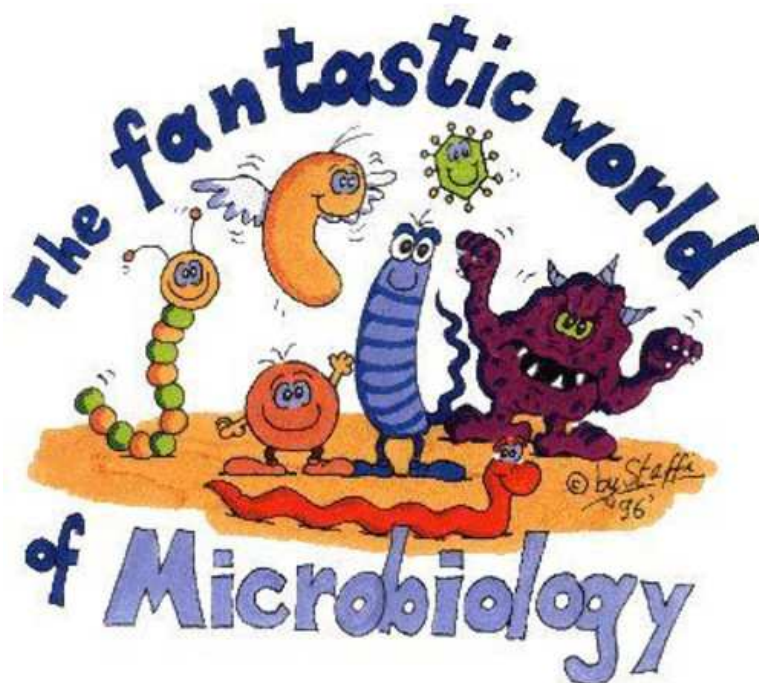


Indagini microbiologiche e sierologiche: *indicazioni per il prelievo, la conservazione e l'invio dei campioni*



Rev. 0 Aprile 2014

Rev.	Descrizione modifiche	Data approvazione	Redazione	Firma verifica	Firma approvazione
0	Documento del Sistema Qualità aziendale elevato a documento del Sistema Qualità Interaziendale	Aprile 2014	Gruppo di redazione*	Responsabile Qualità Aziendale (Dott.U.Wienand) Responsabile Qualità AUSL Ferrara (Dott. G. Sessa)	Direttore Generale (Dott. G.Rinaldi)

* M.R. Rossi, M.P. Bianchi, V. Catapano, A. Fabiano, A.M.Melloni, P. Tosi, M.C.Ballarini, R. Braghini, D. Cavichioli, C. Vallerini, M. Marcomini, C. Ragazzi, R. Fabbri, G. Pezzi, Baldrati. M, Pora. R, Tarlazzi P., Consolini R., Valli

PRESENTAZIONE

La raccolta appropriata di un campione per la coltura è la tappa più importante per l'isolamento dei microrganismi responsabili di malattie infettive. Un campione raccolto in modo inadeguato può impedire l'isolamento del microrganismo responsabile e il ritrovamento di contaminanti può condurre ad una terapia errata o persino dannosa.

E' quindi importante la formulazione d'indicazioni scritte, chiare e dettagliate periodicamente verificate e aggiornate che servano di riferimento per il personale di assistenza e di laboratorio.

Solo la stretta collaborazione tra tutte le figure coinvolte e il rispetto delle corrette procedure, può assicurare la piena valorizzazione dell'indagine microbiologica.

Il presente manuale, fornisce indicazioni per la scelta delle indagini, le modalità di raccolta, le condizioni di trasporto e conservazione del campione, l'invio al MOD Microbiologia e Sierologia.

INFORMAZIONI GENERALI

Indirizzo e recapiti

MOD Microbiologia e Sierologia
Laboratorio Unico Provinciale
Azienda Ospedaliera Universitaria Nuovo S. Anna
Via Aldo Moro, 8 - 44124 Cona Ferrara

Telefono 0532 236427 Microbiologia Accettazione
 0532 239428 Microbiologia Consulenze
 0532 236846 Sierologia

Fax 0532 237687 Microbiologia
 0532 239091 Microbiologia Accettazione

e-mail r.rossi@ ospfe.it

Orari di apertura

Dalle 8:00 alle 19:00 : dal lunedì al venerdì
Dalle 8:00 alle 14:00 : il sabato

La consegna dei prelievi e dei campioni avviene presso l'Accettazione del Laboratorio Analisi Chimico Cliniche sito al 1E1 del Nuovo Arcispedale S. Anna.

Nelle ore di chiusura del MOD Microbiologia e Sierologia è possibile inviare gli esami urgenti presso il Settore Urgenze del Laboratorio Analisi previa prenotazione informatica.

Per ricerche al di fuori della routine è consigliabile prendere accordi telefonici con il personale LRS del MOD Microbiologia e Sierologia.

MODALITA' D' INVIO DEI CAMPIONI

Raccolta del campione

L'U.O. di degenza o comunque la struttura che effettua il prelievo, è responsabile della corretta raccolta, della prenotazione, dell'identificazione, della conservazione del campione con modalità idonee e dell'invio.

Identificazione del campione

Tutti i campioni inviati devono essere identificati con l'etichetta riportante il codice a barre relativo alla prenotazione dell'esame.

Invio e trasporto

I campioni devono essere inviati secondo le specifiche indicazioni di seguito riportate.

L'invio in trans-bag garantisce la protezione dal rischio biologico degli operatori addetti al trasporto e alla manipolazione successiva dei campioni (epatiti, HIV, TBC).

Campioni respinti

I campioni non idonei e/o non conformi sono gestiti secondo l'Istruzione Operativa : IO-047-MICRO - Rev 1 Controllo campioni biologici e gestione non conformità in fase di accettazione.

INDICE	Pagina
PRESENTAZIONE	2
INFORMAZIONI GENERALI	2
MODALITA' D'INVIO DEI CAMPIONI	3
MICROBIOLOGIA RICERCA GERMI E MICETI	5
INFORMAZIONI GENERALI	5
EMOCOLTURA	5
LIQUOR CEFALORACHIDIANO	6
LIQUIDI BIOLOGICI	8
PUS - ESSUDATI VARI	8
TAMPONI CUTANEI E SOTTOCUTANEI	9
CATETERE VASCOLARE	9
BIOPSIA STOMACO: ricerca H.pylori	10
FRAMMENTI OSSEI	10
FECI: esame colturale	10
TAMPONE RETTALE: esame colturale	11
FECI: ricerca Rotavirus e/o Adenovirus	11
FECI: ricerca Helicobacter pylori	11
FECI: ricerca C.difficile tossinogenico	12
ESPETTORATO	12
BRONCOASPIRATO - BRONCOLAVAGGIO	13
TAMPONE FARINGEO/TONSILLARE: esame colturale	14
TAMPONE FARINGEO: ricerca diretta Streptococcus pyogenes (grA)	15
TAMPONE FARINGEO: ricerca diretta HSV 1-2	15

TAMPONE FARINGEO: ricerca diretta RSV	15
TAMPONE AURICOLARE	16
TAMPONE NASALE	16
TAMPONE CONGIUNTIVALE e CORNEALE	17
URINE: esame colturale	17
URINE: ricerca Leptospira	19
TAMPONE VAGINALE	20
TAMPONE VAGINO-RETTALE: ricerca Streptococcus agalactiae (grB)	21
RICERCA HSV 1-2 DA LESIONI GENITALI	21
TAMPONE URETRALE	22
LIQUIDO SEMINALE: esame colturale	22
PELI, SQUAME, CAPELLI e UNGHIE: esame colturale per miceti	23
RICERCA MICOBATTERI	24
SECREZIONI RESPIRATORIE	24
SANGUE	24
URINE	25
ALTRI MATERIALI	25
RICERCA PARASSITI	27
FECI	27
SCOTCH TEST: ricerca Enterobius vermicularis	28
URINE	28
ASPIRATO DUODENALE	28
SANGUE	29
INDAGINI SIEROIMMUNOLOGICHE	30
ASPETTI GENERALI	30
INDAGINI SIEROIMMUNOLOGICHE SU SIERO	30
QuantiFERON-TB Gold	30
INDAGINI SIEROIMMUNOLOGICHE SU LIQUIDI BIOLOGICI	31
LIQUOR: ricerca antigeni Criptococco	31
URINE: ricerca antigeni Legionella e/o Pneumococco	31
SANGUE: ricerca antigene precoce pp65 di CMV nei leucociti	32
ALTRE INDAGINI	32
SPERMIOGRAMMA	32

