUPPO HACECK ED ALTRI A LENTO SVILUPPO SEGNALARE IL SOSPETTO IN MODO CHE VENGA PROLUNGATA L'INCUBAZIONE PER 3 SETTIMANE

FALSI RISULTATI NEGATIVI

IN CASO DI FONDATA SOSPETTO DI INFEZIONE ACCOMPAGNATA DA BATTERIEMIA CON EMOCOLTURE NEGATIVE (FALSI NEGATIVI), PRENDERE IN CONSIDERAZIONE LE SEGUENTI CAUSE:

SITUAZIONI CLINICHE

-PREGRESSA TERAPIA ANTIBIOTICA(60% DEI NEGATIVI)

-UREMIA

-MICRORGANISMI COSIDDETTI DIFFICILI

-BATTERI DEL GRUPPO HACECK(Haemophilus, Actinobacillus, Cardiobacterium, Eikenella, Kingella)

Abiotrophia:” Nutritionally variant streptococci

Miceti

Brucella spp.

Nocardia spp.

Bartonella spp.

Microrganismi coltivabili solo con metodiche specifiche

Micobatteri

Leptospira spp.

Legionella spp.

Borrelia spp.

Microrganismi non coltivabili nei comuni terreni di coltura e pertanto evidenziabili mediante prove sierologiche o tecniche biomolecolari

Chlamydia spp

Coxiella burneti

Altre Rickettsiae

FALSI RISULTATI POSITIVI

Dal 30 al 50% dei risultati positivi sono falsi positivi.

Considerare:

1. Aspetti clinici

- Decorso clinico non tipico .
- Non riscontrata l'infezione primaria con lo stesso isolato.
- Assenza di leucocitosi o deviazione a sinistra.

2. Aspetti microbiologici

- Positività per flora polimicrobica.
- Positività che avviene dopo 5-6 giorni di incubazione.
- Unico isolamento da più flaconi di un microorganismo appartenente ad una delle specie che più facilmente danno inquinamento (stafilococchi coag. neg).

POSITIVI VERI

Il giudizio di positività vera deriva da molteplici fattori che devono tener conto:

- dei giorni necessari alla positivizzazione del test;
- della presenza di positività in più flaconi;
- della classe di rischio clinico;
- della categoria di microorganismo



TEMPI DI REFERTAZIONE :

	CAMP.(-)	CAMP.(+)
GERMI COMUNI	7 GG	3-10 GG
ENDOCARDITE, MICOSI PROFONDA ,Brucellosi	21 GG	3-25 GG

BASSE VIE RESPIRATORIE

ESCREATO

QUESTO TIPO DI INDAGINE VIENE RICHIESTA PER LA DIAGNOSI DI BRONCHITE CRONICA RIACUTIZZATA O DI POLMONITE. IL PROTOCOLLO STANDARD PREVEDE L'ESECUZIONE DI **ESAME MICROSCOPICO** PER VALUTARE L'IDONEITA' DEL CAMPIONE . SUI CAMPIONI IDONEI SI PROCEDE ALL'**ESAME COLTURALE** ED ALLA DETERMINAZIONE DELLA CARICA SEMIQUANTITATIVA .

L'ESAME COLTURALE STANDARD PREVEDE LA RICERCA DI : **S.AUREO, S. PNEUMONIAE, H. INFLUENZAE, ENTEROBATTERI, PSEUDOMONAS, BACILLI GRAM- NON FERMENTANTI, STREPTOCCHI BEMOLITICI, BRANHAMELLA CATARRHALIS**

ALTRE RICERCHE VENGONO EFFETTUATE SU RICHIESTA SPECIFICA :

LEGIONELLA

MICETI FILAMENTOSI

MICOBATTERI

MATERIALE NECESSARIO

CONTENITORE STERILE A BOCCA LARGA , CON TAPPO A VITE

MODALITA' DI RACCOLTA

1)RACCOGLIERE IL CAMPIONE DEL PRIMO MATTINO, CHE E' PIU' RAPPRESENTATIVO DELLE SECREZIONI POLMONARI ACCUMULATESI DURANTE LA NOTTE, DOPO AVERE ESEGUITO UN ADEGUATO LAVAGGIO DEL CAVO ORALE CON ACQUA(EVENTUALI PROTESI MOBILI VANNO TOLTE PRIMA DEL LAVAGGIO)



2) DOPO UN COLPO PROFONDO DI TOSSE, ESPETTORARE DIRETTAMENTE NEL CONTENITORE STERILE A BOCCA LARGA CON TAPPO A VITE E CHIUDERE BENE.

IN CASO DI SCARSA ESPETTORAZIONE SPONTANEA , IL CAMPIONE SI PUO' OTTENERE MEDIANTE :

1) **ESPETTORATO INDOTTO** , OTTENUTO DOPO AVERE SOTTOPOSTO IL MALATO A MANOVRE DI FISIOTERAPIA E/O DOPO INALAZIONE , CON L'AUSILIO DI UN NEBULIZZATORE , DI 5-10 ml DI SOLUZIONE DI NaCl al 0,85%

2) **ESPETTORATO PROTETTO** , OTTENUTO DOPO INSERIMENTO TRA GUANCE E GENGIVE DI CILINDRETTI DI COTONE STERILE PER BLOCCARE LA SECREZIONE SALIVARE DEL DOTTO DI STENONE

3) **ESPETTORATO INDOTTO PROTETTO** , COMBINANDO LE DUE ULTIME MODALITA' DI RACCOLTA

4) **ASPIRATO DA TRACHEOSTOMIA** , LA CUI RACCOLTA E' DI SPECIFICA COMPETENZA DEL MEDICO SPECIALISTA

CONSERVAZIONE ED INVIO

INVIARE TEMPESTIVAMENTE IL MATERIALE ENTRO 1 h DALLA RACCOLTA

TEMPI DI REFERTAZIONE

	CAMP.NEGATIVO	CAMP.POSITIVO
GERMI COMUNI	1 G	2-4 GG
LEGIONELLA SPP.	10 GG	6-10 GG
MICETI FILAMENTOSI	10 GG	7-14 GG

BRONCOASPIRATO

L'ASPIRATO BRONCHIALE , CONSENTE LA RACCOLTA DI MATERIALE A BASSA CONTAMINAZIONE SALIVARE , MA ESSENDO UNA PROCEDURA INVASIVA TROVA INDICAZIONE SOLO PER QUADRI CLINICI DI PARTICOLARE GRAVITA' CLINICA , QUALI POLMONITI, ASCESSI POLMONARI .

IL RISULTATO DELL'ESAME E' DI TIPO QUANTITATIVO (LA CONOSCENZA DELLA CARICA MICROBICA CONSENTE DI DISCRIMINARE LA FLORA RESPONSABILE DI INFEZIONI DA COLONIZZANTI). GLI AGENTI EZIOLOGICI DI POLMONITE SONO GENERALMENTE PRESENTI IN ALTE CONCENTRAZIONI NELLE SECREZIONI RESPIRATORIE (> 100.000 UFC/ml) ;AL CONTRARIO LA POPOLAZIONE MICROBICA CONTAMINANTE E' PRESENTE IN BASSA CARICA (<10.000 UFC/ml) ULTERIORI RICERCHE (LEGIONELLA SPP., NOCARDIA SPP., MYCOPLASMA HUMANIS NEL NEONATO , PNEUMOCYSTIS CARINII) POTRANNO ESSERE EFFETTUATE SULLA BASE DEL SOSPETTO CLINICO, DOPO COLLOQUIO CON IL MICROBIOLOGO.

MATERIALE NECESSARIO

CONTENITORE STERILE A BOCCA LARGA CON TAPPO A VITE.

PROCEDURA DI PRELIEVO DI :

- 1) LAVAGGIO BRONCOALVEOLARE
- 2) LAVAGGIO BRONCOALVEOLARE MIRATO CON CATETERINO
- 3) BRUSHING ENDOBRONCHIALE PROTETTO

LAVAGGIO BRONCHIALE

- il lavaggio bronchiale eseguito con broncoscopio flessibile a fibre ottiche è tecnica relativamente innocua e può risultare utile solo quando non sia possibile la raccolta di materiali più

significativi, soprattutto in soggetti immunocompromessi.

Prelievo:

1. sottoporre il paziente ad anestesia superficiale per aerosol;
2. inserire il broncoscopio per via trans-nasale o per via trans-orale (pazienti non intubati)
oppure attraverso il tubo endotracheale (pazienti intubati);
3. iniettare soluzione fisiologica (con NaCl 0,9%) in aliquote di 5-20 ml, per un quantitativo totale massimo di circa 100 ml) con siringa applicata esternamente al broncoscopio;
4. rinviare le operazioni di brushing o le biopsie a quando la raccolta del materiale di lavaggio bronchiale sarà stata ultimata: un eccessivo sanguinamento nel liquido di recupero potrebbe modificare il rapporto tra le componenti cellulari e quelle non cellulari;
5. aspirare delicatamente la soluzione fisiologica direttamente in un contenitore sterile (provetta o contenitore a bocca larga e tappo a vite) prima di iniettare al paziente l' aliquota successiva. Mediamente viene recuperato circa il 50-75% del liquido iniettato. Raccogliere ogni aliquota in un contenitore dedicato;
6. registrare la quantità di soluzione fisiologica iniettata;
7. aggiungere in un unico contenitore solo il materiale prelevato dallo stesso sito anatomico.

