



MANUALE INFORMATIVO DEL DIPARTIMENTO DI MEDICINA DI LABORATORIO PER MEDICI ED OPERATORI SANITARI

S.C. MICROBIOLOGIA

- La S.C. Microbiologia ha sede presso l'Ospedale di Cattinara.
- La S.C. Microbiologia è operativa dal lunedì al venerdì dalle ore 8:00 alle ore 15:00, il sabato dalle ore 8:00 alle ore 14:00.
- E' attivo un servizio di pronta disponibilità diurna festiva di un dirigente dalle ore 8:00 alle ore 20:00.

INDICE

PREMESSA.....	5
PARTE PRIMA.....	6
INTRODUZIONE.....	6
PARTE SECONDA.....	9
1. EMOCOLTURA.....	9
1α. DIAGNOSI RAPIDA CON AMPLIFICAZIONE MOLECOLARE.....	14
2. LIQUIDO CEFALORACHIDIANO.....	15
2α. DIAGNOSI RAPIDA CON AMPLIFICAZIONE MOLECOLARE.....	17
3. LIQUIDI BIOLOGICI DA CAVITÀ STERILI.....	18
4. URINOCOLTURA.....	20
5. COPROCOLTURA.....	25
6. CLOSTRIDIUM DIFFICILE.....	27
6. CAMPIONI DELLE BASSE VIE RESPIRATORIE.....	29
6.1 FIBROSI CISTICA.....	32
7. COLTURA DA ORECCHIO – NASO – GOLA – OCCHIO.....	34
7.1. SECREZIONE AURICOLARE.....	34
7.2. SECREZIONE NASALE.....	35
7.3 ESSUDATO FARINGEO.....	36
7.4. SECREZIONE CONGIUNTIVALE E CORNEALE.....	38
8. COLTURA DA LESIONI DELLA CUTE E DEI TESSUTI MOLLI.....	41
8.1 COLTURA DA ZONE USTIONATE.....	44
8.2 BIOSPIE OSSEE E DA TESSUTI MOLLI IN OSTEOMIELE.....	45
8.3 INFEZIONI CORRELATE A PROTESI ORTOPEDICHE.....	47
9. APPARATO GENITALE.....	49
9.1 TAMPONE VAGINALE - TAMPONE VULVARE - TAMPONE CERVICALE.....	49
9.2 TAMPONI VAGINO-RETTALE PER STR. AGALACTIAE DI GRUPPO B (GBS).....	51
9.3 TAMPONE BALANO – PREPUZIALE.....	52

9.4 TAMPONE URETRALE.....	53
9.5. LIQUIDO SEMINALE	55
9.6 PRELIEVI PER LA RICERCA DI NEISSERIA GONORRHOEAE.....	57
9.7 PRELIEVI PER LA RICERCA DI MICOPLASMI UROGENITALI.....	58
9.8 PRELIEVI PER LA RICERCA DI TRICHOMONAS SPP	59
10. COLTURA DA ALTRI MATERIALI	60
10.1 CATETERI VENOSI CENTRALI (CVC)	60
10.2. FILI DI PACE-MAKER.....	61
PARTE TERZA.....	62
1. RICERCA DERMATOFITI	62
2. RICERCA MICOBATTERI.....	64
3. RICERCA ANTIGENE GALATTOMANNANO	68
4. BIOPSIA PER HELICOBACTER PYLORI.....	70
5. PARASSITOLOGIA FECALE	72
6. SCOTCH-TEST PER RICERCA MIRATA DI ENTEROBIUS VERMICULARIS (Ossiuri)	75
7. QuantIFERON®	76

PREMESSA

Questo manuale nasce dalla revisione del precedente “Manuale informativo del Dipartimento di Medicina di Laboratorio – SC Microbiologia” di AOITS disponibile in Intranet dal dicembre 2013.

Si compone di una parte introduttiva con le indicazioni generali per un corretto prelievo finalizzato all'indagine microbiologica.

La seconda parte – più dettagliata - è stata suddivisa in 10 capitoli nei quali sono riportate le procedure da seguire per la raccolta dei campioni provenienti dai singoli distretti anatomici.

La terza parte è dedicata a ricerche specifiche La terza parte è dedicata a ricerche specifiche (dermatofiti, micobatteri, antigene galattomannano, biopsia per *Helicobacter pylori*, parassitologia fecale e scotch test).

Segue la parte relativa all'esecuzione del test QuantiFERON TB Gold IT.

PARTE PRIMA

INTRODUZIONE

Le indagini microbiologiche hanno lo scopo di isolare e identificare gli agenti responsabili di processi infettivi e di determinarne la sensibilità antibiotica.

La raccolta appropriata di un campione è probabilmente la tappa più importante per l'isolamento di tali microorganismi: un campione raccolto in modo inadeguato può portare al mancato isolamento dell'agente responsabile del processo infettivo oppure il ritrovamento di contaminanti può condurre ad una terapia inadeguata e/o inopportuna.

Un **prelievo corretto** è dunque indispensabile per ottenere **risultati attendibili**.

- La S.C. di degenza o la struttura che effettua il prelievo è responsabile della corretta raccolta del campione, della sua identificazione, della compilazione del modulo di richiesta, dell'inoltro tempestivo alla S.C. di Microbiologia o della conservazione con modalità idonee
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**), una per ogni campione e stampare le etichette.
- Identificare ciascun flacone mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.
- In 'testo quesito' precisare il sito di prelievo, le notizie cliniche, l'eventuale terapia in atto e ogni informazione utile per la valutazione del campione.

- Eventuali ricerche specifiche (*Brucella*, *Yersinia*, ecc.) vanno segnalate in testo quesito.
- I contenitori devono pervenire al Laboratorio ermeticamente chiusi, puliti all'esterno e riposti negli appositi sacchetti: nella parte richiudibile va inserito il campione, le etichette aggiuntive devono accompagnare il campione e vanno inserite nella porzione del sacchetto aperta, non a contatto con il contenitore.
- Deve essere prelevata una quantità di materiale sufficiente per permettere l'esecuzione delle tecniche di coltura richieste
- Devono essere impiegati dispositivi di raccolta e contenitori idonei per garantire un isolamento ottimale
- I prelievi DEVONO ESSERE ESEGUITI STERILMENTE, in modo da evitare la contaminazione con microrganismi che fanno parte della normale flora batterica dei vari distretti anatomici. I campioni devono essere inviati quanto prima al Laboratorio o conservati secondo le indicazioni fornite per ciascun tipo di materiale: il ritardo nella consegna può comportare risultati "falsi negativi" (perdita di vitalità per i batteri patogeni) o "falsi positivi" (sovracrescita di flora contaminante)
- I tempi di refertazione riportati hanno valore indicativo: particolari condizioni come la presenza di colture miste, una crescita lenta dei germi isolati oppure la necessità di eseguire test aggiuntivi potrebbero ritardare l'esito dell'indagine
- L'esame microbiologico va richiesto – se possibile - prima della somministrazione di farmaci atti a neutralizzare il microrganismo (chemioantibiotici): la presenza del farmaco nel materiale da esaminare può inibire la crescita microbica *in vitro* anche se l'infezione è ancora in atto
- Se il paziente è già sottoposto a trattamento antimicrobico è importante informare il Laboratorio, segnalando la terapia in corso.

Il tutto può essere così sintetizzato:

SETTE REGOLE PER UN CORRETTO PRELIEVO

- 1. RACCOGLIERE I CAMPIONI BIOLOGICI POSSIBILMENTE PRIMA DELL'INIZIO DELLA TERAPIA CHEMIOANTIBIOTICA**
- 2. EFFETTUARE IL PRELIEVO DALLA SEDE ANATOMICA DEL PROCESSO INFETTIVO**
- 3. EVITARE OGNI CONTAMINAZIONE DEL CAMPIONE (PRELIEVO IN ASEPSI)**
- 4. RACCOGLIERE UNA QUANTITÀ DI MATERIALE SUFFICIENTE ALLE INDAGINI MICROBIOLOGICHE**
- 5. UTILIZZARE CONTENITORI APPROPRIATI**
- 6. DOPO AVER COMPILATO LA PRENOTAZIONE IN ORDER ENTRY E STAMPATO LE ETICHETTE, IDENTIFICARE ADEGUATAMENTE I CAMPIONI BIOLOGICI MEDIANTE L'APPLICAZIONE DELL'ETICHETTA CON LE INFORMAZIONI RELATIVE AL PAZIENTE, QUINDI ESEGUIRE IL CHECK OUT**
- 7. EFFETTUARE TEMPESTIVAMENTE IL TRASPORTO DEI CAMPIONI AL LABORATORIO**

PARTE SECONDA

1. EMOCOLTURA

- ✓ Si definisce **sepsi** una condizione sistemica espressione della risposta della risposta dell'ospite ad un infezione che conduce ad una disfunzione d'organo.
- ✓ L'emocoltura è il gold standard nella diagnosi microbiologica della sepsi e/o di febbre di origine ignota. Rappresenta, nella sua gestione "ragionata", un importante contributo del microbiologo nella gestione del fenomeno sepsi in tutte le sue manifestazioni (incluse: le endocarditi, le infezioni correlate a cateteri, le febbri di origine ignota, ovvero le sepsi secondarie ad infezioni localizzate come la polmonite, l'artrite settica, le infezioni gravi di cute e tessuti molli e le infezioni endoaddominali complicate).

MODALITÀ DI PRELIEVO

REGOLE GENERALI

- Eseguire ALMENO DUE set di emocolture al brivido o al picco febbrile e/o se paziente ipotermico.
- In presenza di linee venose centrali (catetere venoso centrale, catetere venoso per dialisi, infuse a port- IAP- PICC o Midline) eseguire un set di emocolture da ogni via del catetere e un set da vaso periferico.

- Nel sospetto di sepsi CVC relata, richiedere il *time to positivity*.
- I prelievi dovrebbero essere effettuati simultaneamente (o distanziati di 5-15' l'uno dall'altro) alla comparsa della febbre o comunque in caso di sospetto clinico di sepsi e possibilmente prima dell'inizio della terapia.
- Nel caso sepsi a partenza da focolai infettivi coinvolgenti organi e spazi (es. ascessi) o corpi estranei (es. infezioni correlate a materiale protesico) è indicato un adeguato *source control*. Al fine di individuare il focus primario d'infezione, si rimanda alle raccomandazioni delle sezioni diagnostiche dei documenti specifici per organo e apparato.
- Non è indicata la ripetizione degli esami colturali in corso di terapia e/o al termine della stessa a meno di peggioramento clinico e/o mancata risposta alla terapia.