MICROBIOLOGIA RICERCA GERMI E MICETI

INFORMAZIONI GENERALI

Per garantire l'accuratezza del referto microbiologico, occorre evitare ogni contaminazione del campione. Il **presupposto fondamentale consiste nell'esecuzione del prelievo con tecniche asettiche e strumenti sterili.**

Di seguito sono elencati i criteri generali idonei per la corretta esecuzione dei prelievi:

- Lavare le mani prima di ogni prelievo
- Indossare i guanti sterili, quando occorre
- Eseguire preventiva igiene e disinfezione dei siti di prelievo
- Raccogliere i campioni prima dell'inizio della terapia antibiotica, se possibile
- Prenotare le indagini inserendo in nota le informazioni utili all'iter diagnostico
- Inviare i campioni nel più breve tempo possibile in Laboratorio o conservarli correttamente
- Utilizzare contenitori adeguati alle indagini

EMOCOLTURA

L'emocoltura è fortemente raccomandata in tutte le situazioni ad alto rischio per lo sviluppo di sepsi:

- Endocarditi ed infezioni endovascolari
- Epiglottite acuta
- Polmonite batterica
- Pielonefrite ascendente
- Osteomielite ematogena
- Meningite batterica
- Ascessi endoaddominali
- Febbre di origine sconosciuta

Il prelievo si effettua da vena periferica, mentre è fortemente sconsigliato da catetere vascolare.

Per assicurare la massima efficacia è importante:

- eseguire il prelievo prima dell'inizio della terapia antibiotica o immediatamente prima di una nuova somministrazione, se la terapia è già in atto
- eseguire almeno 2 prelievi da siti diversi nell'arco di 1-2 ore (un prelievo ogni 20/ 30 minuti circa). Se è necessario iniziare la terapia è possibile eseguire i 2 prelievi nell'arco di 30 minuti (non è indispensabile attendere il rialzo termico o il brivido).
- nel sospetto di endocardite può essere opportuno ripetere il prelievo di 2 set nella giornata successiva

Il protocollo standard di indagine microbiologica sulle emocolture prevede la ricerca di germi "non esigenti" (inclusi i lieviti), batteri "esigenti", miceti ed anaerobi.

I flaconi sono incubati per 5 giorni a 35 °C.

Per alcuni quadri clinici (endocardite, brucellosi, AIDS, micosi profonde) l'incubazione è protratta fino a 21 giorni per consentire l'isolamento anche di batteri e miceti a lenta crescita. E' necessario quindi segnalare nelle note o telefonicamente il sospetto clinico.

Materiale occorrente

- Flacone per aerobi/ miceti
- Flacone per anaerobi
- Flacone pediatrico

Modalità di prelievo

Praticare la pulizia del sito cutaneo con alcool etilico al 70% e lasciare asciugare

Disinfettare la cute con clorexidina gluconato 2% in alcool etilico

Disinfettare i tappi dei flaconi da inoculare

Adulti: per ciascun prelievo inoculare 10 ml nel flacone per aerobi e 10 ml nel flacone per anaerobi. Se il prelievo si esegue con siringa inoculare prima il flacone anaerobio poi l'aerobio
Se il prelievo avviene con sistema vacutainer inoculare prima l'aerobio e poi l'anaerobio

Pazienti pediatrici: inoculare 1-4 ml nel flacone pediatrico

Raccomandazioni

- Etichettare ciascun flacone prestando attenzione a non sovrapporre le etichette sul codice a barre
- Non ricoprire il tappo con cerotti e/o garze

Conservazione e invio

IL prelievo ha carattere di urgenza: è possibile consegnare in qualsiasi momento in Laboratorio emocolture accettate come routine. La data di accettazione deve essere quella in cui si esegue il prelievo, anche se festivo. Se non è possibile la consegna immediata conservare a temperatura ambiente, MAI IN FRIGORIFERO.

LIQUOR CEFALORACHIDIANO

Il liquor cefalorachidiano può essere prelevato da:

- **Puntura lombare**
- **Derivazione ventricolare esterna o altre derivazioni** (derivazione spinale, liquor cefalorachidiano ventricolare da reservoir sotto lo scalpo, liquor cefalorachidiano da puntura sotto-occipitale, liquor cefalorachidiano da ventricolo in sede operatoria, ecc.) da specificare nelle note.

Le indagini microbiologiche sul liquor cefalorachidiano sono eseguite per:

- confermare il sospetto clinico di **meningite** (a liquor torbido o a liquor limpido) ed identificare l'agente eziologico
- **controllo periodico** (derivazioni liquorali, controlli in pazienti neurochirurgici) in patologie senza segni clinici di meningite

Tale informazione (sospetta meningite o screening) deve essere specificata all'atto della prenotazione perché sono previste diverse procedure tecniche.

L'esame del liquor prevede, accanto alle indagini microbiologiche lo studio dei parametri chimico-fisici. Le infezioni meningee, se insorte in pazienti non sottoposti a derivazione, si configurano come urgenze mediche, per l'elevata letalità delle forme non trattate tempestivamente. Per questo motivo è possibile inviare il liquor in qualsiasi momento della

giornata. Nel caso di sospetta meningite, il protocollo standard dell'indagine microbiologica prevede l'esecuzione immediata dell'esame microscopico, la ricerca diretta degli antigeni batterici e l'esame colturale per ricerca di batteri "esigenti e non".

Nel caso di controllo periodico da derivazione il materiale va inoculato direttamente nei flaconi aerobio ed anaerobio.

Per altre indagini particolari (miceti, micobatteri o indagini sierologiche) utilizzare l'apposito codice di richiesta.

Materiali necessari

- Provette vacutainer senza additivi (tappo bianco)
- Flacone da emocoltura per germi aerobi e miceti
- Flacone da emocoltura per germi anaerobi

Modalità di prelievo

Il liquor cefalorachidiano deve essere prelevato in asepsi, sia per evitare una potenziale meningite iatrogena, per introduzione meccanica di germi al momento del prelievo, sia per evitare contaminazioni con microrganismi residenti sulla cute che potrebbero rendere difficoltosa l'interpretazione dell'esame colturale.

E' opportuno che il prelievo e la raccolta del liquor siano effettuate da due operatori: il medico che effettua la rachicentesi ed un secondo operatore che raccoglie nelle provette il liquor che fuoriesce.

Liquor da rachicentesi

1. Lavare accuratamente le mani con acqua e sapone e indossare guanti sterili
2. Disinfettare la cute per 2-3 minuti, passando dall'interno dell'area oggetto di disinfezione all'esterno
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)
4. Ritirare il mandrino e raccogliere il liquor in una prima provetta per l'esame chimico-fisico (almeno 2 ml)
5. Chiudere la provetta e posizionarne una seconda, raccogliere il liquor (almeno 3 ml) facendo attenzione che la provetta non venga a contatto con la cute del paziente
6. Chiudere la provetta e sfilare l'ago
7. Apporre una compressa di garza e cerotto sul sito di prelievo
8. Rimuovere i guanti e gettarli nell'apposito contenitore e lavare le mani con acqua e sapone

Liquor da derivazione

1. Lavare accuratamente le mani e indossare guanti sterili
2. Rimuovere il tampone che avvolge la punta del deflussore della derivazione
3. Porre in corrispondenza della punta del deflussore una provetta e lasciare defluire 2 ml per campione per chimico-fisico, se richiesto
4. Porre in corrispondenza della punta del deflussore una seconda provetta sterile e lasciare defluire almeno 3 ml di liquor cefalorachidiano (il volume ottimale sarebbe 10 ml) facendo attenzione che la provetta non venga a contatto con la cute del paziente o con la punta del deflussore
5. Chiudere la provetta o inoculare i flaconi da emocoltura
6. Introdurre il deflussore in una nuova piccola flebo
7. Rimuovere i guanti e gettarli nel contenitore per rifiuti speciali, lavare accuratamente le mani

Conservazione e invio

Il campione da rachicentesi deve essere consegnato in Laboratorio nel più breve tempo possibile. Il campione da derivazione **inoculato nei flaconi da emocoltura può essere consegnato con le stesse modalità dell'emocoltura.**

LIQUIDI BIOLOGICI

MATERIALI	MODALITA' DI PRELIEVO - TRASPORTO
CAMPIONI DA ASPIRAZIONE PERCUTANEA pleurico pericardico peritoneale ascitico amniotico sinoviale articolare	Pulire il sito della puntura con alcol etilico al 70% e lasciare asciugare. Eeguire antisepsi del sito cutaneo. Aspirare in asepsi il campione di liquido con siringa e ago sterili . Per ricerca germi/miceti inoculare nei FLACONI per AEROBI e ANAEROBI (quantità ideale :10 ml + 10 ml) . Se richieste ricerche aggiuntive inoculare il rimanente in provetta sterile. Inviare al più presto in Laboratorio o conservare a temperatura ambiente.
CAMPIONI DI LIQUIDO RACCOLTI DA TUBI DI DRENAGGIO	LA RACCOLTA E' SCORAGGIATA IN FAVORE DELL' ASPIRAZIONE DIRETTA. Disinfettare il tubo, lasciare asciugare e aspirare il liquido. Introdurre il campione nel tampone con terreno di trasporto e-Swab. NON INOCULARE NEI FLACONI PER EMOCOLTURA . Inviare al più presto in Laboratorio o conservare a temperatura ambiente .