Il lavaggio broncoalveolare

1. **IL LAVAGGIO BRONCOALVEOLARE** eseguito con broncoscopio flessibile a fibre ottiche è tecnica

relativamente innocua. Effetti collaterali di scarsa entità possono essere: tosse durante

il lavaggio, febbre e brividi alcune ore dopo la manovra, infiltrazione alveolare transitoria

24 ore dopo il prelievo, transitorio deterioramento dei parametri di funzionalità respiratoria. La maggior parte degli effetti collaterali sono correlabili alla manovra endoscopica,

alla sede ed all'estensione dell'area polmonare sottoposta a lavaggio nonché al volume ed alla temperatura del fluido instillato.

2. La raccolta del campione deve essere effettuata con particolari cautele nei pazienti con anamnesi di asma bronchiale ed in quelli ipossici ($PaO_2 < 60$ mm Hg). Problemi tecnici

possono essere osservati nei soggetti affetti da bronchite cronica ostruttiva. I pazienti con severe patologie di base od in condizioni critiche possono richiedere la somministrazione di ossigeno, premedicazioni con beta-agonisti in aerosol ed il monitoraggio dell'elettrocardiogramma. Consigliabili sono la disponibilità di un saturimetro e di un accesso venoso.

Prelievo:

1. porre il paziente in posizione supina;
2. sottoporre il paziente ad anestesia e sedazione leggera (possibilmente evitare l'impiego di xylocaina);
3. inserire il broncoscopio per via trans-nasale o per via trans-orale nel caso di pazienti non intubati. Inserire il broncoscopio attraverso il tubo endotracheale nel caso di pazienti intubati;
4. incuneare la punta del broncoscopio in un ramo sub-segmentale del lobo medio o della lingula oppure - in caso di opacità distrettuali di sospetta natura infettiva - di altre sedi, facendo avanzare il più possibile lo strumento durante un'inspirazione profonda;
5. iniettare soluzione salina sterile (NaCl 0,9%, pH 7.0) isoterma (35°C) per un quantitativo pari a circa 100-150 ml (quantitativo totale massimo di 200 ml) con siringa applicata esternamente al broncoscopio. E' opportuno somministrare in aliquote di 20 ml (almeno cinque) o di 50 ml (almeno tre);
6. rinviare le operazioni di brushing o le biopsie a quando la raccolta del materiale di lavaggio bronchiale sarà stata ultimata: un eccessivo sanguinamento nel liquido di recupero potrebbe modificare il rapporto tra le componenti cellulari e quelle non cellulari;
7. aspirare manualmente e delicatamente la soluzione fisiologica direttamente in un contenitore sterile (provetta o contenitore a bocca larga e tappo a vite) prima di iniettare al paziente l'aliquota successiva. Mediamente viene recuperato circa il 50-75% (40-60% nei grandi fumatori) del liquido iniettato. Raccogliere ogni aliquota in un contenitore

sterile dedicato;

8. registrare la quantità di soluzione fisiologica iniettata, l'eventuale presenza macroscopica di sangue, la sede del prelievo in relazione alla sede della lesione documentata radiologicamente;

9. non utilizzare per le indagini microbiologiche le prime aliquote ("frazione bronchiale")

ma usare invece le aliquote successive ("frazione alveolare"). La frazione bronchiale

può essere utilizzata per ricerche di sicuri patogeni: Legionella spp., Mycobacterium

spp....).

LAVAGGIO BRONCOALVEOLARE MIRATO CON CATETERINO

Premessa:

Vale quanto detto per il Lavaggio bronco-alveolare. Si tratta di metodica altamente sensibile,

evitando la contaminazione del materiale con flora orofaringea e permettendo la coltura di

microorganismi in carica assai ridotta. Può essere effettuata sia con l'ausilio del fibrobroncoscopio

che permette la visualizzazione del catetere nell'area interessata oppure senza fibro-broncoscopio [in questo caso il catetere si dirigerà al lobo inferiore destro (87% circa dei

casi), al lobo inferiore sinistro (11% circa) ovvero si arroterà su se stesso (2% circa)]. Può

essere effettuata anche con cateterino dotato di palloncino gonfiabile all'estremità (Pro-BAL):

tale metodica, indicata soprattutto per la valutazione della condizione di colonizzazione, è

solo accennata. Rispetto alla coltura del brushing bronchiale risulta metodica meno costosa.

E' consigliabile effettuare in un primo momento il prelievo, con cateterino, per gli esami

colturali batteriologici e successivamente, a prelievo batteriologico ultimato, procedere all'anestesia

del paziente ed all'esecuzione di prelievi per esami citologici.

Prelievo:

1. porre il paziente in posizione supina;

2. sottoporre il paziente ad anestesia e sedazione leggera (possibilmente evitare l'impiego di xylocaina);

3. inserire il broncoscopio, dotato di catetere a doppio lume con cateterino interno, telescopico, tamponato con glicole polietilenico all'estremità distale (Combica-th®) allo scopo di prevenire eventuali contaminazioni del materiale di prelievo;
 4. inserire la punta del broncoscopio in un bronco segmentale, evitando di aspirare prima della manovra successiva;
 5. spingere la camicia esterna del catetere per circa 3 cm al di là della parte distale del broncoscopio.
- In alternativa: iniettare 5 cc di aria prima di effettuare la manovra;
6. spingere il cateterino interno nella camicia interna del catetere;
 7. raccordare una siringa all'estremità esterna del catetere;
 8. iniettare soluzione salina sterile (NaCl 0,9%, pH 7.0) isoterma (35°C) per un quantitativo pari a circa 15-20 ml;
 9. aspirare, dopo il lavaggio, la soluzione fisiologica (1-3 ml) per le indagini microbiologiche;
 10. estrarre il catetere.

SPAZZOLATURA ENDOBRONCHIALE PROTETTA

Premessa:

- vale quanto detto per il Lavaggio bronco-alveolare. Si tratta di metodica altamente sensibile, evitando la contaminazione del materiale con flora orofaringea e permettendo la coltura di microrganismi in carica assai ridotta.

Prelievo:

1. porre il paziente in posizione supina;
2. sottoporre il paziente ad anestesia e sedazione leggera (possibilmente evitare l'impiego di xylocaina);
3. inserire il broncoscopio per via trans-nasale o per via trans-orale nel caso di pazienti non intubati. Inserire il broncoscopio attraverso il tubo endotracheale nel caso di pazienti intubati;
4. spingere la camicia interna del catetere con la spazzolina nella camicia esterna;
5. spingere la spazzolina del brushing nella camicia interna per realizzare il brushing;
6. effettuare la manovra di brushing per 2 secondi;
7. retrarre la spazzola nella camicia interna;
8. retrarre la camicia interna nella camicia esterna;

9. retrarre lo strumento dal broncoscopio;
10. disinfettare con alcool 70° la superficie esterna della camicia esterna;
11. spingere la camicia interna all'interno di quella esterna;
12. spingere la spazzola all'interno della camicia interna; tagliare la spazzola sterilmente,
ponendola in una provetta sterile contenente 1 ml di soluzione fisiologica sterile;

MATERIALE DI CONSERVAZIONE

CONTENITORE STERILE A BOCCA LARGA CON TAPPO A VITE

CONSERVAZIONE ED INVIO

INVIARE TEMPESTIVAMENTE IL MATERIALE AL LABORATORIO, POSSIBILMENTE ENTRO 1 h DALLA RACCOLTA , OVE CIO' NON FOSSE POSSIBILE CONTATTARE IL LABORATORIO

TEMPI DI REFERTAZIONE CAMP-NEG. CAMP.POS.

PROTOCOLLO STANDARD	2 GG	3-5 GG
NOCARDIA SPP.	7 GG	3-25 GG
LEGIONELLA SPP.	10 GG	7-12 GG
MICETI FILAMENTOSI	7 GG	7-15 GG

ALTE VIE RESPIRATORI

Tampone Faringeo

L'esame colturale su tampone faringeo è indirizzata alla ricerca di *Streptococcus pyogenes* (*Streptococco* β -emolitico di gruppo A), per diagnosi di faringotonsillite o ricerca di portatori.