PROCEDURA

Durante il prelievo è necessario il rigoroso rispetto delle norme di asepsi in modo da ridurre al minimo la probabilità di contaminazione. Il tasso di contaminazione atteso è di circa il 3%.

- Il tappo dei flaconi non è sterile e quindi deve essere disinfettato con lo stesso prodotto usato per l'antisepsi della cute, lasciando agire per lo stesso tempo, e ovviamente subito prima del prelievo.
- I guanti devono sempre essere indossati a protezione dell'operatore.
- Individuare il sito di prelievo.
- Pulire l'area cutanea identificata con tecnica spirale, per 7-8 cm di diametro, con clorexidina > 0,5% a base alcolica, e lasciar asciugare.
- Disinfettare la cute lasciando in sede un impacco con clorexidina in soluzione alcolica 0,5% per almeno 30"; in alternativa usare tintura di iodio, sempre per 30"; evitare l'uso di iodio-povidone (richiede tempi d'azione superiori al 1' e 30").

- Lasciare asciugare l'antisettico, senza rimuoverne l'eccesso con garza. Se si usa la tintura di iodio, pulire la cute dopo il prelievo. La clorexidina non può essere usata nei bambini di età inferiore ai due mesi (anche se alcuni studi recenti ne suppongono l'uso a concentrazione pari allo 0.5% anziché 2).
- Collegare il cappuccio dell'adattatore di raccolta al *luer lock* del set di prelievo.
- Effettuare il prelievo senza toccare con le dita la zona disinfettata in precedenza, introducendo l'ago a farfalla e procedendo al riempimento dei flaconi con 5-10 ml di sangue (nei flaconi pediatrici 1-5 ml), controllare la quantità prelevata mediante le linee di riferimento poste sull'etichetta del flacone, i nuovi flaconi presentano sull'etichetta l'indicazione del volume corretto (VEDI FOTO). **NOTA:** la quantità di sangue è critica, quantitativi superiori o inferiori riducono la sensibilità del test.



- Agitare delicatamente.
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare ciascun flacone mediante l'applicazione dell'etichetta (verticalmente, a fianco del barcode del flacone VEDI FOTO) con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.
- Inviare **IMMEDIATAMENTE** le bottiglie correttamente identificate al Laboratorio di Microbiologia, Se necessario conservarle a temperatura ambiente e comunque inviare al laboratorio il prima possibile. I flaconi per emocoltura non devono mai essere refrigerati a 4°C.
- **NOTA BENE: In caso di emocolture eseguite in pazienti portatori di linee venose centrali, AL DI FUORI DEL NORMALE ORARIO DI APERTURA della S.C. Microbiologia (dal lunedì al venerdì dalle 8 alle 15, sabato dalle ore 8 alle 14) i campioni DEVONO PERVENIRE IMMEDIATAMENTE al Laboratorio di URGENZA dell'Ospedale di Cattinara: l'immediato inserimento nella strumentazione è fondamentale per la corretta valutazione del Time to Positivity.**
- In caso di prelievi seriati è necessario precisare l'ora esatta del prelievo in Testo quesito al momento della prenotazione.



PROTOCOLLI DI PRELIEVO CONSIGLIATI:

- Nei casi di **endocardite acuta** valgono le stesse considerazioni ma la ripetizione può essere utile per monitorare il successo terapeutico. Nelle **endocarditi subacute** sono consigliati tre set di emocolture in 30- 60'ed in caso di negatività altri 3 set dopo 24h.

1. **sospetta sepsi, meningite, osteomielite, artrite, polmonite, endocardite acuta:** almeno 2, non più di 3 set nell'arco di 15-30 minuti.

2. **sospetta endocardite, sepsi ed altre cause di batteriemia in paziente sotto trattamento antibiotico:** due prelievi diversi nell'arco di 30-60 minuti per tre giorni consecutivi e lontano dalla somministrazione del farmaco.

Segnalare il sospetto di endocardite nel testo quesito (l'incubazione verrà prolungata a 14 giorni).

Segnalare il sospetto di candidemia/candidiasi nel testo quesito (l'icubazione verrà prolungata a 10 giorni).

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Due flaconi dedicati – uno per la ricerca di microrganismi aerobi uno per gli anaerobi– per ogni prelievo, da conservare a temperatura ambiente prima dell'uso.

Si eseguono di routine le seguenti ricerche:

- Batteri aerobi comuni
- Miceti
- Batteri anaerobi

Tempi di refertazione:

campione negativo: 5 giorni (7 per pazienti pediatrici)

campione positivo: 1-7 giorni

Per richieste specifiche (segnalate nel testo quesito) l'incubazione verrà prolungata :

- **nel sospetto di endocardite: 16 giorni**
- Per la ricerca di **Criptococcus** e miceti lieviti formi l'incubazione sarà prolungata a 10 giorni.
- In caso di richiesta specifica di **Brucella** l'incubazione sarà di 15 giorni.

1a. DIAGNOSI RAPIDA CON AMPLIFICAZIONE MOLECOLARE

In caso pazienti in shock settico può essere effettuata la dei principali agenti patogeni su campione di EMOCOLTURA POSITIVA ricerca mediante *multiplex PCR*.

La richiesta di test molecolare va segnalata e concordata con il Dirigente della SC Microbiologia, sulla base del sospetto clinico.

Vengono rilevati:

- ✓ Batteri Gram Positivi: *Enterococcus* spp, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus piogene*, *Streptococcus* spp.;
- ✓ Batteri Gram negativi: *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter cloacae* complex, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* spp. *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Pseudomonas aeruginosa*;
- ✓ Miceti: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*;
- ✓ Meccanismi di resistenza: KPC, *mecA*, *vanA/B*

Tempi di refertazione:

3 ore

La multiplex PCR viene eseguita da lunedì a sabato (non è disponibile nei giorni festivi); i campioni pervenuti da lunedì a sabato entro le ore 14 verranno processati in giornata (il test richiede circa 1 ora); dopo tale termine verranno processati la mattina seguente.

2. LIQUIDO CEFALORACHIDIANO

Le meningiti infettive rappresentano l'espressione clinica ed anatomopatologica di un processo infiammatorio a carico delle leptomeningi (costituite esternamente dall'aracnoide e internamente dalla pia madre), provocato da un agente patogeno (virus, battere, micete, protozoo).

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Provette o contenitori sterili con tappo a vite a fondo conico.

MODALITÀ DI PRELIEVO

- Il liquor deve essere **prelevato in asepsi**.
- Disinfettare la cute con iodopovidone o clorexidina, lasciando poi in sede un impacco per almeno 2 minuti.
- Introdurre l'ago sterile monouso nello spazio tra la 4^a e la 5^a vertebra lombare.
- Ritirare il mandrino e raccogliere il liquor in provette o contenitori sterili. La suddivisione sequenziale in tre aliquote consente di ridurre progressivamente la contaminazione con sangue proveniente dai tessuti perforati durante l'esecuzione della puntura lombare.
- Chiudere la/e provetta/e e sfilare l'ago dopo aver reinserito il mandrino.
- In caso di sospetta infezione post-chirurgica o nosocomiale in pazienti portatori di *derivazione ventricolare esterna o altre derivazioni* (derivazione spinale, liquor ventricolare da reservoir sotto lo scalpo, liquor da puntura sottoccipitale, liquor da ventricolo in sede operatoria, ecc.) il liquido cefalo-rachidiano può essere prelevato anche da questa sede secondo le seguenti modalità: Rimuovere il tampone che avvolge la punta del deflussore della derivazione, porre in corrispondenza della punta del deflussore una 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, introdurre il deflussore in una nuova "flebetta".
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.

- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.
- Inviare il contenitore correttamente identificato con le etichette allegate al Laboratorio, . **In caso di consegna al di fuori dell'orario di apertura della S.C. di Microbiologia, il campione deve essere consegnato al Laboratorio di Urgenza dell'Ospedale di Cattinara.**

Si eseguono di routine le seguenti ricerche:

- *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*
- Germi comuni
- Miceti

Ricerche specifiche:

1. Per la ricerca di **batteri** mediante **amplificazione molecolare** vedi la sezione specifica.
2. per la ricerca di **micobatteri** vedi la sezione specifica; *order entry* Microbiologia polmonare; compilare il modulo dedicato scaricabile da Intranet.

2a. DIAGNOSI RAPIDA CON AMPLIFICAZIONE MOLECOLARE

In caso di sospetto di meningite/encefalite (**non postchirurgica**) può essere effettuata la ricerca diretta su liquor mediante *multiplex PCR* dei principali agenti etiologici di meningite ed encefalite.

La richiesta di test molecolare per meningite va segnalata e concordata con il Dirigente della SC Microbiologia, sulla base del sospetto clinico.

Vengono rilevati:

- 6 batteri (*Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* K1);
- 7 Virus (*Cytomegalovirus* (CMV), *Enterovirus*, *Herpes simplex virus 1* (HSV-1) e 2 (HSV-2), *Human herpesvirus 6* (HHV-6), *Human parechovirus*, *Varicella zoster virus* (VZV));
- *Cryptococcus neoformans/gattii*.

Tempi di refertazione:

3 ore

La multiplex PCR viene eseguita da lunedì a sabato (non è disponibile e nei giorni festivi); i campioni pervenuti da lunedì a sabato entro le ore 14 verranno processati in giornata (il test richiede circa 1 ora); dopo tale termine verranno processati la mattina seguente.

3. LIQUIDI BIOLOGICI DA CAVITÀ STERILI

- LIQUIDO PLEURICO
- LIQUIDO PERICARDICO
- LIQUIDO PERITONEALE/ASCITICO
- LIQUIDO ARTICOLARE/SINOVIALE
- LIQUIDO AMNIOTICO
- BILE
- LIQUIDO DA DIALISI PERITONEALE

NOTA: i liquidi raccolti da drenaggio in siti chirurgici rappresentano raramente un campione idoneo per una corretta valutazione microbiologica.

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Provette o contenitori sterili con tappo a vite.

MODALITÀ DI PRELIEVO

- Disinfettare la cute con iodopovidone o clorexidina una prima volta e poi con un impacco per 2 minuti.
- Prelevare con siringa sterile 6-10 mL di materiale.
- Trasferire il contenuto della siringa nel contenitore sterile.
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.

- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.
- Inviare quanto prima il materiale in Laboratorio. Se ciò non fosse possibile, conservare a +4°C per un massimo di 24 ore.

NOTE: Per **LIQUIDO PLEURICO, LIQUIDO PERITONEALE/ASCITICO, LIQUIDO ARTICOLARE/SINOVIALE, BILE (DA PRELIEVO INTRAOPERATORIO):** se possibile inoculare anche 2 flaconi da emocoltura con almeno 1 mL di liquido seguendo la procedura descritta nella sezione Emocoltura.

Si eseguono di routine le seguenti ricerche:

- Germi comuni
- Miceti
- Germi anaerobi

Tempi di refertazione:

campione negativo 5 giorni

campione positivo 2-6 giorni

4. URINOCOLTURA

L'urinocoltura è un'indagine utilizzata per accertare lo sviluppo di microrganismi che possono essere responsabili di infezioni delle vie urinarie. La diagnosi di infezione delle vie urinarie è una diagnosi clinica, basata sul rilievo di segni e sintomi specifici, e non sulla ricerca di batteriuria e/o leucocituria.

RACCOMANDAZIONI PER IL PRELIEVO

- l'esame colturale delle urine NON è di regola necessario nella gestione delle infezioni non complicate delle vie urinarie;
- la punta del catetere vescicale e le urine raccolte dalla sacca connessa al catetere permanente o da urino **NON** rappresentano un campione idoneo per la diagnosi microbiologica;
- la presenza di urine maleodoranti o torbide in assenza di altri segni clinici o bioumorali, **NON** è un criterio per eseguire un'urinocoltura o avviare trattamento antibiotico;
- nei pazienti portatori di CV NON è indicata l'esecuzione routinaria di urinocoltura. L'urinocoltura può essere considerata in presenza di:
 - febbre di nuova insorgenza, alterazioni del sensorio o sopore, malessere generale senza altra spiegazione;
 - ematuria di nuova insorgenza;
 - discomfort pelvico;
 - peggioramento della spasticità o della disreflessia autonoma nei pazienti con lesioni midollari;
- nelle infezioni correlate a CV, è indicata la rimozione dello stesso o in caso di CV a permanenza, la sua sostituzione;
- lo screening e il trattamento della batteriuria asintomatica SONO raccomandati SOLO nella donna gravida e prima di interventi chirurgici urologici,
- lo screening e il trattamento della batteriuria asintomatica NON sono MAI raccomandati nelle seguenti categorie:
 - donne in età pre-menopausale non gravide;

- donne diabetiche;
- soggetti anziani che vivono in comunità;
- soggetti con lesioni spinali /midollari;
- soggetti con CV in situ.

MODALITÀ DI PRELIEVO

Per ridurre il fenomeno della contaminazione del campione e dei “falsi positivi” è raccomandata la scrupolosa raccolta delle urine con la tecnica del **mitto intermedio**.

- per evitare di analizzare campioni di urine troppo diluiti si raccomanda, quando possibile, la raccolta del primo campione del mattino.

In casi clinici particolari è opportuno contattare direttamente il Laboratorio per concordare le modalità di raccolta e le possibili ricerche:

- cistiti recidivanti, con urinocoltura persistentemente negativa
- ripetuto isolamento di flora mista
- sospetta sindrome uretrale
- prelievo da puntura sovrapubica (indicata quando la diagnosi sia critica e non sia possibile con le altre modalità di raccolta, nei bambini o pazienti con lesioni spinali: è la sola modalità di raccolta che consenta la diagnosi di infezione da anaerobi).

URINA DA MITTO INTERMEDIO

Informare il paziente delle corrette modalità di raccolta.

I campioni urinari devono essere raccolti preferibilmente al mattino o tre ore dopo l'ultima minzione.

- lavare con cura le mani con acqua e sapone (non usare antisettici!), risciacquare e asciugare.
- lavare con cura i genitali esterni, con acqua e sapone (non usare antisettici!), poi asciugare con una salviettina pulita:

- per pazienti di sesso *maschile*: retrarre il prepuzio, lavare l'orifizio uretrale e la zona circostante, quindi sciacquare e asciugare.
- 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.
- 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.
- proseguire come di seguito indicato a seconda del sesso del paziente.
- urinare (la donna, divaricando con le dita le grandi labbra della vulva; i maschi, tenendo represso il glande), scartare nella tazza del W.C. la prima parte delle urine emesse (se fosse richiesto anche l'esame completo delle urine: raccogliere il primo mitto urinario nell'apposita provetta).
- raccogliere direttamente nell'apposito contenitore sterile la seconda parte delle urine emesse.
- chiudere immediatamente il contenitore, avvitando con cura il tappo ed evitando di toccarne l'interno.
- raccordare al contenitore la provetta sterile sottovuoto ed attendere il riempimento della provetta scartare il contenitore.

SISTEMA PER LA RACCOLTA DELLE URINOCOLTURE



- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare la provetta mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.

- Inviare il contenitore correttamente identificato con le etichette allegate al Laboratorio entro un'ora dalla raccolta, conservandolo a temperatura ambiente; se necessario conservare le urine in frigorifero + 4°C (non in congelatore!) e comunque inviare al laboratorio il prima possibile.

URINA DA CATETERE ESTEMPORANEO

- verificare la presenza del globo vescicale.
- lavare accuratamente con acqua e sapone (non con antisettici!) la regione dell'uretra; poi sciacquare con acqua e asciugare.
- introdurre sterilmente il catetere dopo avere indossato guanti sterili.
- lasciare defluire la prima parte delle urine, eliminandola in un contenitore destinato allo scarto. Se fosse richiesto anche l'esame completo delle urine, raccogliere la prima parte delle urine provetta.
- procedere alla raccolta delle urine successive nell'apposito contenitore sterile e seguire poi la procedura di trasferimento nella provetta descritta per la raccolta delle urine da mitto intermedio.
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.

- Identificare la provetta mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.

- Inviare il contenitore correttamente identificato con le etichette allegate al Laboratorio entro un'ora dalla raccolta, conservandolo a temperatura ambiente; se necessario conservare le urine in frigorifero + 4°C (non in congelatore!) e comunque inviare al laboratorio il prima possibile.

URINA DA CATETERE PERMANENTE

- non sconnettere mai il catetere per raccogliere le urine.
- clampare il catetere immediatamente a valle del dispositivo di prelievo.
- disinfettare il dispositivo del catetere predisposto per il prelievo.
- raccordare sterilmente alla siringa sterile monouso da 5 mL l'ago sottile (23-25G).
- inserire l'ago nell'apposito dispositivo ed aspirare delicatamente 2-3 mL di urine.

- rimuovere l'ago e trasferire le urine nell'apposito contenitore sterile.
- chiudere immediatamente il contenitore, avvitando con cura il tappo ed evitando di toccarne l'interno.
- togliere la pinza clamp.
- seguire poi la procedura di trasferimento nella provetta descritta per la raccolta delle urine da mitto intermedio
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare la provetta mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.
- Inviare il contenitore correttamente identificato con le etichette allegate al Laboratorio entro un'ora dalla raccolta, conservandolo a temperatura ambiente; se necessario conservare le urine in frigorifero + 4°C (non in congelatore!) e comunque inviare al laboratorio il prima possibile.

Si eseguono di routine le seguenti ricerche:

- Germi comuni
- Miceti

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Contenitori sterili per la raccolta delle urine colture (vedi immagini)

Tempi di refertazione:

campione negativo 1 giorno

campione positivo 2-5 giorni

5. COPROCOLTURA

Il termine **enterite** viene utilizzato per indicare uno stato infiammatorio a carico dell'intestino tenue.

Si definisce dissenteria una sindrome caratterizzata da diarrea ricca di muco e frequentemente di sangue. La diarrea può essere definita come disturbo dell'alvo legato ad un'alterazione della funzionalità intestinale: tale disturbo si manifesta con una diminuzione di consistenza delle feci (feci non formate, molli, liquide), legata ad un incremento del volume e del contenuto d'acqua, e/o con un incremento della frequenza di scariche (≥ 3 al giorno).

L'IDSA (Infectious Diseases Society of America) e l'ACG (American College of Gastroenterology) definiscono la diarrea come condizione caratterizzata da 3 o più episodi di emissione di feci non composte o liquide al giorno. L'emissione frequente di feci composte non è da considerarsi diarrea.

In relazione alla durata, la diarrea acuta è riconducibile ad un episodio con sintomatologia di durata inferiore a 14 giorni, mentre la diarrea persistente è quella di durata superiore a 14 giorni; per alcuni autori una diarrea superiore a 30 giorni andrebbe definita come cronica.

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Contenitore sterile con paletta per coprocultura

MODALITÀ DI PRELIEVO

- Le feci diarroiche vanno raccolte dopo la loro emissione in quantità sufficiente (0,5-2 g., 5-10 ml). I campioni andrebbero raccolti prima dell'assunzione di antimicrobici.
- Il campione fecale non deve essere contaminato da urina. Il materiale deve essere raccolto nel momento acuto del processo infettivo e devono essere scelte le parti eventualmente contenenti pus o sangue.
- L'indagine mediante tampone rettale (raccolto con l'introduzione del tampone nell'orifizio anale) va riservata alla ricerca di Shigella, Salmonella (portatori)
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.

È importante consegnare tempestivamente il campione per garantire la vitalità dei microrganismi. Se ciò non fosse possibile i campioni potranno essere conservati in frigorifero (non in congelatore), al massimo per **due** ore.

<p>Si eseguono di routine le seguenti ricerche:</p> <ul style="list-style-type: none">• <i>Salmonella spp.</i>• <i>Shigella spp.</i>• <i>Campylobacter spp.</i>	<p>Su richiesta specifica:</p> <ul style="list-style-type: none">• <i>Escherichia coli</i> O157• <i>Yersinia enterocolitica</i>• <i>Vibrio cholerae</i>• <i>Aeromonas spp</i>• Miceti
--	--

Tempi di refertazione:

campioni negativi 2 giorni

campioni positivi 2-5 giorni

6. CLOSTRIDIUM DIFFICILE

Vengono effettuate la ricerca rapida dell'antigene glutammato deidrogenasi GDH e, sui campioni positivi, la ricerca delle tossine mediante metodica in biologia molecolare.