PUS – ESSUDATI VARI

MATERIALI	MODALITA' DI PRELIEVO - TRASPORTO
LESIONI APERTE: piaghe ulcere ustioni ferite chirurgiche	Detergere con soluzione fisiologica sterile (non usare disinfettanti). Rimuovere i frammenti superficiali con bisturi e tamponi sterili. Raccogliere un campione bioptico dalla base/margine della lesione . Trasferire il campione nel terreno di trasporto eSwab. Segnalare il sito e la sede anatomica di prelievo.
LESIONI CHIUSE: vescicole pustole foruncoli	Disinfettare la zona prima del prelievo. Aspirare con ago e siringa se il materiale è abbondante o prelevare con tampone e trasferire in terreno di trasporto eSwab.
FERITE PROFONDE: ascessi aspirati tessuti molli	Aspirare asetticamente con siringa. Se il materiale è sufficiente inoculare un <u>set da emocoltura</u> . Se la quantità è <u>scarsa</u> utilizzare il terreno di trasporto degli eSwab.
BIOPSIE TRANSCUTANEE E FRAMMENTI OSSEI	Per biopsie di <i>piccole dimensioni</i> utilizzare il terreno di trasporto eSwab. Quando la biopsia è di <i>grandi dimensioni</i> utilizzare un <i>contenitore sterile con tappo a vite</i> . Umidificare con fisiologica sterile (massimo 1 ml). Consegnare al più presto in laboratorio.

E' necessario specificare nelle note al momento della prenotazione la sede del prelievo.

Ulteriori ricerche (Nocardia, Actinomyces, funghi filamentosi, parassiti) potranno essere effettuate dopo accordi con la Microbiologia.

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati a temperatura ambiente fino a 24 ore.

TAMPONI CUTANEI E SOTTOCUTANEI

La diagnosi eziologica d'infezione effettuata su tampone cutaneo, tampone sottocutaneo, tampone ombelicale, tampone ustione, tampone di Tenckhoff è difficoltosa per la necessità di distinguere i batteri patogeni, da quelli che hanno significato di contaminazione o colonizzazione del punto di prelievo.

Materiali necessari

- Tampone con terreno di trasporto eSwab

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati a temperatura ambiente fino a 24 ore.

CATETERE VASCOLARE (venoso, arterioso, ventricolare, epidurale)

Per la diagnosi eziologica delle infezioni sistemiche da catetere vascolare è opportuno l'invio contestuale della punta del catetere e di emocolture, prelevate da sede periferica diversa da quella in cui si registra l'inserimento del catetere.

Materiali necessari

- Provetta/contenitore sterile

Modalità di prelievo

1. Disinfettare la cute intorno al catetere applicando un impacco con antisettico per 1 minuto
2. Rimuovere il catetere, evitando la contaminazione per contatto con la superficie non sterile
3. Tagliare l'estremità distale del catetere (3-5 cm circa) con forbici sterili trattenendolo con le pinze
4. Inserire il segmento di catetere nella provetta/contenitore in maniera asettica

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati a +4°C fino a 24 ore.

BIOPSIA STOMACO **ricerca H.pylori**

Materiali necessari

- Piastra di terreno di coltura specifico da richiedere in Microbiologia
- Kit generatore di microaerofilia da richiedere in Microbiologia

Modalità di prelievo

1. Il prelievo è a cura dello specialista gastroenterologo
2. I campioni biotici devono essere immediatamente posti in coltura
3. La busta con il generatore di microaerofilia deve essere chiusa immediatamente con le apposite barrette

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati tempestivamente in Laboratorio.

FRAMMENTI OSSEI

Il protocollo standard per la valutazione della sterilità dei frammenti ossei prende in considerazione la ricerca di batteri e miceti.

Materiali necessari

- Tampone eSwab
- Tubo di brodo tioglicollato

Modalità di prelievo

1. Il prelievo è di competenza prettamente specialistica
2. Il frammento prelevato deve essere riposto nel tubo in maniera asettica

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati a temperatura ambiente fino a 24 ore.

FECI **esame colturale**

L'esame colturale delle feci è effettuato per:

- Enterite nell'adulto e nel bambino per ricerca *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*
- Enterite emorragica per ricerca *Escherichia coli* O157
- Ricerca di portatori di *Salmonella* o *Shigella*: per screening o controllo di pregressa infezione o in caso di contatto con malati o portatori
- Ricerca *Miceti* in soggetti trapiantati
- Ricerca *Yersinia* a fronte di sintomatologia di tipo appendicite
- Ricerca *Vibrio Cholerae* e altri vibriani

Materiali necessari

- Contenitore per feci

Modalità di raccolta

1. Raccogliere le feci su una superficie asciutta evitando contaminazioni da urina
2. Trasferire nel contenitore una quantità di feci pari a un cucchiaino

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati a +4°C fino a 24 ore.

TAMPONE RETTALE **Ricerca Enterobatteri produttori di carbapenemasi**

Il tampone rettale è indicato nel caso di sorveglianza e controllo portatori di Enterobatteri resistenti ai carbapenemi.

Materiali necessari

- Tampone rettale Fecal-Swab (tappo verde)

Modalità di prelievo

1. Inserire il tampone per la profondità di circa 2 cm, ruotandolo delicatamente per campionare le cripte anali
2. Collocare il tampone nell'apposito contenitore

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati a temperatura ambiente fino a 24 ore.

FECI **ricerca Rotavirus e/o Adenovirus**

La ricerca di Rotavirus e Adenovirus è indicata nell'enterite del bambino di età inferiore ai 2 anni.

Materiali necessari

- Contenitore per feci

Modalità di prelievo

1. Raccogliere le feci su una superficie pulita
2. Trasferire nel contenitore una quantità di feci pari a un cucchiaino

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati in frigorifero a +4°C fino a 24 ore.

FECI **ricerca Helicobacter pylori**

Helicobacter pylori è causa di molte patologie gastrointestinali.

La ricerca degli antigeni di *H.pylori* nelle feci consente l'accertamento dell'infezione o della avvenuta eradicazione dopo terapia.

E' preferibile eseguire il test per il controllo dell'avvenuta eradicazione di *H.pylori* almeno 4 settimane dopo la sospensione della terapia.

Materiali necessari

- Contenitore per feci

Modalità di raccolta

1. Raccogliere le feci su una superficie pulita
2. Trasferire nel contenitore una quantità di feci pari a un cucchiaino

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati in frigorifero a +4°C fino a 24 ore.

FECI **ricerca *Clostridium difficile* tossinogenico**

Nei casi di colite pseudomembranosa, in paziente ospedalizzato in chemioantibioticoterapia è possibile rilevare nelle feci la presenza di *Clostridium difficile* tossinogenico.

Secondo la Bristol stool chart i **campioni di feci formate** sono da considerare “**non idonei**” per la ricerca in questione. I campioni non idonei non saranno analizzati.

Materiali necessari

- Contenitore per feci

Modalità di raccolta

1. Raccogliere le feci su una superficie pulita
2. Trasferire nel contenitore una quantità di feci pari a un cucchiaino

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati in frigorifero a +4°C fino a 24 ore.

ESPETTORATO

L'indagine microbiologica delle secrezioni delle basse vie respiratorie viene richiesta soprattutto per la diagnosi di **bronchite cronica riacutizzata** o **polmonite**.

L'inevitabile contaminazione del campione con saliva però limita molto l'utilità di questa ricerca nella pratica clinica.

Il protocollo standard prevede l'esecuzione di un **esame microscopico** per valutare (secondo Bartlett) l'idoneità del campione per indagini microbiologiche (presenza e numerosità di cellule epiteliali del cavo orale o “cellule di sfaldamento” e/o di globuli bianchi) e la presenza di flora microbica. Sui campioni idonei si procede all'**esame colturale** e alla determinazione della carica semiquantitativa di batteri “non esigenti” e “esigenti” (tra cui *Haemophilus species*).