Su richiesta viene eseguita la ricerca di:

1. ***Neisseria meningitidis***, in pazienti affetti da sospetta meningite meningococcica o loro conviventi;
2. ***Corynebacterium diphtheriae***, in caso di sospetta difterite o per accertare lo stato di portatore;
3. **candidosi orofaringea**, resistente a terapie antimicotiche mirate;

4. **Streptococchi di gruppo C e G** in caso di faringotonsillite non da Streptococcus piogenes.

MATERIALE NECESSARIO

TAMPONE CON TERRENO DI TRASPORTO DI AMIES

PROCEDURA DI PRELIEVO

Eeguire il tampone faringeo a digiuno: la stimolazione del faringe potrebbe indurre il riflesso del vomito.

1. rivolgere il paziente verso una sorgente luminosa, per visualizzare la sede di prelievo;
2. spingere la lingua in basso con un abbassalingua;
3. strisciare “energicamente” il tampone tra i pilastri tonsillari, premendo sulle cripte tonsillari;
senza toccare la lingua, le arcate dentarie, il velopendolo e le pareti laterali del cavo orale;
4. riporre il tampone nel contenitore con l’apposito terreno di trasporto.

TAMPONE NASALE

Queste indagini non trovano indicazione per la diagnosi di rinite o sinusite.

È prevista la ricerca mirata di:

1. **Staphylococcus aureus**: candidati al trapianto d’organo o sottoposti a trattamenti dialitici, screening MRSA;
2. **Aspergillus spp**: screening pre-trapianto o sorveglianza dopo trapianto d’organo o di midollo;
3. **Bordetella pertussis**: sospetto di pertosse;
4. **Klebsiella ozenae**: sospetto di ozena.

PROCEDURA DI PRELIEVO

1. inumidire il tampone con soluzione fisiologica, o acqua distillata, sterile;
2. inserire e ruotare il tampone sulle pareti delle coane nasali;

3. riporre il tampone nel contenitore con l'apposito terreno di trasporto.

MATERIALE NECESSARIO

Tampone con terreno di trasporto di Amies

CONSERVAZIONE ED INVIO

Inviare i campioni nel più breve tempo possibile (per garantire la vitalità dei batteri esigenti, in particolare di *Haemophilus* spp.). In alternativa conservare il tampone (massimo 12-24 ore) a temperatura ambiente.

TAMPONE AURICOLARE

Questo tipo di indagine consente di eseguire la diagnosi eziologica di otite esterna, otite media suppurativa, nel caso, invece, di otite cronica risulta difficile distinguere i microrganismi responsabili del processo infettivo dai contaminanti.

MATERIALE NECESSARIO

Tampone con terreno di trasporto di Amies.

PROCEDURA DI PRELIEVO

1. Raccomandare al paziente di non pulire il canale auricolare nelle ore precedenti la raccolta del prelievo.
2. Guidare il tampone nel condotto uditivo avendo cura di non strofinarne le pareti interne; se possibile, usare un otoscopio sterile che, proteggendo il tampone durante l'inserimento, consente la raccolta di materiale a bassa contaminazione.
3. Riporre il tampone nel contenitore con l'apposito terreno di trasporto.

CONSERVAZIONE ED INVIO

Inviare i campioni nel più breve tempo possibile (per garantire la vitalità dei batteri esigenti, in particolare di *Haemophilus* spp.).
In alternativa conservare il tampone (massimo 12-24 ore) a temperatura ambiente.

Tampone Congiuntivale e Corneale

Consente l'accertamento eziologico di congiuntivite e cheratite. I microrganismi responsabili di tali infezioni possono essere:

1. Staphylococcus aureus,
2. Streptococcus pneumoniae,
3. Moraxella spp. e Neisseria spp.,
4. Haemophilus spp.,
5. Chlamydia trachomatis, nei neonati acquisita durante la fase espulsiva del parto,
6. miceti filamentosi (raramente).

MATERIALE NECESSARIO

Tampone con terreno di trasporto di Amies.

PREPARAZIONE DEL PAZIENTE

1. Eseguire il prelievo prima che il paziente si lavi gli occhi;
2. avvertire il paziente di possibili bruciori nelle ore immediatamente successive al prelievo.

PROCEDURE DI PRELIEVO

1. Inumidire il tampone in soluzione fisiologica o acqua distillata sterile;
2. allontanare la palpebra dal bulbo oculare, traendola delicatamente verso l'operatore;
3. sfregare col tampone la congiuntiva così da raccogliere la secrezione;
4. retrainere il tampone senza toccare la rima palpebrale o le ciglia. In caso contrario, ripetere la procedura dall'inizio.

CONSERVAZIONE ED INVIO

Inviare tempestivamente il materiale al Laboratorio. Ove ciò non fosse possibile conservare il tampone (12-24 ore) a temperatura ambiente.

Liquido Cefalorachidiano (Liquor)

Il Liquor può essere prelevato da:

1. puntura lombare;
2. derivazione ventricolare esterna o altre derivazioni (spinale, puntura sottoccipitale, in sede operatoria, ecc.).

Le indagini microbiologiche possono:

1. identificare l'agente eziologico confermando il sospetto clinico di meningite;

2. controllo periodico (derivazioni liquorali), senza segni clinici di meningite.

Tale informazione (sospetta meningite o screening) deve essere specificata nel

modulo di richiesta, comportando procedure tecniche diverse.

Il sospetto clinico di meningite, si configura come urgenza medica. Per questo

motivo è prevista una specifica reperibilità, durante le ore di chiusura del laboratorio di microbiologia.

Il protocollo standard prevede l'esecuzione immediata dell'esame microscopico e l'esame colturale.

Specificare la richiesta mirata, soprattutto nelle meningiti a liquor limpido, di:

1. Brucella spp, Micobatteri;
2. miceti (Cryptococcus neoformans);
3. virus (diagnosi mediante biologia molecolare).

MATERIALE NECESSARIO

Impacco antisettico

Guanti sterili

N. 2 Provette sterile con tappo a vite

1 flacone da emocoltura pediatrico



PROCEDURA DI PRELIEVO

Il liquor cefalorachidiano deve essere prelevato in asepsi, sia per evitare una potenziale meningite

iatrogena per introduzione meccanica di germi nello speco liquorale, sia per evitare contaminazioni

con microrganismi residenti della cute che potrebbero rendere difficoltoso il giudizio

interpretativo dell'esame colturale.

E' opportuno che il prelievo e la raccolta del liquor vengano effettuate da due operatori: il

medico che effettua la rachicentesi ed un secondo operatore che raccoglie nelle provette il

liquor che fuoriesce.

Liquor cefalorachidiano da rachicentesi

1. Lavare accuratamente le mani con acqua e sapone e indossare i guanti.

2. Disinfettare la cute con antisettico a base di clorexidina 0.5 in soluzione alcoolica, dapprima con una garza imbevuta per rimuovere lo sporco e poi con un impacco da lasciare in sede per almeno 30". Il tempo totale di contatto deve essere di 2 minuti.
3. Introdurre l'ago sterile monouso (nel caso risulti difficile reperire l'accesso, è necessario provvedere alla sostituzione dell'ago di prelievo, prima di riprendere la manovra di prelievo).
4. Ritirare il mandrino e raccogliere il liquor in una prima provetta per l'esame chimico/contacellule (almeno 2 ml da inviare al Lab. Analisi) e chiudere la provetta.
5. Posizionarne una seconda sterile e raccogliere almeno 3 ml di liquor (senza toccare la cute del paziente!), chiudere la provetta e sfilare l'ago.
6. Apporre una compressa di garza e cerotto sul sito di prelievo.
7. Rimuovere i guanti e gettarli nel contenitore per rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo.
8. Lavare le mani con acqua e sapone.

Liquor cefalorachidiano da derivazione

1. Rimuovere il tampone che avvolge la punta del deflussore della derivazione.
2. Lavare accuratamente le mani e indossare i guanti sterili.
3. Porre in corrispondenza della punta del deflussore una provetta, anche non sterile, e lasciare defluire (per l'esame chimico/conta cell.: da inviare all'U.O. Analisi Chimico-Cliniche).
4. Porre in corrispondenza della punta del deflussore una seconda provetta sterile e lasciare defluire il liquor cefalorachidiano (almeno 3 ml) facendo attenzione che la provetta sterile non venga a contatto con la cute del paziente o con la punta del deflussore.
5. Chiudere la provetta.
6. Introdurre il deflussore in una nuova flebetta.

CONSERVAZIONE ED INVIO

Inviare al laboratorio di microbiologia nel più breve tempo possibile (al massimo quindici minuti). Se ciò non fosse possibile:

1. introdurre parte del liquor cefalorachidiano (1-3ml) in un flacone pediatrico per emocolture e conservare a temperatura ambiente fino all'invio al laboratorio di microbiologia;

2. conservare un'aliquota in due provette sterile a temperatura ambiente (esame microscopico, ricerca diretta antigeni batterici, indagini molecolari)

TEMPI DI REFERTAIONE

Campione negativo	Campione positivo
Protocollo standard 7 gg	2-4 gg

In caso di positività all'esame microscopico la comunicazione dei risultati preliminari viene effettuata mediante telefono.