Indicazioni

La ricerca è indicata in:

- pazienti ricoverati che presentano diarrea insorta dopo almeno 2 giorni di ricovero, oppure diarrea insorta entro le prime 48 ore, se dimessi da un ospedale da non più di 4 settimane o se provenienti da RSA o case protette.
 - pazienti ambulatoriali con diarrea dimessi da un ospedale da non più di 4 settimane o provenienti da RSA o case protette.
 - pazienti con diarrea grave n.d.d.
-
- La ricerca di C. difficile tossinogenico va eseguita esclusivamente su campioni di feci ottenute in corso di diarrea, cioè da feci diarroiche che assumono la forma del contenitore (scala di Bristol 5-7), quindi su campioni di feci non formate. Solo in caso di sospetto ileo paralitico da C. difficile si effettua la ricerca su feci formate.
 - Non effettuare la ricerca nei campioni di feci di soggetti asintomatici.
 - Sospendere la ricerca delle tossine di C. difficile su campioni fecali non appena viene accertata la diagnosi.
 - Non effettuare test dopo il trattamento a conferma della guarigione. Quando si sospetta una recidiva, ripetere il test per C. difficile, ma escludere anche altre cause possibili di diarrea.
 - **Di norma l'esame su un campione è sufficiente; a fronte di un primo risultato negativo in presenza di forte sospetto clinico di infezione da C. difficile può essere utile ripetere l'indagine, informando il laboratorio di Microbiologia che potrebbe utilizzare un diverso iter diagnostico.**

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Contenitore sterile con paletta per coprocultura.

MODALITÀ DI PRELIEVO:

- Comunicare all'accettazione l'eventuale terapia antibiotica in atto.
- I campioni devono essere raccolti in una padella (o superficie) asciutta e pulita.
- Trasferire quindi mediante l'apposita paletta una piccola quantità (5-10 ml di materiale fecale costituito da feci diarroiche che assumono la forma del contenitore –scala di Bristol 5-7) nel contenitore.
- Scrivere sul contenitore nome e cognome e data di prelievo.
- Consegnare il campione subito dopo la raccolta (massimo entro un'ora).
- Trasportare a temperatura ambiente, non congelare.
- Per i campioni urgenti in orario di chiusura del Laboratorio: conservare le feci in frigorifero a 2-8°C (non congelare) per un massimo di 48 ore.
- Trasportare i contenitori negli appositi sacchetti a doppio comparto oppure nei contenitori rigidi a chiusura ermetica.

Tempo di refertazione:

1 giorno

6. CAMPIONI DELLE BASSE VIE RESPIRATORIE

- Broncoaspirato
- BAL
- Brushing protetto
- Espettorato

Le infezioni delle basse vie respiratorie comprendono la polmonite, quando c'è infiammazione del parenchima polmonare, ma anche altre infezioni come le bronchioliti, ascessi polmonari, qualora il parenchima sia rimpiazzato da cavità con pus, e l'empima, se il pus ha invaso la cavità pleurica.

L'isolamento di patogeni riconoscibili come agente eziologica di polmonite dipende da:

- Idoneità del campione inviato: campioni pervenuti vengono in prima battuta valutati per **accertarne l'idoneità** mediante preparazione di un vetrino e colorazione di Gram e determinazione di Quality-score (Q-score, vedi tabella), che tiene conto del numero di leucociti e cellule squamose presenti per campo.
- Assenza di contaminazione di flora commensale delle alte vie.
- Trattamenti antibiotici recenti o in corso.
- A questo proposito è importante **notare che:**
 - Il tracheoaspirato ottenuto da aspirazione superficiale dalla tracheostomia non rappresenta un materiale idoneo per esame microbiologico;
 - l'esame colturale dell'espettorato, anche quando la raccolta sia gestita correttamente, ha uno scarso valore predittivo positivo;
 - nei pazienti portatori di tracheostomia non è indicata l'esecuzione routinaria dell'esame colturale delle secrezioni respiratorie.

Q SCORE (inidoneità del campione: Q score ≤ 0)

	Numero /campo	punteggio
leucociti	0	0
	1-9 (+)	+1
	10-24 (++)	+2
	>25 (+++)	+3
cellule epiteliali squamose	0	0
	1-9 (+)	-1
	10-24 (++)	-2
	>25 (+++)	-3

MODALITÀ DI PRELIEVO

- il campione dovrebbe essere raccolto prima dell'inizio della terapia antimicrobica e con la supervisione di un operatore sanitario;
- i pazienti dovrebbero sciacquarsi la bocca prima di produrre l'espettorato;
- il campione dovrebbe provenire dalle basse vie aeree; l'escreato dovrebbe essere purulento, con minima contaminazione salivare;
- l'espettorato indotto da inalazione di soluzione salina ipertonica è utile soprattutto in pazienti che non possono espettorare spontaneamente;
- nel sospetto di polmonite ad eziologia micobatterica o fungina, è necessario raccogliere tre campioni del mattino.
- Nel caso il paziente non fosse in grado di espettorare autonomamente è possibile eseguire:
 - **espettorato indotto**, ottenuto dopo aver sottoposto il paziente a manovre di fisioterapia e/o dopo inalazione, con l'ausilio di un nebulizzatore ultrasonico, di 20-30 mL di soluzione salina ipertonica;
 - **espettorato protetto**, ottenuto dopo inserimento tra guance e gengive di cilindretti di cotone sterile per bloccare la secrezione salivare dal dotto di Stenone;
 - **espettorato indotto protetto** combinando le due ultime modalità di raccolta;

- La raccolta mediante: **aspirato o lavaggio tracheo-bronchiale, aspirato trans cricoideo, aspirato da tracheotomia, lavaggio bronco-alveolare** è di competenza del Medico Specialista;
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette;
- Identificare la provetta mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**;
- I campioni biologici dovrebbero essere trasportati immediatamente al laboratorio di microbiologia (intervalli di tempo > 2-5 ore tra la raccolta e l'incubazione del materiale sono possibile causa di falsi negativi, e favoriscono lo sviluppo di flora commensale a svantaggio di alcuni agenti patogeni quali *S. pneumoniae*, *S.aureus*, bacilli Gram-).

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Contenitori sterili con tappo a vite

Si eseguono di routine le seguenti ricerche:

- Germi comuni
- Miceti
- *Haemophilus spp*
- *Streptococcus pyogenes*
- *Streptococcus pneumoniae*

Cut off di significativà:

- Espettorato: 1.000.000 CFU/ml
- Broncoaspirato: 100.000 CFU/ml
- BAL: 10.000 CFU/ml
- Brushing protetto: 1000 CFU/ml

Tempi di refertazione:

campione negativo 2 giorni

campione negativo per miceti filamentosi: 10 giorni

campione positivo 3-5 giorni

NOTA

Ricerche specifiche: Nel sospetto di un'infezione da **Nocardia** o **Rhodococcus** informare il Laboratorio per un allungamento dei tempi di osservazione (10 giorni).

6.1 FIBROSI CISTICA

Categoria a sé è quella dei soggetti con patologie croniche del polmone quali la fibrosi cistica. A motivo di un difetto congenito del Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR), la fibrosi cistica si caratterizza per l'alterato trasporto di ioni e l'eccessiva produzione di muco, che previene la clearance dei microrganismi che si moltiplicano all'interno delle vie aeree. La colonizzazione evolve con formazione di biofilm e cronicizzazione e deterioramento della funzionalità respiratoria. *Haemophilus influenzae* e *S. aureus* sono i primi colonizzanti in età pediatrica mentre *P. aeruginosa* segue convertendosi nelle forme "mucoide" e "Small Colony Variants" (SCV). Il complesso *Burkholderia cepacia* è patogeno meno frequente ma impegnativo dal punto di vista terapeutico e prognostico. Occorre tenere in considerazione il ruolo dei micobatteri non tubercolari del *M. avium* complex ovvero quelli a rapida crescita come *M. abscessus*. I soggetti affetti da fibrosi cistica, infine, sono predisposti ad infezione da miceti filamentosi jalini (*Aspergillus* spp) e dematiacei (*Scedosporium apiospermum*).

Campioni idonei per pazienti con Fibrosi Cistica:

- espettorato
- BAL
- Aspirato ipofaringeo: per il monitoraggio microbiologico dei pazienti non espettoranti è accettato l'aspirato ipofaringeo, effettuato dopo seduta fisioterapica, stimolando il colpo di tosse;
- tampone faringeo: i risultati sono caratterizzati da scarsa sensibilità, tuttavia se eseguito correttamente stimolando il colpo di tosse riflette con una certa fedeltà la flora microbica presente nelle basse vie respiratorie.

7. COLTURA DA ORECCHIO – NASO – GOLA – OCCHIO

7.1. SECREZIONE AURICOLARE

Le indagini microbiologiche consentono l'accertamento eziologico di otite esterna, otite media suppurativa, acuta o cronica (solo in caso di rottura del timpano con fuoriuscita di essudato) e otite cronica (in quest'ultimo caso può risultare difficile distinguere i patogeni responsabili del processo infettivo in atto dai contaminanti).

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Tamponi con terreno di trasporto

MODALITÀ DI PRELIEVO

- procedere in condizioni asettiche;
- rivolgere il paziente verso una sorgente appropriata di illuminazione, per visualizzare la sede ove operare il prelievo;
- 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;
- accertarsi che sul tampone sia presente materiale di secrezione o essudazione;
- riporre il tampone nel contenitore con l'apposito terreno di trasporto;
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.
- i campioni dovranno essere inoltrati nel più breve tempo possibile (per garantire la vitalità dei batteri esigenti, in particolare di *Haemophilus spp.*). Ove ciò non fosse possibile, conservare il tampone (massimo 24 ore) a temperatura ambiente.

Si eseguono di routine le seguenti ricerche:

- Germi comuni
- Miceti

Tempi di refertazione:

campione negativo 2 giorni

campione positivo 2-5 giorni

7.2. SECREZIONE NASALE

- **ASPIRATO DAI SENI NASALI**
- **WASHOUT DA SENI NASALI**
- **TAMPONI NASALI**

NOTA: i tamponi nasali NON sono campioni idonei per idonei per la diagnosi di sinusite, possono essere utilizzati solo per lo screening preoperatorio di *Staphylococcus aureus* Meticillino-resistente (MRSA).

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Tamponi sterili con terreno di trasporto

MODALITÀ DI PRELIEVO

- eseguire la raccolta dei campioni in condizioni asettiche.
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.
- i campioni dovranno essere inviati prima possibile al Laboratorio. Qualora ciò non fosse possibile conservare i tamponi a temperatura ambiente e gli altri campioni a +4°C per non più di 24 ore,.