Ricerche particolari che richiedono l'utilizzo di terreni supplementari e/o di tecniche particolari (Nocardia, miceti filamentosi ecc...) dovranno essere segnalate all'atto della prenotazione o contattando la Microbiologia.

Materiali necessari

- Contenitore sterile a bocca larga con tappo a vite

Modalità di raccolta

1. Raccogliere l'espettorato al momento del risveglio perché la secrezione è più abbondante
2. Raccogliere l'espettorato preferibilmente lontano dall'assunzione di cibo
3. Sciacquare il cavo orale con acqua prima della raccolta del campione dopo aver grattato gentilmente, con spazzolino da denti morbido la mucosa interna delle guance, le gengive e la lingua
4. Rimuovere sempre eventuali protesi dentarie
5. Raccogliere almeno 3-5 ml di materiale
6. Non raccogliere in modo cumulativo i campioni respiratori
7. Espettorare in un contenitore sterile a bocca larga e con tappo a vite
8. Evitare l'introduzione di materiale salivare o di secrezioni nasali nel contenitore. In caso contrario ripetere la procedura dall'inizio.
9. Effettuare la raccolta preferibilmente in presenza di personale addestrato (infermiere o fisioterapista).

Nel caso di scarsa espettorazione spontanea è possibile indurre l'espettorato sottoponendo il paziente a manovre di fisioterapia e ad inalazione di 20-30 ml di soluzione fisiologica, con l'ausilio di un nebulizzatore ultrasonico.

E' possibile anche la raccolta di secrezioni respiratorie da **tracheotomia**.

La raccolta di quest'ultimo materiale è di specifica competenza del medico specialista.

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati in frigorifero a +4°C fino a 24 ore.

BRONCOASPIRATO - BRONCOLAVAGGIO

Secrezioni bronchiali raccolte con "prelievo protetto" rappresentano il materiale di elezione per la diagnosi eziologica delle infezioni delle basse vie respiratorie (**polmoniti, accessi polmonari**). Tale modalità di prelievo consente la raccolta di materiale a bassa contaminazione salivare, ma richiede la messa in atto di procedure invasive; trova quindi indicazione a fronte di quadri clinici di particolare gravità, nel sospetto di forme eziologiche inusuali o che richiedano terapie mirate (infezioni fungine, infezioni ospedaliere).

Il protocollo standard prevede l'esecuzione dell'esame microscopico (presenza e numerosità di cellule epiteliali del cavo orale o "cellule di sfaldamento", cellule bronchiali, globuli bianchi, batteri o miceti) (interpretazione secondo Bartlett) e delle ricerche colturali, indirizzate alla ricerca di un ampio spettro di batteri e miceti. Il risultato dell'esame colturale è espresso in forma quantitativa. Gli agenti eziologici di polmonite sono generalmente presenti in alte concentrazioni nelle secrezioni respiratorie ($\geq 100.000-1.000.000$ UFC/ml); quando il materiale è raccolto correttamente la popolazione microbica contaminante delle alte vie respiratorie è presente in concentrazioni < 10.000 UFC/ml.

Su broncospirato e bronco lavaggio può essere effettuata la ricerca mirata di *Pneumocystis jirovecii*.

Materiali necessari

- Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite

- In alternativa set di raccolta per bronco aspirato o broncolavaggio

Modalità di prelievo

La raccolta di secrezioni respiratorie attraverso “prelievo protetto” costituisce manovra di competenza del Medico specialista.

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati in frigorifero a +4°C fino a 24 ore.

TAMPONE FARINGEO/TONSILLARE esame colturale

Le indagini microbiologiche su essudato (o tampone) faringeo sono di norma indirizzate alla ricerca di *Streptococcus pyogenes* (Streptococco beta-emolitico di gruppo A), per diagnosi di faringo-tonsillite o ricerca di portatori.

Altre ricerche mirate:

- *Neisseria meningitidis* in pazienti affetti da sospetta meningite meningococcica o conviventi
- *Corynebacterium diphtheriae*, in caso di sospetta difterite o per accertare lo stato di portatore
- Faringite sintomatica in pazienti (o partner sessuali di pazienti) affetti da gonorrea (*Neisseria gonorrhoeae*)
- *Candida albicans* e altri lieviti in pazienti immunodepressi. Si precisa che l'antimicogramma viene eseguito solo per terapie antimicotiche mirate su lieviti resistenti alla terapia convenzionale
- *Streptococcus agalactiae* (gruppo B) si ricerca nei neonati al momento della nascita per escluderne la colonizzazione durante il parto

Materiali necessari

- Tampone con terreno di trasporto eSwab

Modalità di prelievo

Si raccomanda di eseguire il tampone faringeo lontano dall'assunzione di cibo; la stimolazione del faringe potrebbe indurre il riflesso del vomito:

1. Rivolgere il paziente verso una sorgente appropriata di luce, per visualizzare la sede del prelievo
2. Premere la lingua con un abbassa-lingua
3. 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
4. Strisciare “energicamente” il tampone tra i pilastri tonsillari, premendo sulle cripte tonsillari
5. Riporre il tampone nel contenitore contenente l'apposito terreno di trasporto

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati a temperatura ambiente fino a 24 ore.

TAMPONE FARINGEO **ricerca diretta *Streptococcus pyogenes***

Materiali necessari

- Un tampone a secco

Modalità di prelievo

Vedi Tampone faringeo

Conservazione e invio

Il prelievo ha carattere di urgenza e può essere inviato in qualsiasi momento in Laboratorio.

TAMPONE FARINGEO **ricerca diretta *HSV 1-2***

La ricerca diretta dell'antigene HSV 1-2 viene effettuata su lesioni evidenti a livello oro-faringeo raccogliendo il materiale dalle vescicole.

Materiali necessari

- Tampone a secco

Modalità di prelievo

Si raccomanda di eseguire il tampone faringeo in corrispondenza della lesione erpetica.

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio.

TAMPONE FARINGEO **ricerca diretta *RSV***

La ricerca di RSV si esegue da tampone faringeo.

Materiali necessari

- Tampone a secco

Modalità di prelievo

Vedi tampone faringeo

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio.

TAMPONE AURICOLARE

Le indagini microbiologiche consentono l'accertamento eziologico di **otite esterna** (inclusa la cosiddetta "otite del nuotatore"), **otite media suppurativa**, acuta in caso di rottura del timpano con fuoriuscita di essudato e **otite cronica**.

Materiali necessari

- Tampone con terreno di trasporto eSwab

Modalità di prelievo di competenza specialistica

1. Raccomandare al paziente di non procedere alla pulizia del canale auricolare nelle ore precedenti la raccolta delle secrezioni per l'esame
2. Rivolgere il paziente verso una sorgente adeguata d'illuminazione per visualizzare la sede ove operare il prelievo
3. Guidare il tampone nel condotto uditivo avendo cura di non strofinare le pareti interne, se possibile, usare un otoscopio sterile che, proteggendo il tampone durante l'inserimento, consente la raccolta di materiale a bassa contaminazione
4. Accertarsi che sul tampone sia sempre presente materiale di essudazione o secrezione
5. Riporre il tampone nel contenitore con il terreno di trasporto

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati a temperatura ambiente fino a 24 ore.

TAMPONE NASALE

Materiali prelevati a livello delle coane nasali non trovano indicazione per la diagnosi di rinite o sinusite. Non esiste quindi un protocollo d'indagine standard. Per la diagnosi eziologica di queste forme è opportuno contattare la Microbiologia.

Le indagini microbiologiche sono di norma eseguite in modo mirato. E' prevista la ricerca di:

- *Staphylococcus aureus* per alimentaristi, soggetti candidati a trapianto d'organo oppure sottoposti a trattamenti dialitici

Materiali necessari

- Tampone con terreno di trasporto eSwab.

Modalità di prelievo

1. Inserire e ruotare il tampone sulle pareti del condotto nasale
2. Riporre il tampone nel contenitore con il terreno di trasporto.

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati a temperatura ambiente fino a 24 ore.

TAMPONE CONGIUNTIVALE E CORNEALE

Le indagini microbiologiche consentono l'accertamento eziologico di **congiuntivite e cheratite**. Gli agenti più frequentemente responsabili sono cocchi gram-positivi (*Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pneumoniae*), cocchi gram-negativi (*Moraxella species* e *Neisseria species*) e bacilli gram-negativi (*Haemophilus species*).

Il protocollo standard è indirizzato alla ricerca di batteri “non esigenti” e “batteri esigenti”.