LIQUIDI BIOLOGICI DA CAVITÀ STERILI

1. liquido pleurico;
2. liquido pericardico;
3. liquido peritoneale/ascitico;
4. liquido amniotico;
5. liquido articolare/sinoviale;
6. liquido da drenaggio;
7. umor vitreo / umor acqueo;
8. bile.

Risultati clinicamente significativi si ottengono effettuando le indagini microbiologiche su campioni prelevati con siringa da cavità chiuse.

Indagini microbiologiche

Si esegue la ricerca di germi comuni (AEROBI E ANAEROBI) e su richiesta *Mycobacterium spp*

MATERIALE NECESSARIO

CONTENITORE STERILE A BOCCA LARGA CON TAPPO A VITE
INVIARE IMMEDIATAMENTE IN LABORATORIO

LIQUIDO ARTICOLARE

Il campione deve essere prelevato da un ortopedico.

- Procedura in asepsi come per l'emocoltura.
- Aspirazione articolare percutanea mediante siringa (possibilmente eco guidata);
- Se durante intervento di revisione, eseguire a capsula articolare chiusa;
- Trasferire l'aspirato in un contenitore sterile con anticoagulante (fornito dal Laboratorio) per l'esame colturale e la conta leucocitaria;
- Inviare il prelievo rapidamente in Laboratorio (entro 2 h);
- Se ciò non è possibile conservare il contenitore sterile a +4 C° per max. 24 h;
- Fornire al laboratorio i dati anagrafici e clinici del paziente.

MODALITA' DI RACCOLTA NEL CASO DI MEZZI DI OSTEOSINTESI

Il campione deve essere prelevato da un ortopedico.

- Procedura in asepsi
- Aspirazione preoperatoria dell'eventuale fluido accumulato in zona perimplantare
- Trasferire l'aspirato in un contenitore sterile con anticoagulante (fornito dal Laboratorio) per l'esame colturale e la conta leucocitaria
- Inviare il prelievo rapidamente in Laboratorio (entro 2 h)
- Se ciò non è possibile conservare il contenitore sterile a +4 C° per max. 24 h
- Fornire al laboratorio i dati anagrafici e clinici del paziente

MODALITA' DI RACCOLTA DEI TESSUTI PERIMPLANTARI

Nei casi in cui c'è diagnosi o sospetto clinico di infezione e il microrganismo non sia stato ancora identificato, l'impiego e il timing della profilassi antibiotica rimane una scelta in carico al clinico

- Prelevare i campioni in sala operatoria con tecnica asettica
- Usando ogni volta strumentazione diversa (set già confezionati):
- Prelevare almeno 3 campioni bioptici (meglio 5-6) da varie zone (interfaccia protesi- osso, capsula articolare, aree con segni di infezione
- Volume dei campioni bioptici deve essere almeno di circa 1cm³ ;volume di un grosso cece.
- Introdurre ogni campione in un diverso contenitore sterile con soluzione fisiologica fornito dal laboratorio.
- Prelevare altrettanti pezzi bioptici da introdurre in altrettanti contenitori con formalina per l'esame istologico
- Inviare i campioni per l'esame colturale rapidamente in laboratorio (entro 2 h)
- Se ciò non è possibile conservare il contenitore sterile a +4 C° per max. 24 h
- Inviare i campioni per l'istopatologia
- Fornire al laboratorio i dati anagrafici e clinici del paziente

MODALITA' DI RACCOLTA DELLE COMPONENTI PROTESICHE/ MEZZI DI OSTEOSINTESI

- Porre ogni componente protesica o mezzo di osteosintesi in un contenitore non perforabile, sterile con coperchio a tenuta, di idonee dimensioni(contattare il laboratorio)
- Chiudere il contenitore ed inviare rapidamente in laboratorio (entro 2 h)
- Se ciò non è possibile conservare il contenitore sterile a +4 C° per max. 24 h

PUS ED ESSUDATI

Pus da Raccolta Profonda (Ascesso)

Il protocollo standard per raccolte purulente è indirizzato alla ricerca di germi comuni.

Su richiesta, la ricerca di:

1. Mycobacterium;
2. Actinomyces spp;
3. Nocardia spp;
4. miceti filamentosi.

MATERIALE NECESSARIO

CONTENITORE STERILE A BOCCA LARGA CON TAPPO A VITE
SIRINGA STERILE

PROCEDURA DI PRELIEVO

1. disinfettare la cute per un minuto;
2. prelevare con siringa sterile il materiale;
3. trasferire 2-3 ml dalla siringa nel contenitore sterile

CONSERVAZIONE ED INVIO

INVIARE IMMEDIATAMENTE IN LABORATORIO

Pus da Ferita Superficiale

1. Tampone da ferita chirurgica o traumatica;
2. tampone da fistola;
3. tampone da pustola.

Per l'analisi microbiologica del liquido da ferita superficiale sono state impiegate varie tecniche di prelievo, comprendenti tamponi di cotone asciutti e/o inumiditi, dischi di carta da filtro, cilindri da strofinare, ecc. La pleora di metodi di prelievo crea considerevoli problemi nella gestione microbiologica della ferita in quanto ciascun metodo ha dei vantaggi, ma nessuno è universalmente accettato. La mancanza di consensi sul corretto modo di prelevare il liquido da ferita superficiale può portare ad errata interpretazione del risultato e del trattamento terapeutico.

L'interpretazione dei risultati in questi tipi di prelievi non è sempre facile, per la difficoltà a discriminare tra colonizzanti e agenti responsabili del processi flogistico in atto.

È preferibile procedere alla raccolta di secrezione in profondità nel corso di revisione chirurgica.

MATERIALE NECESSARIO

TAMPONE CON TERRENO LIQUIDO DI TRASPORTO



(FORNITO DAL LABORATORIO)

PROCEDURA

1. Indossare guanti;
2. non disinfettare la ferita;
3. inumidire il tampone in soluzione fisiologica o acqua distillata sterile;
4. raccogliere la secrezione con il tampone strisciandolo e/o ruotandolo nella sede della lesione, evitando di toccare la cute integra

CONSERVAZIONE ED INVIO

INVIARE IMMEDIATAMENTE IN LABORATORIO, O CONSERVARE A 2-8°C PER 24 h

Secrezioni da Piaga o Ulcera

La diagnosi eziologica di infezione non è semplice, per la difficoltà di dover distinguere i microrganismi

responsabili dai semplici colonizzanti della lesione.

Particolarmente critica si rivela quindi la modalità di raccolta.

MATERIALE NECESSARIO

Siringhe da 1-5 ml.

Provetta con terreno di trasporto liquido di Amies.

PROCEDURA DI PRELIEVO

Raccolta del campione con la tecnica di irrigazione/aspirazione:

1. Immettere delicatamente, con una siringa senza ago, almeno 1 ml di soluzione fisiologica sotto il margine dell'ulcera (ripetendo l'operazione in 4 punti della circonferenza);
2. rimuovere con una garza sterile l'eccesso di liquido;
3. massaggiare con un tampone di cotone sterile i margini dell'ulcera (lungo tutta la circonferenza);
4. ripetere l'irrigazione ed il massaggio dei margini con un nuovo tampone;
5. raccogliere il liquido con una siringa ed immetterlo nel flacone con terreno di trasporto

Catetere Vascolare

Per poter effettuare la diagnosi eziologica delle infezioni sistemiche a partenza dal catetere

vascolare è opportuno l'invio contemporaneo di emocolture, prelevate da sede periferica diversa

da quella contenente il catetere.

La tecnica di Cleri, , evidenzia la presenza di microorganismi sia nel lume vascolare che sulla parete della cannula. Tale tecnica consente anche la determinazione della carica batterica (CFU): si considera clinicamente significativo un risultato > 1000 CFU/ml.

MATERIALE NECESSARIO

CONTENITORE STERILE A BOCCA LARGA CON TAPPO A VITE



PROCEDURA DI PRELIEVO

1. Disinfettare la cute intorno al catetere applicando un impacco (garza o cotone) con antisettico per un minuto;
2. rimuovere il catetere, evitando la contaminazione per contatto con superficie non sterili;
3. **tagliare la punta con forbici sterili per una lunghezza di 3-5 centimetri;**
4. riporre la punta della cannula nel contenitore sterile

CONSERVAZIONE ED INVIO

INVIARE IMMEDIATAMENTE IN LABORATORIO, O CONSERVARE A 2-8 °C DOPO AVERE AGGIUNTO 1 ml DI SOLUZIONE FISIOLÓGICA STERILE NEL CONTENITORE CONTENENTE IL CATETERE.