Si eseguono di routine le seguenti ricerche:

- Per sinusiti comunitarie: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pyogenes* (gruppo A) , other a-haemolytic streptococci, *Moraxella catarrhalis* , batteri anaerobi, miceti filamentosi
- Per sinusiti nosocomiali: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter species* e *Proteus mirabilis*.
- Per altre indagini è necessario prendere contatti direttamente con il Laboratorio.

Tempi di refertazione:

campione negativo 2 giorni

campione positivo 2-5 giorni

7.3 ESSUDATO FARINGEO

I campioni prelevati in gola servono ad indagare le infezioni delle vie aeree alte, che sono:

- La faringite (acuta o cronica)
- La tonsillite
- L'epiglottite
- La laringite

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Tampone con terreno di trasporto

MODALITÀ DI PRELIEVO

- per il tampone faringeo guidare il tampone fino alla parte posteriore del faringe avendo cura di non toccare la lingua, le arcate dentarie, il velopendolo e le pareti laterali del cavo orale
- strisciare il tampone tra i pilastri tonsillari premendo sulle cripte tonsillari
- riporre il tampone nel contenitore con il terreno di trasporto.
- Il campione può essere conservato per un massimo di 24 h a temperatura ambiente

Le indagini microbiologiche su essudato faringeo sono di norma indirizzate alla ricerca di:

- *Streptococcus pyogenes* (*Streptococco beta-emolitico di gruppo A*).
- Le indagini per diagnosi di faringite cronica, tonsillite, epiglottide e laringite devono essere concordate con il Laboratorio e il sospetto clinico deve essere riportato in Testo quesito.

NOTA: Nel caso di ricerca mirata di ***Neisseria gonorrhoeae*** è fondamentale l'**inoltro immediato** del campione al Laboratorio.

Tempi di refertazione:

campione negativo 2 giorni

campione positivo 2-5 giorni

7.4. SECREZIONE CONGIUNTIVALE E CORNEALE

- **TAMPONI CONGIUNTIVALI**
- **TAMPONI CORNEALI**
- **SCRAPING CORNEALE**
- **PUS CANALICOLARE**
- **UMOR ACQUEO E VITREO**
- **LENTI A CONTATTO**
- **LIQUIDO DI LAVAGGIO DI LENTI A CONTATTO**

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Tamponi con terreno di trasporto

MODALITÀ DI PRELIEVO

TAMPONE CONGIUNTIVALE O CORNEALE

- allontanare la palpebra dal bulbo oculare traendola delicatamente verso l'operatore;
- raccogliere le secrezioni mediante tampone;
- restrarre il tampone senza toccare le palpebre o le ciglia. In caso contrario ripetere la procedura;
- riporre il tampone nel contenitore con l'apposito terreno di trasporto;
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**
- Inviare tempestivamente il materiale al Laboratorio. Ove ciò non fosse possibile conservare il tampone per un massimo di 24 h a temperatura ambiente

SCRAPING CORNEALE

- Instillare alcune gocce di anestetico locale
- Eseguire lo scraping mediante "scleral knife" (mazza da golf), monouso, sterile
- Eseguire il primo prelievo e strisciarlo su vetrino portaoggetto per la colorazione di Gram.
- Scrivere il nome del paziente sul vetrino a matita
- Riporre il vetrino nell'apposito contenitore
- Eseguire il secondo prelievo e stemperare la lama in brodo di coltura BHI (fornito dal Laboratorio, correttamente conservato a 4°C, controllare la data di scadenza)
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) come "tampone congiuntivale", specificare nel campo 'testo quesito' "scraping corneale + gram" e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**
- Inviare tempestivamente il materiale al Laboratorio.
-

PUS, UMORE ACQUEO E VITRO, LENTI A CONTATTO, LIQUIDO DI LAVAGGIO DI LENTI A CONTATTO

- Raccogliere i campioni in condizioni di asepsi, porli in contenitori sterili aggiungendo, se necessario per evitare la disidratazione, soluzione fisiologica sterile o brodo di coltura BHI (fornito dal Laboratorio, correttamente conservato a 4°C, controllare la data di scadenza)
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**

Si eseguono di routine le seguenti ricerche:

- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Moraxella spp*

- *Neisseria spp*
- *Haemophilus spp*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- Enterobatteri e altri batteri Gram negativi
- Miceti

Tempi di refertazione:

campione negativo 2 giorni

campione positivo 2-5 giorni

8. COLTURA DA LESIONI DELLA CUTE E DEI TESSUTI MOLLI

Secondo i criteri della Food and Drug Administration (FDA) si definisce infezione acuta batterica di cute e tessuti molli un'infezione batterica della cute caratterizzata dalla presenza di segni di flogosi che coinvolgono una superficie cutanea di dimensioni ≥ 75 cm² di cute (misurata sulla base dell'estensione dei segni flogosi: eritema edema e infiltrato cutaneo). Può associarsi a segni e sintomi sistemici.

Si definiscono *complicated skin soft-tissue infection* (cSSTI) le infezioni di cute e tessuti molli che presentano:

- coinvolgimento profondo (derma profondo-ipoderma);
- necessità di un drenaggio chirurgico;
- coesistenza di condizioni dell'ospite che compromettano la risposta alla terapia;
- presenza di segni di SIRS.

In relazione all'estensione in profondità, si distinguono:

- ✓ **Infezioni cutanee superficiali** Erisipala (coinvolgimento di epidermide, derma, ipoderma)
- ✓ **Infezioni cutanee profonde** Non necrotizzanti: celluliti, ascessi (coinvolgimento di ipoderma, fasce, muscoli) o Necrotizzanti: Celluliti necrotizzanti
- ✓ Fasciti necrotizzanti (coinvolgimento del grasso sottocutaneo e della fascia muscolare)
- ✓ Gangrena gassosa
- ✓ **Infezioni di ferite/ulcera:** Infezione caratterizzata da secrezione purulenta da una ferita/ulcera associata a segni di flogosi della cute circostante

CLASSIFICAZIONE DELLE FERITE/ULCERE

Lesione da pressione: Lesione localizzata alla cute e/o agli strati sottostanti, generalmente in corrispondenza di una prominenza ossea, quale risultato di pressione, o pressione in combinazione con forze di taglio (EPUAP 2009). Si identifica quindi una lesione tissutale ad evoluzione necrotica che interessa l'epidermide, il derma e gli strati

sottocutanei, fino a raggiungere, nei casi più gravi, il muscolo, la cartilagine e l'osso. La lesione da pressione è la conseguenza diretta di una elevata e/o prolungata compressione e/o di forze di taglio (o stiramento), causanti uno stress meccanico ai tessuti e l'occlusione dei vasi sanguigni (LLGG FVG "Prevenzione e trattamento LdP", 2014).

Infezione di ferita chirurgica

Infezione post-operatoria della ferita chirurgica.

Secondo i criteri CDC si classificano in:

- ✓ infezione superficiale di ferita;
- ✓ infezione profonda di ferita;
- ✓ infezione del sito chirurgico con coinvolgimento di organi e spazi.

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Contenitori sterili o tamponi sterili con terreno di trasporto

MODALITÀ DI PRELIEVO

- Il campione dovrebbe essere raccolto prima dell'inizio della terapia antibiotica;
- Preferire in assoluto la coltura di un frammento bioptico della lesione piuttosto della coltura da tampone, gravata da elevato rischio di contaminazione microbica e limitato valore predittivo positivo;
- In caso di esecuzione del tampone (margini interni della lesione), la lesione deve essere preventivamente sottoposta a detersione meccanica (*scraping*) per rimuovere i detriti superficiali, utilizzando soluzione fisiologica sterile;
- In caso di esecuzione di biopsia la lesione dovrebbe essere detersa con soluzione fisiologica; nelle lesioni da decubito e comunque in tutte le lesioni creniche è necessario rimuovere lo *slough* e/o eventuali tessuti necrotici;
- Frustuli tissutali e biopsia cutanea devono essere raccolti in contenitori sterili con aggiunta di qualche goccia di soluzione fisiologica sterile; in alternativa, è possibile inserire il materiale prelevato in provette con terreno

liquido;

- In caso di aspirazione di materiale purulento, al fine di aumentare la sensibilità diagnostica, è indicato l'inoculo di flaconi di emocoltura (anaerobi e aerobi). In alternativa, il materiale purulento può essere prelevato/trasportato in provette con terreno liquido.
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**
- Inviare i campioni biologici prelevati quanto prima in Laboratorio.

Tempi di refertazione:

campione negativo 2 giorni

campione positivo 2-5 giorni

Si eseguono di routine la ricerca di:

- Germi comuni
- Miceti
- Germi anaerobi

8.1 COLTURA DA ZONE USTIONATE

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Contenitori sterili, tamponi con terreno di trasporto

MODALITÀ DI PRELIEVO

- Detergere delicatamente la superficie con soluzione fisiologica sterile
- Prelevare un frammento di tessuto
- Inserirlo in un contenitore sterile con eventuale aggiunta di alcune gocce di soluzione fisiologica sterile per evitarne l'essiccamento.
- Se il prelievo è superficiale, raccogliere il materiale mediante tampone
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**
- Indicare sempre nel campo "Testo quesito" il sito di prelievo
- Inviare quanto prima al Laboratorio. Se ciò non fosse possibile conservare le biospie a +4°C (con aggiunta di soluzione fisiologia fino a coprire il campione), i tamponi a temperatura ambiente per un massimo di 24 h.

Si eseguono di routine le seguenti ricerche:

- Germi comuni
- Miceti
- Germi anaerobi

Tempi di refertazione:

campioni positivi 2-5 giorni

8.2 BIOPSIE OSSEE E DA TESSUTI MOLLI IN OSTEOMIELE

- **CAMPIONI INTRA-OPERATORI DI OSSO**
- **BIOPSIE OSSEE**
- **BIOPSIE DI TESSUTI MOLLI ADIACENTI LA SEDE OSSEA INTERESSATA**
- **ASPIRATI**

L'osteomielite è un'infezione progressiva dell'osso che comporta l'infiammazione dell'osso e ne causa la distruzione, necrosi e deformazione. La diagnosi richiede indagini radiologiche (raggi X, ma anche RMI, TAC), emocolture (in particolare nelle forme acute), biopsie ossee e dei tessuti molli circostanti e campioni prelevati in sede operatoria.

