

**AZIENDA OSPEDALIERA SANT'ANTONIO ABATE di GALLARATE
PRESIDIO OSPEDALIERO di GALLARATE
LABORATORIO ANALISI CHIMICO-CLINICHE E MICROBIOLOGICHE**

ALLEGATO 2 DEL DOCUMENTO OSLAB05

**MODALITA' DI PRELIEVO, CONSERVAZIONE
ED INVIO DEI CAMPIONI PER RICERCHE
MICROBIOLOGICHE**

INDICE

I parte - Introduzione

1.1	Premesse	pag.	3
1.2	Flora residente nei distretti corporei	pag.	5
1.3	Elenco delle ricerche microbiologiche disponibili	pag.	7
1.4	Elenco degli esami microbiologici	pag.	11

II parte - Modalità di prelievo dei campioni

2.1	Sangue	pag.	13
2.2	Midollo osseo	pag.	15
2.3	Punte di cateteri vascolari	pag.	16
2.4	Liquido cefalo-rachidiano	pag.	17
2.5	Urine	pag.	18
2.6	Feci	pag.	20
2.7	Broncoaspirato	pag.	21
2.8	Broncolavaggio	pag.	22
2.9	Espettorato	pag.	23
2.10	Tampone faringeo	pag.	24
2.11	Tampone rinofaringeo	pag.	25
2.12	Tampone auricolare	pag.	26
2.13	Prelievi oculari	pag.	27
2.14	Essudati e liquidi di drenaggio	pag.	28
2.15	Essudato vaginale	pag.	29
2.16	Essudato endocervicale	pag.	30
2.17	Essudato uretrale	pag.	31
2.18	Pezzi bioptici e protesi	pag.	32

III parte - ALLEGATI

3.1	Allegato 1: modalità di esecuzione degli strisci per esami batterioscopici	pag.	34
3.2	Allegato 2: Orari e modalità di accettazione dei campioni	pag.	35
3.3	Allegato 3: raccolta e conservazione dei campioni biologici nelle ore di chiusura del Laboratorio	pag.	36
3.4	Allegato 4: materiali necessari per i prelievi microbiologici	pag.	37
3.5	Allegato 5: Facsimile scheda di accompagnamento degli esami microbiologici	pag.	38

IV parte - SIEROIMMUNOLOGIA

4.1	Indagini sieroimmunologiche	pag.	40
-----	-----------------------------	------	----

I PARTE

INTRODUZIONE

1.1 PREMESSE

Scopo di questo manuale è principalmente quello di fornire tutte le informazioni che possono facilitare il compito a chi deve preparare i campioni da inviare al Laboratorio.

La finalità delle indagini batteriologiche è quella di ricercare, in modo rapido ed accurato, gli agenti responsabili di processi infettivi con il duplice scopo di identificarli e di determinarne la sensibilità ai chemio-antibiotici.

Per raggiungere questo obiettivo è necessario che la garanzia della qualità sia estesa anche alle fasi non svolte direttamente in Laboratorio, in particolare alla fase di scelta delle indagini da effettuare, alla corretta esecuzione del prelievo, al trasporto dei campioni in Laboratorio.

Il Laboratorio può fornire risultati attendibili solo se dispone di campioni validi. I campioni da esaminare devono, pertanto, essere prelevati seguendo scrupolosamente i criteri sottoindicati.

1. LA RICERCA DEI MATERIALI DEVE AVVENIRE PRIMA DELL'INIZIO DELLA TERAPIA ANTIBIOTICA.

La ricerca di un microorganismo, effettuata dopo la somministrazione di farmaci atti a distruggerlo, appare operazione irrazionale e contraddittoria.

Se il paziente è sottoposto a trattamento antimicrobico per un'altra forma morbosa concomitante e non è possibile interrompere la terapia, occorre avvertire tempestivamente il Laboratorio. Alcuni provvedimenti tecnici possono, attenuando l'azione antibatterica del farmaco presente, permettere l'isolamento del germe.

2. LA RACCOLTA DEVE ESSERE EFFETTUATA STERILMENTE NELLA SEDE ANATOMICA DEL PROCESSO MORBOSO.

Escludendo i casi in cui il microorganismo esercita la sua azione patogena attraverso esotossine (tetano, botulismo, ecc.), appare evidente che la presenza di batteri nella sede anatomica del processo morboso permette, potendo escludere una contaminazione esogena o endogena del campione, di attribuire un sicuro significato eziologico agli stipiti isolati.