Tampone da Exit Site

Trova indicazione quando non è possibile la rimozione del catetere vascolare.

MATERIALE NECESSARIO

Tampone con terreno di trasporto di Amies.

PROCEDURA DI PRELIEVO

1. Lavare le mani con acqua e sapone, indossare i guanti, non necessariamente sterili, a meno che debba essere eseguita la palpazione della sede di inserzione (non disinfettare l'exit-site);

2. inumidire il tampone in soluzione fisiologica o acqua distillata sterile;
3. strisciare, ruotandolo, il tampone, sulla cute attorno al punto di inserzione della cannula;
4. riporre il tampone nel contenitore con l'apposito terreno.

CONSERVAZIONE ED INVIO

I campioni possono essere conservati fino a dodici ore, a temperatura ambiente

Fili Pace Maker

Una possibile complicanza dell'inserzione di pace-maker è dovuta all'infezione nel sito di inserzione.

MATERIALE NECESSARIO, PROCEDURA DI PRELIEVO, CONSERVAZIONE ED INVIO

Vedi Catetere Vascolare

Valvola Cardiaca

L'esame colturale delle valvole cardiache trova indicazione per la diagnosi eziologica di endocardite.

MATERIALE NECESSARIO

Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite.

MODALITA' DI PRELIEVO

1. Procedere all'asportazione della valvola in toto oppure dei frammenti valvolari;
2. introdurre i frammenti nel contenitore sterile aggiungendo soluzione fisiologica in quantità sufficiente per ricoprire la valvola (**Attenzione! non utilizzare liquidi di conservazione o fissativi**)

APPARATO GASTROENTERICO

Coprocoltura

Per questo tipo di esame è previsto la ricerca:

1. nell'adulto, di Salmonella spp., Shigella spp. e Campylobacter;
2. nei bambini, lo studio di diarrea;
3. in paziente ospedalizzato in terapia chemioantibiotica, la tossina A e B del Clostridium difficile, Salmonella spp., Shigella spp. e Campylobacter spp.;
4. in pazienti con enterite emorragica, Escherichia coli O157 (VTEC), Salmonella spp., Shigella spp. e Campylobacter spp.;
5. in soggetti trapiantati, ricerca miceti (lieviti).

Altre ricerche su richiesta:

1. *Yersinia* spp., per sintomatologia tipo appendicite;
2. *Vibrio* spp., in soggetti di ritorno da soggiorni in aree endemiche



MATERIALE DI RACCOLTA

- CONTENITORE CON PALETTA
- FLACONE CON TERRENO LIQUIDO DI TRASPORTO (FORNITO DAL LABORATORIO, DA UTILIZZARE NELLE ORE DI CHIUSURA DEL SERVIZIO DI MICROBIOLOGIA)

CONSERVAZIONE ED INVIO

È importante inviare tempestivamente il campione per garantire la vitalità dei microrganismi,

se ciò non fosse possibile i campioni vanno introdotti nel flacone con terreno liquido di trasporto (Transfec)

Ricerca Rotavirus e Adenovirus conservare a 2-8°C per max. 48 h

Ricerca Calproectina fecale e sangue occulto conservare a 2-8°C per max. 48 ore

Invece per la ricerca delle tossine A e B di C. difficile sono necessarie feci fresche

(non del giorno prima), altrimenti il risultato non è attendibile, pertanto, vanno inviate immediatamente in laboratorio.

Feci per Ricerca di *Helicobacter pylori*

La ricerca degli antigeni di *Helicobacter pylori* nelle feci consente l'accertamento dell'infezione o dell'avvenuta eradicazione dopo terapia (è preferibile eseguire il test per il controllo almeno quattro settimane dopo la sospensione della terapia).

Il test ha sensibilità e specificità sovrapponibili al breath test (> 80%).

MATERIALE per il prelievo:

Contenitore con paletta per feci

Procedura di prelievo

Raccogliere le feci su una "padella" pulita e trasferire nel barattolo una quantità di feci pari ad un cucchiaino.

Consegnare tempestivamente il campione. In caso non fosse possibile, conservare a 2-8°C per 24-48 h

VIE URINARIE

Urinocoltura

PROCEDURA DI PRELIEVO

La raccolta deve essere effettuata preferibilmente al mattino o tre ore dopo l'ultima minzione.

Le urine possono essere raccolte con diverse modalità:

1. **Urine da mitto intermedio**, ottenute da pazienti che urinano a comando.
2. **Urine da sacchetto**, nei bambini più piccoli. È molto facile la contaminazione del campione urinario con materiale fecale, pertanto, si consiglia ripetere se positivo.
3. **Urine da catetere permanente** In assenza di sintomi clinici una positività depone per una colonizzazione vescicale più che per un'infezione delle vie urinarie.

Urine da mitto intermedio

1. Lavare con cura le mani con acqua e sapone (non usare antisettici!), risciacquare e asciugare;
2. lavare con cura i genitali esterni, con acqua e sapone (non usare antisettici!), poi asciugare con una salviettina pulita;
3. per pazienti di sesso maschile, retrarre il prepuzio, lavare l'orifizio uretrale e la zona circostante, quindi sciacquare e asciugare;
4. per pazienti di sesso femminile, lavare e risciacquare passando per tre volte dall'avanti all'indietro, l'orifizio uretrale e la zona perineale, poi asciugare con una salviettina pulita;
5. aprire il contenitore sterile evitando di toccarne l'interno e/o il coperchio, appoggiando sia il contenitore che il coperchio (rivolto all'insù) su una superficie piana;
6. urinare (la donna, divaricando con le dita le grandi labbra della vulva; i maschi, tenendo retratto il glande), scartare la prima parte delle urine emesse e raccogliere direttamente nel recipiente sterile la seconda parte delle urine, in quantità non superiore a 3-4 cm;

7. chiudere immediatamente il contenitore, avvitando con cura il tappo ed evitando di toccarne l'interno.

Non sono materiali idonei per indagini microbiologiche: la punta del catetere vescicale a permanenza, le urine raccolte dalla sacca connessa al catetere permanente. Tali campioni, se inviati al Laboratorio non saranno esaminati.

In casi clinici particolari è opportuno contattare direttamente IL servizio di Microbiologia

per:

1. Cistiti recidivanti, con urinocoltura persistentemente negativa;
2. ripetuto isolamento di flora mista;

Urine da sacchetto

1. Lavare con cura le mani con acqua e sapone (non usare antisettici!), risciacquare e asciugare;
2. lavare con cura i genitali esterni e il perineo del piccolo paziente con acqua e sapone (non usare antisettici!), quindi sciacquare e asciugare;
3. aprire il sacchetto sterile evitando di toccarne l'interno;
4. fare aderire il sacchetto alla cute perineale;
5. mantenere il bambino in posizione eretta;
6. nel caso il bambino abbia difficoltà a urinare, rimuovere il sacchetto ogni trenta minuti;
7. richiudere il sacchetto utilizzando l'apposita linguetta adesiva;
8. porre il sacchetto in posizione verticale in un barattolo non sterile (è preferibile non travasare le urine dal sacchetto in altro contenitore, al fine di ridurre la possibilità di contaminazione);
9. chiudere il barattolo con cura.

Urine da catetere permanente

1. Non sconnettere mai il catetere per raccogliere le urine;
2. lavarsi accuratamente le mani, asciugarle con cura e indossare guanti non sterili;
3. disinfettare dispositivo del catetere predisposto per il prelievo;
4. clampare il catetere subito a valle del dispositivo di prelievo;
5. raccordare sterilmente alla siringa sterile monouso da 5 ml l'ago sottile (23-25 G);

6. inserire l'ago nell'apposito dispositivo ed aspirare delicatamente 2-3 ml di urine;
7. rimuovere l'ago e trasferire le urine nel contenitore sterile;
8. chiudere il contenitore, avvitando con cura il tappo ed evitando di toccarne l'interno.

Metodo Clean-catch (raccolta pulita) in pediatria (RP):

Pulire l'area genitale con acqua e sapone.

- Nel bambino se possibile retrarre il prepuzio, pulire il meato esterno con acqua e sapone e mantenerlo scoperto attendendo la minzione e raccogliendo al volo l'urina nel contenitore sterile.
- Nelle bambine, divaricare le grandi labbra, pulire il meato esterno, mantenere se possibile le labbra divaricate attendendo la minzione e raccogliendo al volo l'urina nel contenitore sterile.

Urine da assorbente

- Alternativa al metodo di raccolta con sacchetto; è utilizzato per neonati e bambini in tenera età. Dopo aver lavato in modo energico l'area genitale, collocare un assorbente al suo interno. Quando l'assorbente si è inumidito con le urine, (ma non con residui fecali), immergere subito al suo interno l'estremità di una siringa per prelevare l'urina. Trasferire il campione in un contenitore sterile. Anche questo metodo di raccolta presenta frequenti problemi di contaminazione.