Per altre indagini, che richiedono l'utilizzo di terreni supplementari e/o di tecniche particolari, è necessario prendere contatti direttamente con la Microbiologia.

E' il caso ad esempio delle indagini per :

- Amebe a vita libera nelle cheratiti in portatori di lenti a contatto
- Miceti filamentosi

Materiali necessari

- Tampone con terreno di trasporto eSwab

Prelievo di competenza specialistica

1. Allontanare la palpebra dal bulbo oculare, traendola delicatamente verso l'operatore
2. Raccogliere le secrezioni, sfregando col tampone la congiuntiva
3. Retrarre il tampone senza toccare le palpebre o le ciglia, in caso contrario ripetere la procedura dall'inizio
4. Riporre il tampone nel contenitore contenente l'apposito terreno di trasporto.

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati a temperatura ambiente fino a 24 ore.

URINE esame colturale

L'esame colturale delle urine consente la ricerca di germi “non esigenti” (protocollo standard): Enterobatteri, bacilli gram-negativi non fermentanti, *Staphylococcus species*, *Streptococcus species*, bacilli gram-positivi e lieviti. L'esame è quantitativo e si considerano significative cariche ≥ 100.000 CFU/ml. Le urine possono essere raccolte con diverse modalità:

- **Urine da mitto intermedio:** ottenute da pazienti che urinano a comando (che non hanno problemi di incontinenza)
- **Urine da sacchetto:** nei bambini più piccoli o comunque quando non è possibile ottenere un campione di urine da mitto intermedio. Si segnala la possibilità di contaminazione del campione urinario con materiale fecale o perineale pertanto ogni referto positivo deve essere accuratamente valutato.
- **Urine da catetere estemporaneo:** riservato a pazienti per i quali non è possibile la raccolta del campione da mitto intermedio o, raramente, per conferma i risultati dubbi nel prelievo da mitto intermedio.
- **Urine da catetere permanente:** da pazienti portatori di un catetere a permanenza. In assenza di sintomi clinici una positività depone per una colonizzazione vescicale più che per una infezione delle vie urinarie.
- **Urine da...:** con tale dizione s'intendono i campioni raccolti con specifiche modalità o sedi (da catetere nefrostomico, da uretero-cutaneo-stomia, da catetere ureterale, da lavaggio vescicale, ecc...); la modalità del prelievo deve essere specificata al momento della prenotazione.

Non sono materiali idonei per indagini microbiologiche: la punta del catetere vescicale a permanenza e le urine raccolte dalla sacca connessa al catetere permanente.

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

- Cistiti recidivanti con urinocoltura persistentemente negativa
- Ripetuto isolamento di flora batterica mista
- Sospetta sindrome uretrale
- Ricerca di parassiti (*Schistosoma species*)
- Prelievo dopo lavaggio vescicale
- 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
- Miceti in pazienti immunodepressi.

Modalità di raccolta

Per adulti o bambini continenti: MITTO INTERMEDIO

1. Procurarsi l'apposito dispositivo Vacuette per la raccolta e trasferimento urine
2. applicare l'etichetta con i dati del paziente sulla provetta
3. raccogliere le urine della prima minzione del mattino
4. lavare con cura mani e genitali esterni con acqua e sapone
5. risciacquare abbondantemente e asciugare con una salviettina pulita
6. aprire il contenitore primario, eliminare il primo getto di urine e raccogliere almeno 20 ml del secondo getto
7. non toccare con le mani i genitali, i bordi o l'interno del contenitore
8. richiudere il contenitore primario con il tappo a vite
9. rimuovere l'etichetta sul tappo a vite
10. Inserire la provetta nell'apposito vano del coperchio con il tappo rivolto verso il basso e tenerla premuta affinché si riempia completamente
11. poi scartare il contenitore e consegnare la provetta al laboratorio

Per lattanti o bambini incontinenti: da SACCHETTO

1. Procurarsi due sacchetti adesivi (il secondo per eventuale ripetizione) sterili e un contenitore sterile ad imboccatura larga e tappo a vite
2. applicare l'etichetta con i dati del paziente sul contenitore
3. procedere alla raccolta possibilmente il mattino stesso in cui il campione verrà consegnato in laboratorio o, al massimo, la sera precedente avendo l'avvertenza di conservare il campione in frigorifero a +4°C
4. lavare accuratamente con acqua e sapone i genitali del bambino e la cute circostante - risciacquare abbondantemente
5. se possibile raccogliere direttamente nel barattolo sterile il campione di urina eventualmente stimolando la minzione nel modo più congeniale al bambino altrimenti applicare con l'apposita parte adesiva il sacchetto alla cute circostante i genitali
6. appena avvenuta la minzione (per il solo esame colturale sono sufficienti pochi millilitri di urina) rimuovere il sacchetto e richiuderlo accuratamente ripiegando su se stessa la parte adesiva
7. riporre il sacchetto all'interno del barattolo (non versare l'urina dal sacchetto nel barattolo)
8. non lasciare applicato il sacchetto per più di 45', se necessario sostituirlo dopo avere ripetuto la detersione

Per pazienti cateterizzati: da CATETERE A PERMANENZA

1. Procurarsi l'apposito dispositivo per la raccolta e trasferimento urine
2. procurarsi inoltre una siringa da 20 ml con ago
3. se richiesto anche l'esame chimico fisico procurarsi una provetta aggiuntiva
4. applicare l'etichetta con i dati anagrafici sulla provetta
5. procedere alla raccolta possibilmente il mattino stesso in cui il campione verrà consegnato in laboratorio o, al massimo, la sera precedente avendo l'avvertenza di conservare il campione in frigorifero a +4°C
6. non raccogliere l'urina dalla sacca o sconnettendo il catetere
7. chiudere con una pinza il tubo di raccordo fra catetere e sacca subito al di sotto della giunzione con il catetere per almeno un'ora
8. disinfettare un tratto del catetere appena al di sopra della giunzione con il raccordo o in corrispondenza del dispositivo apposito per il campionamento
9. aspirare con la siringa circa 20 ml di urina (se richiesto chimico fisico sono necessari ulteriori 13 -20 ml)
10. immettere il campione nel barattolo sterile avendo l'avvertenza di non toccarne i bordi o le pareti esterne con le mani e richiudendolo accuratamente
11. rimuovere l'etichetta dal tappo a vite e inserire la provetta, tenere premuta la provetta finché non si è riempita completamente
12. scartare il contenitore e consegnare la provetta al laboratorio

Per CATETERISMO ESTEMPORANEO

1. Lavare accuratamente le mani, asciugarle con cura e indossare guanti non sterili
2. Verificare la presenza del globo vescicale
3. Lavare accuratamente con acqua e sapone (non con antisettici) la regione dell'uretra, sciacquare con acqua e asciugare
4. Introdurre sterilmente il catetere dopo avere indossato guanti sterili
5. Lasciare defluire la prima parte delle urine, eliminandola in un contenitore destinato allo scarto (se fosse richiesto anche l'esame completo, raccogliere la prima parte delle urine nell'apposito contenitore)
6. Procedere alla raccolta delle urine successive nel contenitore primario vacuette e trasferire nella provetta sottovuoto etichettata con i dati del paziente.

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati in frigorifero a +4°C fino a 24 ore.

URINE **ricerca *Leptospira***

Materiali necessari

- Una provetta per urine

Modalità raccolta

Raccogliere un'aliquota di urine (primo mitto)

Conservazione e invio

Inviare il campione prima possibile in Laboratorio o conservare a +4°C fino a 24 ore.

TAMPONE VAGINALE

Il protocollo standard per “**vaginosi-vaginiti in età adulta**” è finalizzata alla valutazione di :

- Cellularità (globuli bianchi, cellule di sfaldamento, cellule parabasali), presenza di Lattobacilli, clue-cells (*Gardnerella vaginalis*) e di *Mobiluncus* species
- *Trichomonas vaginalis* e *Candida* spp
- Germi “potenzialmente patogeni” (Enterobatteri, *Staphylococcus aureus* o *Streptococcus agalactiae*)

Rivestono un ruolo diagnostico importante, se associati all’obiettività clinica, il riscontro di pH vaginale >4,5, la presenza di globuli bianchi, l’assenza di lattobacilli e il riscontro di elementi microbici patognomonic (ife fungine, clue-cells).

Il protocollo standard per vulvovaginite **in età pediatrica** (<12 anni) è finalizzato alle indagini sopra riferite oltre alla ricerca di *Streptococcus pyogenes* ed *Haemophilus*.