3. OCCORRE EVITARE OGNI CONTAMINAZIONE ESOGENA O ENDOGENA DEL CAMPIONE.

Il microbiologo non è in grado di distinguere, se non in casi particolari, se i batteri isolati sono gli agenti responsabili del processo morboso o se rappresentano un flora di inquinamento.

La patologia infettiva attuale è sostenuta prevalentemente dai cosiddetti "batteri patogeni facoltativi" che a differenza dei patogeni classici, fanno parte della flora residente di alcuni distretti corporei o dell'ambiente esterno.

I batteri patogeni facoltativi normalmente presenti nell'ambiente possono contaminare i campioni se la loro raccolta non viene eseguita con modalità rigorosamente asettiche (**contaminazione esogena**).

La flora residente di taluni distretti corporei può inquinare il materiale patologico al momento della sua emissione o durante il prelievo (**contaminazione endogena**). Ciò avviene, ad esempio, per l'essudato bronchiale ad opera della flora orofaringea nella fase

di espettorazione; per l'urina ad opera dei batteri dei genitali esterni durante la minzione; per il sangue o gli essudati ad opera della flora cutanea al momento del prelievo, eccetera.

In tutte queste situazioni è quasi impossibile chiarire con sicurezza il significato eziologico degli stipti isolati.

Occorre inoltre precisare che l'eziologia di forme morbose localizzate in distretti dotati di flora residente può essere definita, presuntivamente, soltanto se l'agente causale è un patogeno classico o un patogeno facoltativo (in carica elevata), normalmente assente in quella zona corporea.

4. IL TRASPORTO DEI CAMPIONI IN LABORATORIO DEVE AVVENIRE IN TEMPI E CONDIZIONI CHE NON ALTERINO LE CARATTERISTICHE BATTERIOLOGICHE DEL MATERIALE PATOLOGICO.

La prolungata conservazione a temperatura ambiente può causare la morte dei batteri meno resistenti, come gli emofili e le neisserie patogene; inoltre talune specie (inquinanti o non), possono moltiplicarsi a spese di altre, alterando il naturale rapporto quantitativo fra le varie componenti microbiche del materiale e favorendo valutazioni errate.

Per i campioni prelevati in piccola quantità (es. cateteri) il ritardo della semina nei terreni di coltura può causare una disidratazione cospicua del materiale patologico con danno spesso irreversibile anche per i batteri più resistenti.

Se per ragioni logistiche o di altra natura i tempi di consegna al Laboratorio subiscono dei ritardi prolungati, è indispensabile richiedere al microbiologo adeguati terreni di trasporto per ovviare agli inconvenienti sopraindicati.

5. IL CAMPIONE DEVE ESSERE ACCOMPAGNATO DALLA SCHEDA DI RICHIESTA COMPILATA IN OGNI SUA PARTE.

La diagnosi clinica o il sospetto diagnostico, l'ora di prelievo e le modalità di conservazione del campione, le precedenti indagini batteriologiche, l'eventuale terapia chemio-antibiotica in corso sono indispensabili per la valutazione d'idoneità del campione, per una corretta esecuzione dell'esame batteriologico e di conseguenza per la buona qualità del risultato.

1.2 FLORA RESIDENTE NEI DISTRETTI CORPOREI

APPARATO RESPIRATORIO

Distretti non sterili e flora batterica residente

- a) Cavità orale, orofaringe e rinofaringe
 - Stafilococchi (*S.aureus*, *S. epidermidis*) e Micrococchi
 - Streptococchi (S.viridanti, Enterococchi, Pneumococchi)
 - Cocchi Gram positivi anaerobi
 - Corinebatteri, Lattobacilli
 - Neisserie non patogene
 - Cocchi Gram negativi anaerobi
 - Enterobatteri (*E. Coli*, *Enterobacter* spp, *Klebsiella* spp)
 - Emofili
 - Bastoncelli Gram negativi anaerobi
 - Miceti (*Candida albicans*)
- b) Cavità nasale
 - Stafilococchi (*S.aureus*, *S.epidermidis*)
 - Streptococchi (viridanti e Pneumococchi)
 - Emofili
 - Corinebatteri