Aspirato sopra pubico (ASP)

- Raccogliere le urine in modo asettico direttamente dalla vescica tramite aspirazione con ago e siringa. L'uso di questa procedura invasiva è di solito riservato per chiarire i risultati equivoci ottenuti sulle urine da svuotamento vescicale (come nei lattanti e nei bambini in tenera età). Prima di

eseguire l'ASP, è necessario rilevare ecograficamente la presenza di urine in vescica.

Condotta ileale - Urine da urostomia

- a. Rimuovere il dispositivo esterno.
- b. Pulire lo stoma con alcool seguito da iodio.
- c. Rimuovere lo iodio con alcool.
- d. Inserire un doppio catetere nello stoma pulito, ad una profondità al di là del livello fasciale. e raccogliere l'urina. I risultati ottenuti con questa tipologia di campioni possono essere difficili da interpretare.

Urine da cistoscopia

- Le urine sono prelevate direttamente dalla vescica utilizzando un cistoscopio

Urine da uretere

- Tramite cateteri ureterici inseriti dalla vescica si raccolgono due campioni da ciascun uretere durante la cistoscopia.

Le urine possono essere inviate dopo nefrotomia, intervento chirurgico o lavaggio vescicale.

Materiale per la Raccolta

Contenitore sterile a bocca larga con tappo a vite



CONSERVAZIONE ED INVIO

1. Accertarsi che il contenitore sia ermeticamente chiuso in modo che l'urina non fuoriesca durante il trasporto ;
2. inviare il materiale al laboratorio entro un'ora dalla raccolta, altrimenti conservare le urine in frigorifero + 4° C (non in congelatore!) per un massimo di 24 h

Ricerca C. trachomatis nelle Urine

La ricerca della Chlamydia trachomatis su urine può essere effettuata solo mediante tecniche di amplificazione genica

CONSERVAZIONE ED INVIO

Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite

Raccogliere le urine del primo mitto del mattino (15 ml).

Trasportare nel più breve tempo possibile al laboratorio; qualora ciò non fosse possibile il campione può essere conservato per 24 ore a 4°C.

Tampone Uretrale

Consente l'accertamento eziologico delle uretriti da Neisseria gonorrhoeae e Chlamydia trachomatis

(esame colturale e ricerca diretta mediante real-timePCR, rispettivamente), Trichomonas vaginalis (esame microscopico) ed Haemophilus spp, recentemente descritto quale possibile agente di uretriti acute.

Per lo studio dell'infertilità viene eseguita la ricerca oltre che dei microrganismi causa di uretriti, anche Ureaplasma urealyticum e Mycoplasma hominis.

MATERIALE PER LA RACCOLTA

n.2. Tamponi sottile, con terreno liquido di trasporto; (il materiale per il prelievo viene fornito dal laboratorio di microbiologia)

kit C. trachomatis; ((il materiale per il prelievo viene fornito dal laboratorio di microbiologia)

PROCEDURA DI PRELIEVO

Effettuare il tampone uretrale al mattino, prima della minzione;

Per la ricerca di Neisseria gonorrhoeae, Mycoplasmi urogenitali e Germi comuni:

1. Per le specifiche ricerche, inserire il tampone nell'uretra per circa 3-4 cm e ruotarlo per alcuni secondi

Per la ricerca di Chlamydia trachomatis in IF:

· inserire nell'uretra per 3 - 4 centimetri il tampone sottile del kit e lasciarvelo per alcuni secondi.

Farlo ruotare, poi ritirarlo e srotolare il materiale del tampone sul pozzetto del vetrino del

kit, esercitando una certa pressione, così da ricoprirlo interamente; lasciare asciugare completamente

all'aria; fissare il vetrino, utilizzando il contenuto della fialetta apposta, e lasciare evaporare.

CONSERVAZIONE ED INVIO

1. Il tampone per la ricerca di *Neisseria gonorrhoeae* e di *Mycoplasma* deve essere inviato immediatamente in laboratorio;

Nelle prostatiti (soprattutto, croniche) è difficile effettuare una diagnosi eziologica.

L'accertamento diagnostico si avvale del test di Stamey, basato sulla valutazione comparativa dei risultati delle colture di:

1. Urina da primo mitto;
2. urina da mitto intermedio;
3. secreto prostatico o urina raccolta dopo massaggio prostatico (la spremitura della prostata consente l'immissione a livello uretrale delle secrezioni prostatiche).

MATERIALE PER LA RACCOLTA

N. 3 CONTENITORI STERILI, A BOCCA LARGA E TAPPO A VITE

PROCEDURA DI PRELIEVO

1. I campioni debbono essere raccolti almeno tre ore dopo l'ultima minzione;
2. raccogliere il primo mitto urinario, con le modalità di asepsi specificate;
3. raccogliere le urine da mitto intermedio;
4. porre il paziente in posizione genupettorale ed effettuare il massaggio prostatico;
5. raccogliere il secreto prostatico o le prime urine emesse dopo il massaggio prostatico;
6. chiudere i contenitori, avvitando con cura i tappi ed evitando di toccarne l'interno.

CONSERVAZIONE ED INVIO

1. accertarsi che i tre contenitori siano ermeticamente chiusi in modo che l'urina non fuoriesca durante il trasporto ;
2. inviare tempestivamente il materiale, entro 15 minuti dalla raccolta, per consentire la vitalità di *Neisseria gonorrhoea*.

Secreto Vaginale

Il protocollo standard per la diagnosi di "vuginosi" prevede la determinazione del:

1. pH vaginale (superiore a 4.5 determinato al momento del prelievo);
2. fish-odor (con KOH);
3. cellularità (globuli bianchi, cellule di sfaldamento), presenza di lattobacilli e di clue cells;
(*Gardnerella vaginalis*).

Il protocollo standard per "vaginiti" in età adulta prevede la:

1. Ricerca di microrganismi causa di vaginiti.

Il protocollo standard per la “vulvo-vaginite” in età pediatrica (< 12 anni) prevede

la ricerca di Streptococcus pyogenes ed Haemophilus spp. oltre alla ricerca dei microrganismi

causa di vaginiti.

MATERIALE NECESSARIO

TAMPONE CON TERRENO LIQUIDO DI TRASPORTO

(FORNITO DAL LABORATORIO)

PREPARAZIONE DELLA PAZIENTE

1. Effettuare il prelievo non nel periodo mestruale per evitare risultati falsamente negativi;

2. informare la paziente che per la corretta esecuzione dell'esame dovrà:

a. evitare, dalla sera precedente, il bagno in vasca e irrigazioni vaginali;

b. sospendere da almeno tre-quattro giorni l'applicazione di farmaci locali o eventuali

terapie generali effettuate per infezioni vaginali;

c. astenersi, nelle ventiquattro ore che precedono il prelievo, da rapporti sessuali.

PROCEDURA DI PRELIEVO

1. Porre la donna in posizione ginecologica;

2. posizionare lo speculum;

3. Effettuare il prelievo con tampone floccato ed introdurlo nella provetta con terreno liquido

CONSERVAZIONE ED INVIO

1. inviare tempestivamente il materiale al servizio di Microbiologia

2. specificare nel modulo di richiesta se la ricerca è effettuata in bambina o donna adulta. Se è

disponibile l'informazione sul pH vaginale, riportare il risultato sul modulo di richiesta.

Secreto Cervicale

Consente di porre diagnosi di:

1. **cervicite**: Chlamydia trachomatis e/o Neisseria gonorrhoeae;

2. **infertilità**: N. gonorrhoeae, C. trachomatis oltre alle ricerche di U. urealyticum e M. hominis.

Materiale necessario per il prelievo

Kit per Chlamydia(fornito dal laboratorio)

1 Tampone con terreno liquido di trasporto(fornito dal laboratorio)

Procedura di prelievo per Chlamydia trachomatis e Neisseria gonorrhoeae e Micoplasma

1. porre la paziente in posizione ginecologica;
2. illuminare la sede del prelievo;
3. posizionare lo speculum;
4. Pulire il canale cervicale dal muco con tampone in dacron o in cotone ;
 - a. effettuare il prelievo inserendo il secondo tampone(inserito nel Kit) all'interno del canale endocervicale per 2 cm ruotare per 10-30 secondi, estrarlo e srotolare il materiale del tampone sul pozzetto del vetrino del kit, esercitando una certa pressione, così da ricoprirlo interamente; lasciare asciugare completamente all'aria; fissare il vetrino, utilizzando il contenuto della fialetta apposta, e lasciare evaporare.
 - b. con un secondo tampone, meglio se floccato, prelevare altro materiale e riporre nel flacone con terreno liquido di trasporto per la ricerca di Neisseria e Micoplasma

Conservazione ed invio

Inviare immediatamente in laboratorio

RICERCA S. AGALACTIAE—SCREENING NEONATALE E MATERNO

Neonato

Streptococcus agalactiae (Streptococco- β -emolitico di gruppo B) è l'agente eziologico più

frequentemente responsabile di gravi infezioni neonatali (sepsi, meningiti, polmoniti).