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Contenitori sterili, tamponi con terreno di trasporto

MODALITÀ DI PRELIEVO

- Biopsie ossee prelevate con ausilio di *imaging*: prelievi ottenuti in corso di ecografia o TAC. È importante fornire tutte le indicazioni utili (ed es. la presenza di protesi) e l'eventuale sospetto clinico.
- Biopsie intra-operatorie: prelevare più campioni da sedi diverse.
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.
- Indicare sempre nel campo "Testo quesito" il sito di prelievo.
- Inviare quanto prima al Laboratorio. Se ciò non fosse possibile conservare le biopsie a +4°C (con aggiunta di soluzione fisiologica fino a coprire il campione), i tamponi a temperatura ambiente per un massimo di 24 h.

Si eseguono di routine le seguenti ricerche:

- Germi comuni
- Miceti
- Germi anaerobi

TEMPI DI REFERTAZIONE

2-5 giorni

8.3 INFEZIONI CORRELATE A PROTESI ORTOPEDICHE

- **ASPIRATO DALLA SEDE PROTESICA**
- **BIOPSIA PERI-PROTESICA**
- **CAMPIONI INTRA-OPERATORI**
- **PROTESI**
- **DISPOSITIVI PER IL FISSAGGIO**

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Contenitori sterili

MODALITÀ DI PRELIEVO

- **Aspirato dalla sede protesica:** utile per diagnosticare sia le forme acute sia le forme croniche, va eseguito con procedure asettiche
- **Biopsia:** possono essere prelevate biopsie eco-guidate dalle sedi adiacenti alla protesi
- **Biopsie intra-operatorie:** in caso di infezioni croniche; si raccomanda di prelevare frammenti da più sedi, perché l'infezione può essere occulta
- **Protesi:** le protesi espantate possono essere inviate per la coltura, contestualmente a campioni di filiquidi, pus, sinovia, tessuti granulomatosi raccolti in sede di espanto della protesi.

In ogni caso:

- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**
- Indicare sempre nel campo "Testo quesito" il tipo di materiale e il sito di prelievo

Si eseguono di routine le seguenti ricerche:

- Germi comuni
- Miceti
- Germi anaerobi

TEMPI DI REFERTAZIONE

2-5 giorni

9. APPARATO GENITALE

9.1 TAMPONE VAGINALE - TAMPONE VULVARE - TAMPONE CERVICALE

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Tampone con terreno di trasporto

MODALITÀ DI PRELIEVO

Per eseguire correttamente il prelievo si raccomanda di:

- Effettuare il prelievo in periodo non mestruale.
- Astenersi da rapporti sessuali nelle 24 ore che precedono il prelievo.
- Evitare dalla sera precedente l'utilizzo di prodotti per l'igiene intima .
- Sospendere, se possibile, le terapie antibiotiche almeno quattro giorni prima del prelievo.
- Lavare accuratamente i genitali esterni con acqua e sapone.
- Divaricare le piccole e le grandi labbra, quindi toccare la parete della vagina con un tampone sterile, evitando il più possibile ogni contaminazione.
- Utilizzare un ulteriore tampone a secco sterile per raccogliere altro materiale per la preparazione di un vetrino da utilizzare nell'esame microscopico. Il tampone va ruotato e non strisciato sul vetro per evitare la rottura delle cellule. Lasciare asciugare il vetrino all'aria. scrivere il nome A MATITA (non usare pennarello).
- Nel caso di tampone cervicale visualizzare la cervice con uno speculum; rimuovere l'eccesso di muco e di secrezione con un tampone che verrà poi eliminato. Con un nuovo tampone toccare ripetutamente il canale cervicale.
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.
- Indicare sempre nel campo "Testo quesito" il tipo di materiale e il sito di prelievo.

Si eseguono di routine le seguenti ricerche:

- Striscio per Gram
- Miceti

NOTA:

Nel caso di ricerca mirata di **Neisseria gonorrhoeae** su tampone cervicale è fondamentale l'**inoltro immediato** del campione al Laboratorio

Tempi di refertazione:

campioni negativi 2 giorni
campioni positivi 2-5 giorni

9.2 TAMPONI VAGINO-RETTALE PER STR. AGALACTIAE DI GRUPPO B (GBS)

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Tamponi con terreno di trasporto.

MODALITÀ DI PRELIEVO

Per eseguire correttamente il prelievo si raccomanda di eseguire il campionamento alla 35^a-37^a settimana di gravidanza.

- Un tampone vaginale distale fino al retto o un tampone prelevato a livello dell'introitus ed un tampone rettale.
- Sulla richiesta deve essere specificato "tampone vaginale/rettale per ricerca SGB".
- Inviare subito in laboratorio (entro e non oltre due ore dalla raccolta); trasportare a temperatura ambiente, non congelare.
- Per i campioni urgenti in orario di chiusura del Laboratorio: utilizzare un tampone con terreno di trasporto. Il tampone conservato in terreno di trasporto può restare a temperatura ambiente per un massimo di 48 ore.
- Trasportare a temperatura ambiente.
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.
- Trasportare i tamponi negli appositi sacchetti a doppio comparto oppure nei contenitori rigidi a chiusura ermetica.

Tempo di refertazione

Campioni negativi 2 giorni.

Campioni positivi 2-5 giorni.

NOTA: in caso di esito positivo, l'antibiogramma viene eseguito solo per le pazienti allergiche alle penicilline, **INDICARE** quindi **SEMPRE** l'eventuale allergia a tali farmaci .

9.3 TAMPONE BALANO – PREPUZIALE

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Tampone con terreno di trasporto

MODALITÀ DI PRELIEVO

- Scoprire il glande.
- Pulire accuratamente la parte interessata con soluzione fisiologica sterile.
- Raccogliere con un tampone l'essudato eventualmente presente nella zona del solco balano prepuziale.
- Inserire il tampone nel terreno di trasporto.
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.
- Inviare quanto prima al Laboratorio. Se ciò non fosse possibile conservare il campione a temperatura ambiente per un massimo di 24 ore.

Si eseguono di routine le seguenti ricerche:

- *Staphylococcus aureus*
- Streptococchi beta-emolitici
- Miceti

Tempi di refertazione:

campioni negativi 2 giorni

campioni positivi 2-5 giorni

9.4 TAMPONE URETRALE

L'uretrite, o infiammazione dell'uretra, è una condizione multifattoriale caratterizzata sul piano clinico da bruciori e/o disuria accompagnati o meno da secrezioni, ma che può decorrere anche in modo asintomatico. Può riconoscere una causa infettiva, nella maggior parte dei casi trasmessa per via sessuale di tipo batterico (*Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, o, più raramente protozooario *Trichomonas vaginalis* o virale (Adenovirus, Herpes simplex virus (HSV)

I tamponi uretrali vanno eseguiti quando:

- sono presenti secrezioni uretrali francamente purulente
- i sintomi e la clinica sono suggestivi per uretrite (principalmente causata da *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis*)
- a conferma di test molecolare eseguito su urine positivo per gonorrea
- per controllo di contatti di gonorrea
- per controllo a fine terapia per gonorrea.

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Tampone con terreno di trasporto, Per *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma spp* e *Trichomonas vaginalis*, vedi sezioni dedicate.

MODALITÀ DI PRELIEVO

- Eseguire il tampone almeno due-tre ore dopo l'ultima minzione, anche se sarebbe preferibile effettuarlo al mattino prima della minzione. Sarebbe opportuno utilizzare tamponi floccati che devono essere introdotti per almeno 0,5

cm nell'uretra. Assicurarsi che il paziente non abbia eseguito una terapia antibiotica nella settimana precedente l'esame o nelle ultime 4 settimane.

- Inviare quanto prima al Laboratorio. Se ciò non fosse possibile conservare il campione a temperatura ambiente per un massimo di 24 h
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.

Si effettuano di routine le seguenti ricerche:

- Germi comuni
- Miceti

NOTA

Nel caso di ricerca mirata di **Neisseria gonorrhoeae** è fondamentale l'**inoltro immediato** del campione al Laboratorio

Tempi di refertazione:

campioni negativi 2 giorni

campioni positivi 2-5 giorni

9.5. LIQUIDO SEMINALE

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Contenitore sterile con tappo a vite

MODALITÀ DI PRELIEVO

- Astenersi dai rapporti sessuali nei 3-4 giorni precedenti l'esame.
- Raccogliere i campioni preferibilmente prima dell'inizio della terapia antibiotica o dopo sospensione di eventuale terapia antibiotica da almeno 72 ore. Se ciò non è possibile, comunicare all'accettazione eventuali terapie antibiotiche in atto.
- Invitare il lavare accuratamente i genitali esterni e le mani con abbondante acqua e sapone o preferibilmente con un antisettico.
- Raccogliere il liquido seminale ottenuto mediante masturbazione in un recipiente sterile a bocca larga con tappo a vite.
- Richiudere il recipiente avendo l'accortezza di non toccare i bordi.
- Inviare subito in laboratorio (entro un'ora dalla raccolta).
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.
- Trasportare a temperatura ambiente, non congelare.
- Trasportare i campioni negli appositi sacchetti a doppio comparto oppure nei contenitori rigidi a chiusura ermetica.

Si effettuano di routine le seguenti ricerche:

- Germi comuni
- Miceti

NOTA

Nel caso di ricerca mirata di **Micoplasmi urogenitali**, e di **Neisseria gonorrhoeae** vedi il paragrafo a parte in fondo al capitolo.

Tempo di refertazione

Campioni negativi 2 giorni.

Campioni positivi 2-5 giorni.

9.6 PRELIEVI PER LA RICERCA DI *NEISSERIA GONORRHOEAE*

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Per la ricerca del Gonococco (*Neisseria Gonorrhoeae*) si usa un tampone con terreno di trasporto e si invia il prima possibile in laboratorio.

Il tampone può restare a temperatura ambiente per un massimo di 24 ore.

Sono idonei i tamponi uretrale, cervicale, rettale e faringeo.

MODALITÀ DI PRELIEVO

- Valgono le stesse regole dei prelievi normali, con l'accortezza di inviare il campione quanto prima al Laboratorio.
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.