Con l’avvento della tecnica PCR real time la secrezione del fornice vaginale può essere utile anche per ricerca di *Chlamydia trachomatis*, *Neisseriae gonorrhoeae*.

Per la ricerca di Micoplasmi genitali è ancora necessario il prelievo di essudato cervicale. Ricerche mirate: Actinomyces ed Herpes virus.

Materiali necessari

- Tampone/i a secco
- Vetrino portaoggetti
- Tampone/i con terreno di trasporto eSwab

Preparazione della paziente

- Non effettuare il prelievo nel periodo mestruale per evitare risultati falsamente negativi
- Informare la paziente che per la corretta esecuzione dell’esame dovrà:
 - Evitare dalla sera precedente l’esame, il bagno in vasca; potranno essere effettuati lavaggi esterni
 - Evitare dalla sera precedente l’esame, l’introduzione in vagina di prodotti per l’igiene intima
 - Sospendere da almeno 3-4 giorni, l’applicazione di farmaci locali o eventuali terapie generali effettuate per infezioni vaginali
 - Astenersi nelle 24 ore che precedono il prelievo da rapporti sessuali
 - Prima del prelievo lavare accuratamente con acqua e sapone (non con antisettici) i genitali esterni, sciacquare con acqua e asciugare con salvietta pulita.

Modalità di prelievo dal fornice posteriore

1. Utilizzare un tampone a secco per asportare le secrezioni, allestire un vetrino con il materiale prelevato e asciugarlo all’aria
2. Prelevare la secrezione utilizzando **due tamponi** con terreno di trasporto eSwab

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati a temperatura ambiente fino a 24 ore.

Modalità di prelievo da canale cervicale

1. Rimuovere l’eccesso di muco cervicale con un tampone a secco
2. Per ricerca *Micoplasmi* urogenitali utilizzare **un** tampone con terreno di trasporto eSwab
3. Per ricerca *Neisseria gonorrhoeae* **un** tampone con terreno di trasporto eSwab
4. Per ricerca *Chlamydia trachomatis* **un** tampone con terreno di trasporto eSwab

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati a temperatura ambiente fino a 24 ore.

Modalità di prelievo tampone vulvare

- Utilizzare un tampone con terreno di trasporto eSwab

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati a temperatura ambiente fino a 24 ore.

TAMPONE VAGINO-RETTALE ricerca *Streptococcus agalactiae* (gr B)

Streptococcus agalactiae è l'agente eziologico più frequentemente in causa quale responsabile di gravi infezioni neonatali (sepsi, meningiti, polmoniti).

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

Le ricerche mirate a tale organismo si effettuano a livello vaginale e rettale alla 35-37a settimana di gravidanza o al momento del parto.

Materiali necessari

- Un tampone con terreno di trasporto eSwab

Modalità di prelievo

1. Introdurre il tampone prima in vagina poi nel retto
2. Reinserire il tampone nel tubo con terreno di trasporto

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati a temperatura ambiente fino a 24 ore.

RICERCA HSV 1-2 DA LESIONI GENITALI

La ricerca diretta dell'antigene HSV 1-2 deve essere effettuata su **lesioni evidenti** a livello genitale raccogliendo il materiale dalle vescicole con un tampone a secco.

Materiali necessari

- Un tampone a secco

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati a +4°C fino a 24 ore.

TAMPONE URETRALE

Le indagini microbiologiche sono indirizzate alla ricerca di:

- *Trichomonas vaginalis* e *Candida* spp
- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Micoplasmi* urogenitali
- *Gardnerella vaginalis*
- Germi “potenzialmente patogeni” (Enterobatteri, *Staphylococcus aureus* o *saprophyticus*, *Streptococcus agalactiae*)
- *Chlamydia trachomatis*

Materiali necessari

- Tre tamponi con asta sottile con terreno di trasporto eSwab

Modalità di prelievo

Il paziente non deve avere urinato da almeno 3 ore, si utilizzano uno o più tamponi a seconda delle ricerche da effettuare

1. Prima del prelievo il paziente deve lavare accuratamente con acqua e sapone i genitali esterni, sciacquare con acqua e asciugare
2. Introdurre delicatamente i tamponi per 1-2 cm, ruotare per qualche secondo quindi estrarli e introdurli nell'apposito tubo con terreno di trasporto

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati a temperatura ambiente fino a 24 ore.

LIQUIDO SEMINALE esame colturale

La spermicoltura è indicata per porre diagnosi eziologia d'infezione genitale (prostatite, orchiepididimite) e per l'accertamento di cause infettive di infertilità.

Il test è indirizzato alla ricerca dei batteri classicamente venerei (*Neisseria gonorrhoeae*) e di quelli abitualmente residenti a livello uretrale (Enterobatteri, bacilli gram-negativi non fermentanti, bacilli gram-positivi).

Materiali necessari

- Sistema di raccolta dedicato (imbuto e provetta di plastica trasparente graduata) o contenitore sterile a bocca larga con tappo a vite da urinocoltura

Modalità di raccolta

1. Eseguire l'esame dopo 7 giorni dal termine di ogni terapia antibiotica
2. Urinare prima della raccolta
3. Lavare accuratamente con acqua e sapone le mani e il pene. Asciugare con salvietta pulita
4. Raccogliere lo sperma per masturbazione nel contenitore, evitando di toccarne le pareti interne

Conservazione e invio

Controllare che il contenitore sia ermeticamente chiuso in modo che il materiale non esca durante il trasporto.

Consegnare al più presto in Laboratorio conservando il campione a temperatura ambiente.

CUTE, CAPELLI, PELI e UNGHIE **esame colturale per *Miceti***

Materiali necessari

- Contenitore sterile a bocca larga con tappo a vite
- Tampone con terreno di trasporto eSwab

Modalità di prelievo

- Il prelievo deve essere eseguito dopo qualche giorno dall'ultimo trattamento con antifungini
- La raccolta deve essere preceduta da un'attenta detersione
- Sgrassare la pelle o gli annessi con alcool etilico al 70%
- Effettuare il prelievo nelle zone delle lesioni in cui si possono rinvenire ife vive:
 - Squame periferiche dell'*herpes circinatus*
 - Squame degli spazi interdigitali
 - Capelli rotti e squame della zona alopecica
 - Pus del *kerion (lesione suppurativa micotica)*
 - Pezzi di unghia infetti, tagliati nella zona di contatto con la parte sana
- La raccolta può essere eseguita con vaccinostilo o bisturi a lama panciuta e le squame vanno lasciate cadere in un contenitore sterile a bocca larga tappo a vite sterile
- Per la raccolta delle unghie avvalersi di una tronchese per asportare tutta la porzione di lamina scollata non utilizzabile per l'esame micologico in quanto contaminata da miceti filamentosi saprofiti poi utilizzare una *curette* tagliente per grattare l'unghia a contatto con la parte sana. Raccogliere il materiale in un contenitore sterile a bocca larga tappo a vite sterile
- Nel caso siano presenti lesioni essudative umide utilizzare un tampone eSwab.

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati a temperatura ambiente fino a 24 ore.

RICERCA MICOBATTERI

Diagnosi diretta

- Esame microscopico per ricerca di bacilli alcool-acido resistenti (il loro riscontro è suggestivo di infezione da Micobatteri, specie in quadri clinici che orientino al sospetto di infezione da Micobatteri)
- Ricerca del genoma di M.Tb complex e di resistenza alla rifampicina con tecniche di amplificazione del DNA (real Time PCR multiplex)
- Esame colturale per identificazione di specie ed esecuzione dei test di sensibilità. L'esame colturale rappresenta il "gold standard" ma richiede tempi estremamente lunghi dovuti alla lenta velocità di crescita dei Micobatteri.

Per garantire la significatività dei risultati dobbiamo disporre di materiali (provenienti dalla sede del processo patologico) che contengano i microrganismi responsabili.

A richiesta e sui campioni positivi all'esame batterioscopico diretto si esegue la ricerca del DNA di M.tb complex con real Time PCR.

SECREZIONI RESPIRATORIE

La ricerca dei Micobatteri si può effettuare su tutti i campioni di secrezioni respiratorie, comunque raccolti. Anche l'espettorato costituisce materiale idoneo, purché non rappresentato da sola saliva. L'indagine consiste nell'esame microscopico (ricerca di bacilli alcool-acido resistenti) e nell'esame colturale con metodo tradizionale. Nel caso di sviluppo di Micobatteri si esegue identificazione ed antibiogramma. Su richiesta del Reparto e in caso di positività del microscopico diretto si procede al test di rilevazione del DNA con metodiche di biologia molecolare.