Le indagini microbiologiche sono mirate e si effettuano in genere su:

1. Tampone faringeo;
2. tampone auricolare;
3. tampone rettale.
4. aspirato gastrico

Materiale Necessario

-Tampone con terreno liquido di trasporto(fornito dal laboratorio)

Conservare per 24 h in frigo

MADRE

Queste infezioni sono trasmesse dalla madre durante il parto e possono essere prevenute somministrando terapia antibiotica alla madre al momento del parto.

La ricerca si effettua a livello vaginale e rettale alla 35-37° settimana o, nel caso non sia stato possibile, al momento del parto

Materiale necessario

2 tamponi con terreno liquido di trasporto (forniti dal laboratorio)

Biopsie Varie

Il protocollo standard prevede l'esame colturale per germi comuni.

Ulteriori ricerche potranno essere effettuate dopo colloquio con il dirigente Microbiologo

MATERIALE NECESSARIO

Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite o provetta sterile con tappo a vite.

PROCEDURA DI PRELIEVO

1. Prelevare uno o più pezzi biotici;
2. trasferire nel contenitore sterile;
3. aggiungere pochi cc di soluzione fisiologica sterile (attenzione! non usare formalina).

CONSERVAZIONE ED INVIO

1. Inviare il materiale al servizio di Microbiologia entro l'orario di apertura;
2. indicare sempre la sede del prelievo nel modulo di richiesta.

Ricerca Parassiti

Le parassitosi nel nostro paese stanno vivendo un periodo di rinnovato interesse, dovuto

all'inarrestabile progredire di interessi turistici e lavorativi che coinvolgono quasi tutte le aree

terrestri, al continuo aumento del processo immigratorio dai paesi in via di sviluppo, ma anche

all'espansione delle patologie opportunistiche, di natura parassitaria, legate a condizioni di

immunodeficienza acquisita o indotta.

Sono interessati a questo tipo di indagini specifici gruppi di popolazione e soggetti che presentano

quadri clinici particolari:

1. Soggetti originari di paesi in via di sviluppo;
2. soggetti di ritorno da viaggi in paesi in via di sviluppo (turismo-lavoro);
3. stretti contatti con soggetti affetti da parassitosi trasmissibili per via oro fecale o da ectoparassiti pidocchi;

4. immunodepressi per patologia o terapia;
5. soggetti con sintomi quali malassorbimento, dolori addominali, dimagrimento, eosinofilia, senza altra causa riconoscibile .

CAMPIONI UTILI PER LA RICERCA

I campioni vengono esaminati per la ricerca di protozoi, larve e/o uova di elminti.

E' necessario che ogni campione sia accompagnato da notizie cliniche, fondamentali per un'indagine adeguata.(modulo di richiesta esami distribuito dal Lab. di Microbiologia).

1. Feci;
2. Succo duodenale;
3. Urine;
4. Sangue

Feci

1. Campione unico per indagini epidemiologiche
2. Da tre a cinque campioni prelevati a giorni alterni nella pratica diagnostica; in particolare per la ricerca di *Giardia intestinalis* cinque campioni prelevati a giorni alterni.

Hanno bisogno di richiesta specifica le seguenti ricerche:

1. *Enterobius vermicularis* (Scotch test)
2. *Entamoeba histolytica* (diarrea muco-ematica)
3. *Dientamoeba fragilis*
4. Microsporidi(diarrea acquosa in immunodepressi)
5. vermi adulti o parti di essi

MODALITÀ DI PRELIEVO

1. Raccogliere le feci su una superficie pulita evitando la contaminazione con urine.
2. Utilizzando la palettina del contenitore, trasferire una piccola quantità di feci(prelevandola in punti diversi dell'evacuazione), nel contenitore per feci
- 3 Precauzioni: nei giorni precedenti il prelievo, non fare uso di lassativi, bario,bismuto,oli minerali.

Scotch test:

1. indossare guanti sterili,
2. disporre un pezzo di nastro adesivo trasparente (4-5cm) su un abbassalingua, con la parte adesiva all'esterno, tenendo le due estremità tra pollice e indice;
3. appoggiare l'abbassalingua con lo scotch all'orifizio anale e far aderire il nastro adesivo alle pareti della mucosa anale per raccogliere le eventuali uova di ossiuri presenti;
4. dopo una decina di minuti di permanenza in sede, rimuovere il nastro adesivo dall'apertura

anale e porlo su un vetrino portaoggetti, facendolo aderire ed evitando di creare pieghe

CONSERVAZIONE ED INVIO

Può essere conservato a temperatura ambiente.

Trasportare in barattolo chiuso con tappo a vite.

Aspirato Duodenale

La ricerca di parassiti dall'aspirato duodenale trova indicazione per:

1. Strongyloides stercoralis
2. Giardia lamblia
3. Criptosporidium parvum

MATERIALE NECESSARIO

CONTENITORE STERILE A BOCCA LARGA CON TAPPO A VITE

Sangue

Malaria

CONSERVAZIONE ED INVIO

In caso di sospetto di malaria prelevare senza alcun ritardo i campioni ematici. La diagnosi di malaria è la sola vera urgenza in Parassitologia Clinica: in 12/24h un soggetto non immune può passare da una condizione psico-fisica discreta ad uno stato di coma per malaria cerebrale da Plasmodium falciparum.

QUANDO PRELEVARE

Il momento ideale per il prelievo sarebbe a distanza di qualche ora dalla puntata febbrile tuttavia, la ricerca di plasmodi si impone anche in assenza di febbre e, se negativa, il prelievo deve essere ripetuto dopo il primo rialzo termico o, se il quadro clinico è fortemente sospetto o ingravescente, ogni 6-8 ore, anche in assenza di febbre.

2-3 ml di sangue venoso, in provetta con EDTA (emocromo)

Inviare subito in laboratorio o al massimo entro 1 ora.

Leishmaniosi, Tripanosomiasi, Filariosi

Per queste parassitosi e per la ricerca di Acanthamoeba in lesioni corneali, prendere accordi con il dirigente di Microbiologia, per le modalità e il momento del prelievo.

Urine

Ricerca di uova di Schistosoma hematobium (10 ml di urine dal mitto terminale di una minzione effettuata tra le ore 10 e le ore 12). Inviare subito in laboratorio.

Ricerca di trichomonas vaginalis nel maschio (raccolta di 10 ml dal primo mitto).

Inviare subito in laboratorio.

Conservazione ed Invio

Trasportare in barattolo chiuso con tappo a vite. Può essere conservato a temperatura ambiente.

Per altre ricerche (quali scraping cutaneo per leishmaniosi cutanea, lesioni oculari da Acanthamoeba spp, liquor per Tripanosomiasi) si prega di contattare il dirigente del laboratorio di microbiologia

RICERCA DEI MICOBATTERI

La ricerca dei micobatteri, può essere effettuata mediante le seguenti metodiche:

1. ricerca diretta
 - a. Esame microscopico, per ricerca di bacilli acido alcool resistenti;
 - b. Ricerca del genoma micobatterico con tecniche di amplificazione del DNA (PCR);
2. colturale che consente l'identificazione di specie e l'esecuzione dei test di sensibilità.

Per garantire la significatività dei risultati, il microbiologo deve poter disporre di materiali provenienti dalla sede del processo patologico

Secrezioni Respiratorie

La ricerca di micobatteri si può effettuare su tutti i campioni di secrezioni respiratorie, comunque raccolti, compreso l'espettorato (a differenza delle indagini batteriologiche per g. c.), **purché**

non rappresentato da sola saliva.

L'indagine consiste nell'esame microscopico (ricerca di bacilli alcool-acido resistenti), nell'esame colturale e su richiesta, si può procedere al test di rilevazione del DNA dei micobatteri del gruppo *Mycobacterium tuberculosis complex* con metodiche di biologia molecolare.

MATERIALE NECESSARIO

Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite.

PROCEDURA DI PRELIEVO

Escreato

I pazienti debbono essere correttamente istruiti e controllati al momento della raccolta del campione. Il materiale ottimale è quello proveniente dalle basse vie respiratorie ottenuto tramite l'ausilio di robusti colpi di tosse. Una serie di 3 campioni raccolti in giorni diversi rappresenta l'approccio diagnostico standard. Sarebbe preferibile raccogliere e processare il campione nel medesimo contenitore.

Espettorato indotto

Per pazienti che hanno difficoltà ad espettorare, si consiglia l'inalazione di un aerosol di soluzione salina ipertonica (3-15%) sterile prodotta da un nebulizzatore ad ultrasuoni. I campioni così ottenuti vanno processati in ogni caso

nonostante il loro aspetto non sia diverso da quello dei materiali non idonei (acquoso e salivare). Proprio per questo motivo, i campioni debbono essere chiaramente etichettati come “espettorato indotto” prima dell’invio in laboratorio.