TEMPI DI REFERTAZIONE

- campioni negativi 2 giorni
- campioni positivi 2-5 giorni

9.7 PRELIEVI PER LA RICERCA DI MICOPLASMI UROGENITALI

Per la ricerca dei Micoplasmi si utilizza un tampone sterile con terreno di trasporto. Dopo il prelievo, il tampone per Micoplasma può essere stemperato in un'apposita provettina con brodo di arricchimento/trasporto R1 (fornita dal Laboratorio di Microbiologia) in cui si conserva fino a 5 ore a temperatura ambiente e 48 ore a 2-8 °C.

Sono campioni idonei i tamponi uretrali e cervicali, il liquido seminale e le urine, (utilizzare i vasetti tappo rosso sterili).

- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.

Si effettuano le seguenti ricerche:

- *Mycoplasma hominis*
- *Ureaplasma urealyticum*

NOTA: NON si effettua la ricerca di *Mycoplasma genitalium*.

TEMPI DI REFERTAZIONE

- 2 giorni

9.8 PRELIEVI PER LA RICERCA DI *TRICHOMONAS SPP*

Per la ricerca di *Trichomonas spp* si utilizza un tampone sterile che va stemperato in un'apposita provettina contenente brodo specifico per *Trichomonas* (fornita dal laboratorio di Microbiologia).

Sono campioni idonei i tamponi vaginali, cervicali, uretrali e vulvari.

- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.

Tempi di refertazione

- 6 giorni

10. COLTURA DA ALTRI MATERIALI

10.1 CATETERI VENOSI CENTRALI (CVC)

La coltura dei cateteri venosi centrali deve essere richiesta **SOLO** in caso di sospetta o accertata infezione sistemica.

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Contenitori sterili con tappo a vite

MODALITÀ DI PRELIEVO

La rimozione del catetere deve essere effettuata sterilmente, previa disinfezione della cute peri-catetere, tramite applicazione per 5 minuti di un impacco di garza imbevuta di iodopovidone o clorexidina. Al momento della rimozione l'operatore deve sezionare con bisturi o tagliare con forbici sterili il catetere per una lunghezza di circa 5 cm a partire dalla punta, facendo particolare attenzione ad evitare possibili contaminazioni da contatto con superfici non sterili.

La punta del CVC va riposta in provetta sterile senza aggiunta di alcun tipo di liquido di conservazione e inoltrata al Laboratorio nel più breve tempo possibile.

- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.

Si eseguono di routine le seguenti ricerche:

- Germi comuni
- Miceti

Tempi di refertazione:

campioni negativi 2 giorni

campioni positivi 2-5 giorni

10.2. FILI DI PACE-MAKER

L'inserzione di pace-maker può dar luogo a infezioni nel sito di inserzione. Per verificarlo è opportuno estrarre il filo e inviarne l'estremità al Laboratorio.

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Contenitori sterili

MODALITÀ DI PRELIEVO

- Disinfettare la cute attorno al punto d'inserzione del filo applicando una garza con iodopovidone o clorexidina per 1 minuto
- Rimuovere il filo di pace-maker evitando il contatto con superfici non sterili
- Tagliare l'estremità del filo con forbici sterili (circa 5 cm)
- Riporre in un contenitore sterile
- Inviare il prima possibile al Laboratorio
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.

Si eseguono di routine le seguenti ricerche:

- Germi comuni
- Miceti

Tempi di refertazione:

- campione negativo 2 giorni
- campione positivo 2-5 giorni

PARTE TERZA

1. RICERCA DERMATOFITI

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Contenitori sterili con tappo a vite

MODALITÀ DI PRELIEVO

Capelli e peli

- Estirpare con pinzetta 10–12 capelli (peli) dalla zona infetta
- Riporli in un contenitore sterile

Cute

- Pulire la cute con alcool al 70% con una garza
- Raschiare delicatamente mediante bisturi sterile la zona periferica della lesione senza farla sanguinare
- Raccogliere le squame cutanee in un contenitore sterile

Unghie

- Pulire con alcool etilico al 70% con una garza
- Prelevare con bisturi sterile del materiale sotto e peri-ungueale o sottili frammenti dell'unghia stessa
- Raccogliere il materiale in un contenitore sterile

- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.

Tempi di refertazione:

campione negativo 21 giorni

campione positivo 4-21 giorni

2. RICERCA MICOBATTERI

La ricerca di micobatteri tubercolari (MTC) e non tubercolari (NTM) non è una procedura di screening e deve essere richiesta solo in caso di fondato sospetto clinico.

Può essere eseguita su qualsiasi materiale biologico proveniente dalla sede di infezione. Poiché l'isolamento dell'agente eziologico è fondamentale nella diagnosi di tubercolosi o micobatteriosi, seguire scrupolosamente le indicazioni riportate in tabella.

NOTA: I tamponi **NON** sono campioni idonei per la ricerca di Micobatteri.

L'indagine prevede l'esecuzione di:

- **esame microscopico**
- **esame colturale**
- eventuale **amplificazione molecolare** per **MTC** nei casi sospetti di TB attiva con microscopia ripetutamente negativa.

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Contenitori sterili con tappo a vite.

- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.
- Indicare nel campo 'Testo quesito' la sede di prelievo.

Materiale	Quantità	N° campioni	Campioni non idonei
Aspirato gastrico	≥ 5/10 mL, raccolto al mattino, dopo almeno 8 ore di digiuno. Neutralizzare il pH con 100 mg di carbonato di sodio o inviare <u>immediatamente</u> al Laboratorio	3, in giorni consecutivi	campioni non neutralizzati con carbonato di sodio
Broncoaspirato, lavaggio bronco-alveolare, spazzolatura bronchiale, aspirato trans-tracheale	≥ 3 mL		
Espettorato	5-10 mL, raccolto al mattino	3, in giorni consecutivi	saliva; pool di campioni
Espettorato indotto	5-10 mL, raccolto al mattino	3, in giorni consecutivi	
Feci	≥ 1 g		
Liquidi cavitari	10-15 mL in provetta con eparina		Campione con EDTA
Liquor	≥ 2 mL		
Materiale necrotico-purulento	la massima possibile		tamponi con terreno di trasporto
Midollo osseo	la massima possibile, direttamente nel flacone da emocoltura dedicato per micobatteri o in provetta con eparina,		campione coagulato; campione in provetta con EDTA
Prelievi tissutali e biopsie	≥ 1 g di tessuto in contenitore senza fissativi, aggiungere una piccola quantità di soluzione fisiologia sterile		campioni in formalina o altri fissativi

Sangue mestruale	alcuni mL, raccolti al 2°-3° giorno del flusso mestruale, in provetta con eparina		sangue coagulato
Sangue periferico	flacone da emocoltura dedicato per micobatteri		
Urine	prima urina del mattino (almeno 50 mL), il mitto intermedio è sconsigliato	3, in giorni consecutivi	urine delle 24 ore; urine da sacca

Inviare al Laboratorio di Microbiologia Polmonare quanto prima; se ciò non fosse possibile conservare i campioni a temperatura ambiente per un massimo di 4 ore oppure in frigorifero per un massimo di 72 ore.

Tempi di refertazione:

- **esame microscopico:** 24 ore lavorative
- **esame colturale** risposta positiva: 7- 21 giorni
- risposta negativa: 60 giorni
- **amplificazione molecolare** per Mycobacterium TB complex: 1-7 giorni

NOTE:

1. nel caso in cui vi sia la necessità del referto microscopico **nel giorno stesso** della raccolta del campione (**forte sospetto clinico con necessità di isolamento del paziente**) è necessario contattare telefonicamente il Laboratorio di Microbiologia Polmonare. I campioni devono pervenire al massimo **entro le ore 12**: la risposta sarà disponibile dopo 2 ore dall'arrivo del campione in Laboratorio.

2. È possibile richiedere in urgenza anche l'esecuzione **del test di amplificazione per MTC il giorno stesso dell'invio del campione al Laboratorio**. Il test utilizzato è Xpert MTB/RIF Assay, un saggio diagnostico in vitro nested-PCR in tempo reale per il rilevamento di:
- DNA del complesso del Mycobacterium tuberculosis in campioni di espettorato o sedimenti concentrati preparati da espettorato positivi o negativi allo striscio per BAAR.
 - Mutazioni del gene rpoB associate alla resistenza alla rifampicina
- La risposta sarà disponibile dopo 3 ore dall'arrivo del campione al Laboratorio.

3. RICERCA ANTIGENE GALATTOMANNANO

La ricerca dell'antigene Galattomannano è un test immunoenzimatico eseguibile su **siero** e su **BAL**, utile nella diagnosi di infezione invasiva da *Aspergillus spp* congiuntamente ad altre procedure diagnostiche (coltura, biopsia, esame radiologico).

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Siero: provetta da prelievo ematico senza anticoagulante

BAL: contenitore sterile con tappo a vite

MODALITÀ DI PRELIEVO

Il prelievo ematico si effettua preferibilmente da vena periferica secondo la preparazione standard del paziente e le condizioni standard di campionamento.

Raccogliere il campione ematico in una **provetta** per siero **dedicata** all'esecuzione del test.

Per il BAL raccogliere il materiale secondo le procedure standard in condizioni di massima asepsi in **contenitore sterile dedicato** all'esecuzione del test

- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.
- Indicare sempre nel campo "Testo quesito" il tipo di materiale.

Conservazione:

siero: consegnare la provetta al Laboratorio il giorno del prelievo

BAL: consegnare il campione il giorno del prelievo o conservare a +4°C per 24 h

Unità di misura: index (I)

Intervallo di riferimento: < 0.50 negativo
≥ 0.50 positivo

Valori tra 0,5 e 1 nel BAL hanno un basso valore predittivo e vanno interpretati alla luce dei dati clinici e radiologici.

Tempi di refertazione: 1-7 giorni

NOTA: in caso di campione urgente contattare telefonicamente il Laboratorio.

4. BIOPSIA PER *HELICOBACTER PYLORI*

Per diagnosticare l'infezione da *Helicobacter pylori* si usano metodiche non invasive (ricerca dell'antigene su feci). In casi particolari (resistenza a ripetuti trattamenti antibiotici) può essere utile l'esecuzione dell'esofagogastroduodenoscopia con biopsie gastriche per la coltura dell'*Helicobacter pylori*, con antibiogramma mirato per documentare la sensibilità o residenza ai farmaci previsti dai protocolli terapeutici. Si consiglia di effettuare il prelievo dopo almeno 2 settimane dall'ultima dose di antibiotico.

NOTA: Contattare telefonicamente il Laboratorio di Microbiologia per concordare la data del prelievo.