Materiali necessari

- Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite

Modalità di raccolta

1. Se espettorato, raccogliere 3 campioni in 3 giorni diversi
2. Valgono le indicazioni segnalate per la raccolta di secrezioni respiratorie per indagini batteriologiche e micologiche

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati in frigorifero a +4°C fino a 24 ore.

SANGUE

L'emocoltura trova indicazione nei soggetti immunocompromessi, in particolare affetti da AIDS, per la diagnosi delle micobatteriosi disseminate. E' consigliabile l'esecuzione di almeno 2 emocolture a distanza di 30 minuti una dall'altra

Materiali necessari

- Flacone per emocoltura Micobatteri (tappo nero) da richiedere alla Microbiologia

Modalità di prelievo

1. Vedi emocoltura

2. Prelevare 5 ml di sangue senza contaminare
3. Togliere il tappo di plastica e inoculare nel flacone per micobatteri

Conservazione e invio

Inviare il campione in Laboratorio al più presto per consentire l'aggiunta di fattori di crescita conservandolo a temperatura ambiente. I campioni sono accettati solo nell'orario di apertura della Microbiologia.

URINE

L'indagine consiste nell'esame microscopico e nell'esame colturale con metodo tradizionale. Su richiesta del Reparto e in caso di positività del microscopico diretto si procede al test di rilevazione del DNA con metodiche di biologia molecolare.

Materiali necessari

- Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite

Modalità di raccolta

- Raccogliere i campioni in 3 giorni diversi
- Prelevare **almeno 50 ml di urine** della prima minzione del mattino

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati in frigorifero a + 4°C fino a 24 ore.

ALTRI MATERIALI

La ricerca di Micobatteri si può effettuare su numerosi materiali:

- Aspirato gastrico (utile nel bambino e in caso di mancata o scarsa espettorazione)
- Liquor cefalorachidiano (i Micobatteri sono responsabili di meningite a liquor limpido)
- Liquido pleurico (in caso di versamento concomitante a localizzazione polmonare dell'infezione)
- Raccolte purulente
- Biopsie

Si effettua esame microscopico e colturale con metodo tradizionale e test di sensibilità sui ceppi isolati.

Su richiesta del Reparto e in caso di positività del microscopico diretto si procede al test di rilevazione del DNA con metodiche di biologia molecolare. **Vedi anche tabella.**

Materiali necessari

- Contenitore sterile con bocca larga, con tappo a vite
- Provette sterili
- Provette sterili con anticoagulante

Modalità di prelievo

Valgono le indicazioni segnalate per la raccolta degli stessi campioni per indagini batteriologiche e micologiche.

Conservazione e invio

- Il succo gastrico deve essere inviato immediatamente in Laboratorio per essere neutralizzato

- Gli altri campioni possono essere conservati in frigorifero a +4°C fino a 24 ore
E' importante specificare al momento della prenotazione nelle note il tipo di materiale inviato per l'indagine.

Ricerca Micobatteri Tipo di campione	Requisiti	Istruzioni speciali
Aspirato gastrico	≥5-10 ml raccolto al mattino, dopo almeno 8 ore di digiuno, per 3 giorni consecutivi	Indicare il materiale nelle note e inviare al più presto in Laboratorio per neutralizzazione
Broncoaspirato, lavaggio bronco-alveolare, spazzolatura bronchiale, aspirato trans-tracheale	≥3 ml	Disinfettare accuratamente il broncoscopio
Espettorato, espettorato indotto	5-10 ml raccolto al mattino da espettorazione profonda, per 3 giorni consecutivi	Istruire il paziente su come espettorare correttamente; specificare che si tratta di espettorato indotto
Feci	Almeno 1 grammo in contenitore i senza conservanti	Per la diagnosi di tubercolosi intestinale ricorrere a prelievo bioptico
Linfonodo	Linfonodo o porzione di esso in contenitore sterile senza fissativi o conservanti	Aggiungere una piccola quantità di soluzione fisiologica sterile
Liquidi cavitari: pleurico, pericardico, peritoneale ecc...	10-15 ml in provetta sterile (con citrato trisodico)	Per la diagnosi di pleurite tubercolare sono più indicati biopsia pleurica ed espettorato
liquor	>2 ml in provetta sterile	
Materiale da lesioni cutanee	La massima quantità possibile	Utilizzare tamponi floccati con brodo di trasporto solo se non è possibile eseguire il prelievo con siringa o biopsia
Materiali necrotico-ascessuali	Prelevare la quantità massima possibile con siringa e trasferire in provetta sterile	Se non è possibile prelevare con siringa, utilizzare tamponi floccati con brodo di trasporto
Midollo emopoietico	La quantità massima possibile , direttamente nel flacone da emocoltura per Micobatteri (tappo nero)	
Prelievi tessutali o biopsie	Almeno 1 gr di tessuto in contenitore senza fissativi o conservanti	Aggiungere una piccola quantità di soluzione fisiologica sterile
Sangue mestruale	Alcuni ml raccolti nel 25° o 3° giorno del flusso mestruale, in provetta con eparina	Preferibile eseguire curettage dell'endometrio
Sangue periferico	Direttamente nel flacone da emocoltura per micobatteri (tappo nero)	2-3 campioni. Prelevati a distanza di 30 minuti uno dall'altro, indipendentemente dall'andamento febbrile
Urine	La prima urina del mattino, almeno 50 ml, per 3 giorni consecutivi	Il mitto intermedio è sconsigliato

RICERCA PARASSITI

ASPETTI GENERALI

Sempre più rare nel nostro paese le parassitosi devono essere però considerate in specifici gruppi di popolazione o in quadri clinici particolari:

- Soggetti originari di paesi in via di sviluppo
- Soggetti di ritorno da viaggi in paesi in via di sviluppo, specie se non hanno effettuato adeguata profilassi o non hanno adottato le necessarie misure di igiene alimentare
- Contatti stretti con individui affetti da parassitosi trasmissibili per via orofecale o da ectoparassiti (pidocchi)
- Immunodepressi per patologie o terapie
- Soggetti con malassorbimento, dimagrimento, eosinofilia senza altra causa riconoscibile.

La finalità è ricercare in modo rapido e accurato gli agenti responsabili con esame microscopico. Di seguito sono riportate indicazioni per gli esami più frequenti.

Per ricerche particolari si prega di contattare la Microbiologia.

FECI

La ricerca per parassiti e loro uova si effettua mediante esame microscopico diretto e/o dopo colorazione.

Per un corretto esame si consiglia la ricerca su almeno 3 campioni raccolti in giorni diversi.

Vengono ricercati di routine (protocollo standard):

- Elminti (uova e/o larve): in caso di eosinofilia, adozione da paesi in via di sviluppo, viaggi in paesi in via di sviluppo, presenza di verme adulto nelle feci, disturbi addominali
- Protozoi quali la Giardia e i Coccidi in pazienti sintomatici (diarrea acquosa e/o disturbi cronici dell'alvo)

Su richiesta specifica si ricerca *Enterobius vermicularis* che richiede specifiche modalità di prelievo (v. sotto)

Altre ricerche:

- *Entamoeba histolitica* (diarrea muco-ematica in soggetti da zone endemiche)
- *Dientamoeba fragilis* (disturbi dell'alvo senza altra causa)
- *Microsporidium spp* (diarrea acquose in immunodepressi)
- *Criptosporidium parvum*
- Vermi adulti o parti di essi

Materiali necessari

- Contenitore per feci

Modalità di raccolta

Raccogliere le feci su una superficie pulita e trasferire nel contenitore una quantità pari a un cucchiaino

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati a + 4°C fino a 24 ore.

SCOTCH TEST

ricerca *Enterobius vermicularis*

Materiale necessario

- Un vetrino portaoggetti
- Scotch trasparente (formato standard)

Modalità prelievo e allestimento vetrino

1. Tagliare una striscia di scotch lunga circa 5 centimetri
2. Al mattino, **prima delle normali operazioni igieniche e prima di evacuare**, indossare un paio di guanti, rivoltare la striscia di scotch sul dito medio mantenendo la parte adesiva all'esterno, allargare le natiche del soggetto ed applicare la striscia di scotch **trasparente** in zona perianale
3. Toccare alcune volte l'orifizio anale
4. Applicare quindi lo scotch **trasparente** sul vetrino con la parte adesiva a contatto del vetro, evitando di lasciare grosse bolle d'aria tra vetrino e scotch

Conservazione e invio

Consegnare in Laboratorio il vetrino con lo scotch adesivo, dentro una busta di carta.