Aspirato gastrico

Può essere necessario per quei pazienti, in particolare bambini, che non riescono ad espettorare neanche dopo induzione aerosolica. Il campione (circa 50 ml) va raccolto al mattino presto dopo almeno 8-10 h di digiuno mediante sondino naso-gastrico e subito neutralizzato aggiungendo 100 mg di carbonato di sodio o inviato immediatamente in laboratorio

Broncoaspirati e lavaggi broncoalveolari

Si ottengono in corso di broncoscopia a fibre ottiche durante la quale possono essere eseguite anche altre procedure diagnostiche quali lo spazzolamento bronchiale e/o la biopsia transbronchiale. Talvolta può essere utile raccogliere ed esaminare l’escreato post broncoscopia solitamente prodotto dopo l’indagine e/o il mattino successivo

Urine

La prima urina del mattino raccolta con la tecnica del mitto intermedio rappresenta il campione ottimale. Sebbene una serie di 3 campioni raccolti in giorni diversi rappresenti l’approccio diagnostico standard, talvolta la ricerca dei micobatteri può richiedere la raccolta di campioni multipli. La presenza di antibiotici ad ampio spettro presenti nelle urine può ritardare o inibire la crescita dei micobatteri.

Liquor

E’ necessario raccogliere in provette sterili una quantità minima di almeno 2 ml. In caso di quantità insufficiente, la precedenza deve essere accordata all’esame colturale data ha scarsissima sensibilità dell’esame microscopico.

Tessuti ed altri liquidi corporei

I tessuti (biottici o autottici) vanno raccolti in contenitori sterili senza alcun fissativo. Per evitare l’essiccamento può essere aggiunta una modesta quantità (1-2 ml) di acqua o soluzione fisiologica sterile.

I liquidi cavitari vanno raccolti in provette con litio eparina o sodio citrato per evitare che coagulino

Modalità di conservazione e trasporto

I campioni dovrebbero essere processati entro poche ore dal momento del loro arrivo in laboratorio; la conservazione è tuttavia possibile a +4°C per un massimo di 2 giorni, periodo per il quale è preservata la vitalità dei micobatteri. Fanno eccezione le emocolture che vanno conservate a temperatura ambiente.

Il congelamento dei campioni è da evitare poiché può diminuire la carica dei micobatteri vitali.

Il trasporto al laboratorio deve essere il più rapido possibile. Per la spedizione si devono seguire le modalità

previste dalla Circolare del Ministero della Salute n° 3 dell'8 maggio 2003. Utili indicazioni sono anche contenute in:

Spedizione sicura di campioni e materiali infetti. In: Manuale di biosicurezza in laboratorio. Annali dell' Istituto

Superiore di Sanità. Supplemento al n° 2, vol. 31, pag. 44-49, 1995.

TIPO DI CAMPIONE	REQUISITI	ISTRUZIONI SPECIALI	CAMPIONI NON IDONEI
BRONCOASPITATO, BAL, ASPIRATO TRANS-TRACHEALE	3 ML	DISINFETTARE ACCURATAMENTE IL BRONCOSCOPIO	
ESPETTORATO	5 ML RACCOLTO AL MATTINO DA ESPETTORAZIONE PROFONDA PER 3 GIORNI CONSECUTIVI	ISTRUIRE IL PAZIENTE SU COME ESPETTORARE CORRETTAMENTE	SALIVA, POOL DI CAMPIONI
ESPETTORATO INDOTTO	5 ML RACCOLTO AL MATTINO PER 3 GIORNI CONSECUTIVI	SPECIFICARE CHE SI TRATTA DI ESPETTORATO INDOTTO	
URINE	LA PRIMA URINA DEL MATTINO OTTENUTA ANCHE MEDIANTE CATERIZZAZIONE, 50 ML PER 3 GIORNI CONSECUTIVI	IL MITTO INTERMEDIO E' SCONSIGLIATO	URINE DELLE 24 H, URINE DA SACCA, VOLUMI < 50 ML
LINFONODO E BIOPSIE	LINFONODO IN CONTENITORE STERILE, SENZA FISSATIVI	AGGIUGERE UNA PICCOLA QUANTITA' DI FISIOLGICA STARILE	CAMPIONI IN FORMALINA
LIQUIDI CAVITARI (PLEURICO, PERICARDICO, PERITONEALE)	10-15 ML IN PROVETTA STERILE CON CITRATO TRISODICO	PER LA DIAGNOSI DI PLEURITE SONO PIU' INDICATI BIOPSIA PLEURICA ED ESPETTORATO INDOTTO	

TIPO DI CAMPIONE	REQUISITI	ISTRUZIONI SPECIALI	CAMPIONI NON IDONEI
ASPIRATO GASTRICO	5-10 ML RACCOLTO AL MATTINO, DOPO ALMENO 8 ORE DI DIGIUNO, PER 3 GIORNI CONSECUTIVI	NEUTRALIZZARE (PH 7) CON CARBONATO DI SODIO.	CAMPIONI NON NEUTRALIZZATI
LIQUOR	2 ML		
MATERIALI DA LESIONI CUTANEE	LA MASSIMA QUANTITA' POSSIBILE	UTILIZZARE TAMPONI SENZA TERRENO DI TRASPORTO AGARIZZATO SOLO SE NON E' POSSIBILE ESEGUIRE IL PRELIEVO CON SIRINGA O BIOSIA	TAMPONI CON TERRENO DI TRASPORTO AGARIZZATO
MATERIALE NECROTICO-ASCESSUALE	LA MASSIMA QUANTITA' POSSIBILE IN SIRINGA CON COPRIAGO	SE NON E' POSSIBILE USARE LA SIRINGA, UTILIZZARE PIU' TAMPONI SENZA TERRENO DI TRASPORTO AGARIZZATO E INSERIRLI IN UN CONTENITORE STERILE CON UNA PICCOLA QUANTITA' DI FISIOLGICA STERILE	
FECI	1 GRAMMO IN CONTENITORE SENZA CONSERVANTI	PER LA DIAGNOSI DI TUBERCOLOSI INTESTINALE RICORRERE AL PRELIEVO BIOTICO	

MODALITA' DI PRELIEVO E TRASPORTO DEI CAMPIONI PER LA RICERCA DI VIRUS INFLUENZALI (ADENOVIRUS, RSV, INFLUENZA A , INFLUENZA B, PARAINFLUENZA) NELLE SECREZIONI NASALI O TRACHEO-BRONCHIALI

LA QUALITA' DEL CAMPIONE E' IL FATTORE CHE DETERMINA L'EFFICACIA E L'AFFIDABILITA' DEL METODO

ASPIRAZIONE NASO-FARINGEA

-Aspirare il secreto naso-faringeo con sondino e versare il muco in un contenitore sterile(contenitore con bocca larga e tappo a vite). Inviare subito in laboratorio o conservare a 2-8°C per 48 h.

PRELIEVO CON TAMPONE

-INSERIRE IL TAMPONE IN UNA NARICE, FACENDOLO AVANZARE MEDIANTE LEGGERA ROTAZIONE , SPINGERE IL TAMPONE FINO AD INCONTRAREUNA RESISTENZA A LIVELLO DEI CONETTI.

-RUOTARE IL TAMPONE PIU' VOLTE CONTRO LA PARETE NASALE

-RIMUOVERE IL TAMPONE ED INSERIRLO IN UNA PROVETTA STERILE CONTENENTE 1 ML DI FISIOLGICA

-INVIARE IL CAMPIONE IMMEDIATAMENTE IN LABORATORIO O CONSERVARLO A 2-8°C PER 48 h

Riferimenti Bibliografici

1. Modalità di prelievo, conservazione ed invio dei campioni per ricerche microbiologiche. Quaderni di Microbiologia Medica. Associazione Microbiologi Clinici Italiani - AMCLI. Biomedica srl, Milano, 1993.
2. Scelta delle indagini microbiologiche in rapporto alla patologia. Quaderni di Microbiologia Medica.
3. Elementi di diagnostica parassitologica. Quaderni di Microbiologia Medica. Associazione Microbiologi Clinici Italiani - AMCLI. Biomedica srl, Milano, 1993.
4. Linee guida MMWR CDC.
5. Linee guida NHS -BSOP- 2006 Emesso da Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Centre for Infections
6. Sorveglianza e controllo delle infezioni ospedaliere. Braga A, Goglio A, Marchiaro G, Moro ML.
7. Consensus sull'iter diagnostico Microbiologico. A. Goglio, M. Amer, A. Callegaro, C. Farina, E. Manso, O. Penza, F. Suter e Gruppo di Studio sulla Diagnostica delle Infezioni