CONTENITORI PER LA RACCOLTA

Contenitore sterile con tappo a vite rosso.

MODALITÀ DI PRELIEVO

- Biopsia eseguita durante gastroscopia.
- Collocare il prelievo in un contenitore sterile con tappo a vite insieme a 1 ml di brodo BHI (fornito dal laboratorio di Microbiologia) o di soluzione fisiologica sterile (consigliato prelievo di 2 frammenti di mucosa: antro e corpo).
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.
- Inviare subito in laboratorio previo avviso.

- Trasportare i campioni negli appositi sacchetti a doppio comparto oppure nei contenitori rigidi a chiusura ermetica.

Tempo di refertazione

Campione negativo 10 giorni

Campione positivo 5-10 giorni

5. PARASSITOLOGIA FECALE

Il Laboratorio di Microbiologia effettua la ricerca dei parassiti dietro specifica richiesta del medico curante (ricerca mirata), è quindi indispensabile che il medico sospetti la possibile eziologia da parassiti sulla base di specifiche indicazioni epidemiologiche o cliniche e che fornisca al microbiologo le informazioni clinico-epidemiologiche per poter eventualmente adottare tecniche diverse o proporre ulteriori accertamenti (tramite scheda anamnestica per la raccolta dati clinico epidemiologici (riportata in allegato 1).

I sintomi causati dai parassiti intestinali possono consistere in:

- quadri diarroici acuti o ricorrenti, associati o meno a malassorbimento, sostenuti da protozoi (*G. duodenalis*, *E. histolytica*, *Cryptosporidium* spp. e altri)
- le elmintiasi intestinali raramente sono associate a enterite, possono essere asintomatiche o associate a disturbi aspecifici o a ipereosinofilia (frequentemente spia di infezioni elmintiche)
- prurito anale, tipico delle infestazioni da *Enterobius vermicularis*.
- in soggetti immunodepressi *Cryptosporidium* spp. e *Strongyloides stercoralis* possono causare infezioni gravi.

PREPARAZIONE ALL'ESAME

- > Alcuni giorni prima e durante il periodo della raccolta delle feci non fare uso di lassativi, antidiarroici, antimicrobici o di altre sostanze interferenti come bario, bismuto, olii minerali
- > Alcuni giorni prima e durante il periodo della raccolta delle feci si consiglia di seguire un regime dietetico che prevede di evitare: legumi e frutta secca, frutta e verdura a cuticola resistente (pesche, albicocche, pomodori, pere, fragole, fichi, carote, banane).

ESAME STANDARD

MODALITÀ DI PRELIEVO

- Le feci vanno raccolte su una superficie asciutta e pulita, tipo una padella da letto, oppure un foglio di cartone o un giornale ripiegato o un sacchetto di plastica posti all'interno del water.
 - NB: LE FECI NON DEVONO ESSERE CONTAMINATE NE' CON LE URINE NE' CON L'ACQUA DEL WATER.
- Le feci vanno prelevate in punti diversi dell'intera evacuazione. Trasferire in un contenitore di plastica senza conservanti, fornito dal CUP o acquistato in farmacia, utilizzando una spatola o una bacchetta di legno o una posata di plastica, una quantità di feci pari almeno al volume di una grossa noce. Se le feci sono non formate/diarroiche raccogliere almeno 5-10 ml di materiale fecale.
- Chiudere molto bene il contenitore.
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare il contenitore mediante l'applicazione dell'etichetta con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.
- Consegnare il campione al Laboratorio entro 2-4 ore dalla raccolta oppure conservarlo in frigorifero per non più di 24 ore. ATTENZIONE: se le feci sono liquide, il campione deve pervenire al Laboratorio entro 30-60 minuti dalla sua emissione.

Al fine di consentire un corretto indirizzo diagnostico si raccomanda di compilare ed accompagnare il primo campione con la scheda anamnesica reperibile sul sito INTRANET : Personale aziendale -> Modulistica -> Richieste Medicina di Laboratorio - >[Scheda anamnesica per esame parassitologico feci](#)

NB: si raccomanda di raccogliere 3 campioni di feci emesse a giorni alterni.

Si eseguono le seguenti ricerche:

- PROTOZOI (amebe, flagellati, ciliati): cisti e trofozoiti.
- PER LA RICERCA DEI TROFOZOITI DI GIARDIA E AMEBA I CAMPIONI DEVONO ESSERE CONSERVATI A 37°C E PORTATI IMMEDIATAMENTE AL LABORATORIO.
- ELMINTI: uova e larve (Per la ricerca di *E. vermicularis* eseguire SCOTCH-TEST)

Tempi di refertazione: 2-5 giorni

TEST IMMUNOENZIMATICO per *Entamoeba histolytica*, *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium parvum*

Su richiesta si esegue il test immunoenzimatico per la rilevazione degli antigeni specifici di *E. histolytica*, */dispar*, *G. lamblia* e *C. parvum*.

Le modalità di prelievo sono le stesse dell'esame standard

Tempi di refertazione: 2 giorni

ESAME COLTURALE PER *STRONGYLOIDES STERCORALIS* E ALTRI NEMATODI INTESTINALI

La strongiloidiasi è diffusa nelle zone tropicali, sub-tropicali e in alcune aree temperate, Italia compresa.

In Italia la strongiloidiasi interessa soprattutto la popolazione anziana.

I sintomi possono essere lievi o aspecifici (dolori addominali, crisi asmatiche, deperimento organico, prurito generalizzato e lesioni cutanee), ma in soggetti immunocompromessi o in terapia cortisonica possono comparire forme gravi. La coltura in agar è utile nella diagnosi di questo parassita, e va concordata con il Laboratorio di Microbiologia.

Tempi di refertazione: 2 - 5 giorni

6. SCOTCH-TEST PER RICERCA MIRATA DI *ENTEROBIUS VERMICULARIS* (Ossiuri)

Inviare preferibilmente 3 vetrini a giorni alterni:

- La raccolta va eseguita al momento del risveglio mattutino e prima di defecare e lavarsi.
- Tagliare un pezzo di nastro adesivo più corto del vetrino (fornito dal Laboratorio).
- Porre il nastro adesivo sulle pliche perianali e comprimere bene (con un abbassalingua o il manico di un cucchiaino) sulla pelle sottostante per circa 15-20 secondi.
- Staccare il nastro adesivo e applicarlo ben steso sul vetrino .
- Numerare e identificare i singoli vetrini.
- Inserire in un contenitore porta vetrini .
- Lavarsi bene le mani a prelievo ultimato: le uova possono essere infettanti.
- I vetrini possono essere consegnati assieme (almeno uno entro 2-4 ore dalla raccolta) o uno alla volta entro 2-4 ore dalle singole raccolte.

Tempi di refertazione: 1-2 giorni

7. QuantiFERON®

QuantiFERON®-TB Gold IT è uno dei test indiretti approvati dalla FDA per la diagnosi di infezione da Mycobacterium tuberculosis se applicati congiuntamente ad una valutazione del rischio, ad indagini radiologiche e ad altre valutazioni mediche e diagnostiche: rivela una sensibilizzazione nei confronti di M. tuberculosis attraverso la misurazione di interferon- γ secreto dai linfociti T attivati in risposta ad antigeni specifici.

METODO

Dosaggio immunoenzimatico ELISA su plasma.

PROVETTE PER IL PRELIEVO

Per il test vanno utilizzate **provette dedicate** da richiedere al Laboratorio mediante il modulo di richiesta, scaricabile da intranet, già compilato in tutte le sue parti e firmato dal Medico:

1. antigene TB – provetta **tappo rosso**
2. controllo negativo NIL – provetta **tappo grigio**
3. controllo positivo MITOGENO – provetta **tappo viola**

La **TERZA** provetta dedicata – controllo positivo MITOGENO - **tappo viola** – **DEVE ESSERE SEMPRE UTILIZZATA** per il prelievo a:

- bambini
- anziani (età >70 anni)
- soggetti immunocompromessi

- soggetti in terapia immunosoppressiva
- soggetti in procinto di iniziare una terapia immunosoppressiva (p.e. trapianti d'organo, patologie reumatiche infiammatorie, neoplasie)

MODALITÀ DI PRELIEVO

- Per ciascun soggetto prelevare **1 ml di sangue** direttamente in ognuna delle provette dedicate QuantiFERON®-TB Gold IT.
- La linea nera indica il volume di 1 ml: se il livello di sangue non raggiunge la linea indicata, si consiglia di prelevare un altro campione di sangue. (Poiché il sangue fluisce con relativa lentezza, mantenere la provetta sull'ago un po' più a lungo per accertarsi di aver prelevato il volume corretto).
- Se si utilizza un ago a farfalla è opportuno verificare con una provetta vuota che il tubo si sia riempito di sangue, prima di usare le provette QuantiFERON®.
- Miscelare il contenuto delle provette capovolgendole per 8-10 volte, verificando che l'intera superficie interna della provetta sia ricoperta di sangue.
- Questo passaggio è fondamentale per garantire che il campione di sangue si mescoli completamente al contenuto della provetta.
- Compilare correttamente la prenotazione (**Order Entry**) e stampare le etichette.
- Identificare le provette mediante l'applicazione delle etichette con le informazioni relative al paziente ed eseguire il **CHECKOUT**.
- Far pervenire le provette al Laboratorio di Microbiologia Polmonare il prima possibile
- Il prelievo non può essere eseguito in giornate prefestive poiché la procedura prevede un'incubazione del campione over-night a 37°C

Unità di misura: UI/mL

Intervallo di riferimento: < 0.35 negativo
≥ 0.35 positivo

Tempi di refertazione:
2-7 giorni

NOTA

A breve il test QuantiFERON-TB Gold IT verrà sostituito dal QuantiFERON PLUS che prevede l'utilizzo di due provette di antigene TB distinte, perciò il prelievo verrà effettuato sempre con 4 provette:

- Tappo grigio: QuantiFERON Nil (controllo negativo)
- Tappo verde: QuantiFERON TB1 (contiene i peptidi ESAT-6e CFP-10 in grado di indurre la secrezione della citochina IFN- γ dei linfociti CD4+)
- Tappo giallo: QuantiFERON TB2 (provetta che contiene nuovi antigeni in grado di stimolare la secrezione della citochina IFN- γ dei linfociti CD4+ e CD8+)
- Tappo viola: QuantiFERON Mitogen (controllo positivo)