URINE

I campioni urinari sono analizzati per la ricerca di *Schistosoma haematobium* in soggetti sintomatici provenienti da zone in cui la schistosomiasi è endemica.

Materiali necessari

- Contenitore sterile a bocca larga con tappo a vite.

Preparazione del paziente

1. I campioni devono essere prelevati almeno 3 ore dopo l'ultima minzione. Il numero delle uova è maggiore nelle urine tra le ore 12 e le ore 14
2. Il paziente prima di urinare deve effettuare almeno 10 flessioni sulle gambe

Modalità di raccolta

Raccogliere circa 50 ml della parte terminale della minzione

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati in frigorifero a + 4°C fino a 24 ore.

ASPIRATO DUODENALE

La ricerca (sempre mirata e su richiesta specifica) trova indicazione per:

- *Strongyloides stercoralis*
- *Giardia lamblia*
- *Cryptosporidium parvum*

Materiali necessari

- Contenitore sterile a bocca larga con tappo a vite

Preparazione del paziente

Effettuare il prelievo a digiuno

Modalità di prelievo

Raccolta di aspirato duodenale nel contenitore sterile senza additivi

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio o conservati in frigorifero a + 4°C fino a 24 ore.

SANGUE

La ricerca (sempre mirata e su richiesta specifica) rientra nella diagnosi relativa agli agenti parassitari responsabili di infezioni sistemiche:

- *Plasmodium spp*
- *Leishmania spp*

Materiali necessari

- Provetta per emocromo

Modalità di prelievo

Il prelievo ideale per *Plasmodium spp* dovrebbe essere eseguito durante la puntata febbrile, ma la ricerca dei plasmodi si impone anche in assenza di febbre. Se negativa ripetere al primo rialzo termico o se il quadro clinico è fortemente sospetto o ingravescente, ogni 6 – 8 ore anche senza febbre.

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio.

Per la ricerca di *Plasmodium spp* è prevista la richiesta in urgenza / emergenza.

INDAGINI SIEROIMMUNOLOGICHE

ASPETTI GENERALI

Le indagini sierologiche permettono la diagnosi d'infezioni pregresse o in atto, determinando la presenza e la quantità di anticorpi circolanti prodotti dal paziente contro gli antigeni del microrganismo che l'ha invaso, o degli antigeni stessi.

La risposta anticorpale è rilevabile attorno ai 7-14 giorni dopo il primo contatto con un antigene. In alcuni casi gli anticorpi si possono evidenziare solo dopo alcuni mesi.

I primi anticorpi a comparire appartengono alla classe IgM: il loro titolo aumenta fino a un certo livello e decresce in tempi diversi a seconda del tipo di infezione. Poco dopo si rivela la comparsa degli anticorpi della classe IgG che dopo un'iniziale incremento si stabilizzano su livelli costanti nel tempo (mesi, anni o tutta la vita) a testimoniare il contatto con il germe specifico.

Gli anticorpi di classe IgG intervengono nella risposta immunitaria secondaria proteggendo dall'azione patogena del germe in caso di nuova esposizione allo stesso antigene.

La ricerca e la quantificazione degli anticorpi nel siero si effettua per:

Valutare lo stato immunitario del paziente

- ad esempio lo screening pre-gravidanza per la rosolia e la toxoplasmosi accerta la protezione verso questi agenti e permette una eventuale vaccinazione nel caso della rosolia e l'adozione di specifiche norme di igiene nel caso della toxoplasmosi

Porre diagnosi d'infezione in atto

- Dimostrando l'incremento anticorpale in due campioni nella fase acuta e nella fase di convalescenza (a distanza di 10-20 giorni tra loro)
- Rilevando la presenza di IgM specifiche in un solo campione, se il metodo lo consente
- Rilevando la presenza degli antigeni, se circolanti

Le indagini sono eseguite su campioni di siero, pertanto deve essere raccolto sangue senza anticoagulante. E' preferibile effettuare il prelievo a digiuno, per evitare sieri lipemici.

INDAGINI SIEROIMMUNOLOGICHE SU SIERO

Sono mirate alla rilevazione di antigeni o anticorpi.

In particolare sono rivolte alla diagnosi di: Infezioni batteriche, Infezioni fungine, Infezioni parassitarie e Infezioni virali

Materiali necessari

- Provetta vacutainer tappo giallo da 7 ml con separatore

Conservazione e invio

Le provette possono essere conservate, in posizione verticale, a +4-8°C fino a 24 ore.

QuantiFERON-TB Gold

L'indagine trova indicazione nella diagnosi di infezione tubercolare latente.

Il prelievo può essere eseguito **dal lunedì al venerdì. Evitare i prelievi in giorni prefestivi.**

Le provette sono disponibili presso l'accettazione del Laboratorio Analisi o presso la Microbiologia del S. Anna e sono fornite in numero esatto rispetto ai pazienti da esaminare previo accordo telefonico (Tel. 236506, 236846). Insieme alle provette viene consegnato un

modulo per la raccolta dei dati anamnestici. **Conservare** le provette non ancora utilizzate a 4°C .

Modalità di prelievo

1. Etichettare correttamente le 3 provette TAPPO GRIGIO, TAPPO ROSSO e TAPPO VIOLA
2. Prelevare 1 ml di sangue venoso in ciascuna provetta. Il sangue deve essere raccolto lentamente fino a raggiungimento della linea nera indicata sulla parete
3. Il volume deve essere preciso per non invalidare il risultato dell'esame
4. Agitare per capovolgimento le provette per 5 secondi per fare in modo che l'intera superficie interna del tubo sia bagnata dal sangue.

Conservazione e invio

Le provette devono pervenire al più presto in Microbiologia e comunque entro le 14 del giorno stesso in cui viene effettuato il prelievo **accompagnate dall'anamnesi del paziente compilata in ogni sua parte** (MOD 048 MICRO). NON refrigerare o congelare il campione di sangue!!

INDAGINI SIEROIMMUNOLOGICHE SU LIQUIDI BIOLOGICI

- Liquor cefalorachidiano (sierologia per lue e ricerca antigene criptococcico)
- Urine (antigene di *Legionella pneumophila* sierogruppo 1 e antigene *Pneumococco*)
- Sangue (antigene precoce pp65 di CMV nei leucociti).

LIQUOR ricerca antigeni Criptococco

Materiali necessari

- Provetta sterile senza additivi

Modalità di prelievo

Raccogliere il campione in asepsi e immetterlo nella provetta seguendo le indicazioni esposte per le indagini batteriologiche e micologiche sullo stesso materiale

Conservazione e invio

I campioni devono essere inviati al più presto in Laboratorio, se non fosse possibile conservare a + 4°C fino a 24 ore.

URINE ricerca antigeni Legionella e/o Pneumococco

Materiali necessari

- Una provetta per urine

Modalità raccolta

Raccogliere un'aliquota di urine (primo mitto)

Conservazione e invio

La ricerca degli antigeni di Legionella e pneumococco su urine ha carattere di urgenza, inviare il campione prima possibile in Laboratorio o conservare a +4-8°C massimo 24 ore.

SANGUE ricerca antigene precoce pp65 di CMV nei leucociti

Materiali necessari

- Una provetta con EDTA da 7 ml

Conservazione e invio

Porre la provetta in Trans bag con la scritta **PER MICROBIOLOGIA** e consegnare dal lunedì al venerdì , esclusi i prefestivi, **entro le ore 9** in Laboratorio

ALTRE INDAGINI

SPERMIOGRAMMA

L'indagine si esegue previo appuntamento. Telefonare alla segreteria del Laboratorio Analisi del S. Anna – Tel. 0532-236250 dal Lunedì al Venerdì dalle ore 10 alle ore 12 per l'appuntamento.

Il giorno dell'appuntamento presentarsi dalle ore 8 alle ore 9.30 presso la Segreteria del Laboratorio Analisi dell'Ospedale S. Anna muniti di tesserino sanitario e dell'impegnativa medica.

Materiali necessari

Sistema di raccolta dedicato (imbuto e provetta in plastica trasparente graduata) o contenitore sterile a bocca larga con tappo a vite.

Modalità di raccolta

- Prima dell'esame, osservare un periodo di astinenza sessuale di 4 giorni.
- Lo sperma va ottenuto esclusivamente per masturbazione e senza uso di profilattici
- Raccogliere tutto lo sperma direttamente nel contenitore evitando qualsiasi dispersione
- Riportare sul contenitore i dati anagrafici e l'ora di raccolta dello sperma

Conservazione e invio

Consegnare il campione in laboratorio entro 1 ora dalla raccolta, avendo cura di non esporlo al freddo.