Distretti abitualmente sterili

- a) Laringe
- b) Trachea
- c) Bronchi
- d) Alveoli
- e) Cavità sinusali

APPARATO GASTROINTESTINALE

Distretti non sterili e flora batterica residente

- a) Cavità orale (Vedi Apparato respiratorio)
- b) Intestino crasso e parte terminale dell'ileo
 - Stafilococchi (*S. aureus*, *S. epidermidis*)
 - Streptococchi (S.viridanti, Enterococchi)
 - Cocchi Gram positivi anaerobi
 - Corinebatteri, Lattobacilli
 - Clostridi
 - Cocchi Gram negativi anaerobi
 - Enterobatteri
 - Bastoncelli Gram negativi non fermentanti (*Alcaligenes fecalis*, *P.aeruginosa*, *Flavobacterium* spp)
 - Bastoncelli Gram negativi anaerobi (*Bacteroides* spp, *Fusobacterium* spp)
 - Miceti (*Candida albicans* e altri lieviti).

Distretti abitualmente sterili

- a) Esofago e stomaco (possono essere contaminati in modo transitorio da batteri presenti negli alimenti ingeriti).
- b) Intestino tenue (per la maggior parte)

c) Peritoneo

APPARATO GENITOURINARIO

Distretti non sterili e flora batterica residente

a) Genitali esterni

Stafilococchi (*S. epidermidis*)
Streptococchi (*S. viridanti*, Enterococchi)
Cocchi Gram positivi anaerobi
Corinebatteri
Bastoncelli Gram negativi anaerobi (*Bacteroides spp*)
Miceti (*Candida albicans* e altri lieviti).

b) Meato uretrale

Stafilococchi (*S. epidermidis*)
Streptococchi (Enterococchi)
Cocchi Gram positivi anaerobi
Corinebatteri
Neisserie non patogene
Enterobatteri
Bastoncelli Gram negativi non fermentanti (*Acinetobacter spp*)
Emofili
Miceti (*Candida spp*)

c) Vagina pre-pubere e in menopausa

Flora simile a quella cutanea (vedi apparato tegumentario)

d) Vagina (nella donna in età fertile)

Lattobacilli (*Lactobacillus acidophilus*)
Stafilococchi (*S. aureus*, *S. epidermidis*)
Streptococchi (Enterococchi, *S. viridans*, *S. agalactiae*)
Neisserie non patogene
Corinebatteri
Enterobatteri
Bastoncelli Gram negativi non fermentanti (*Acinetobacter spp*)

Distretti abitualmente sterili

a) Tutti gli altri organi.

APPARATO TEGUMENTARIO

Distretti non sterili e flora residente

a) Cute e orecchio esterno

Stafilococchi (*S. aureus*, *S. epidermidis*) e Micrococchi
Corinebatteri
Bastoncelli Gram positivi anaerobi (*Propionibacterium acnes*)
Miceti (lieviti)

b) Congiuntiva

Stafilococchi (*S. aureus*, *S. epidermidis*)
Streptococchi viridanti
Corinebatteri

1.3 ELENCO DELLE RICERCHE MICROBIOLOGICHE DISPONIBILI

Gli esami colturali possono essere richiesti su materiali diversi, per problemi e necessità diverse; pertanto, è importante che il Personale medico e infermieristico del Reparto sappia quali sono le ricerche che si possono effettuare nel Laboratorio di Microbiologia.

Le ricerche colturali che si possono richiedere, riguardano:

- **BATTERI COMUNI**, che crescono sui normali terreni di coltura e non richiedono atmosfere particolari. I principali sono: Enterobatteri, Pseudomonas, Stafilococchi, Enterococchi, Streptococchi. A questi va aggiunta la Candida.

- **BATTERI ESIGENTI**, che necessitano di terreni arricchiti e atmosfere di incubazione con CO₂ incubati per almeno 48-72 ore, o più a lungo. I principali batteri considerati sono: Emofili, Neisseriae patogene, Streptococchi esigenti, Brucelle, Listeria, ecc.

- **BATTERI PARTICOLARI**, che necessitano di terreni arricchiti o selettivi o di caratteristiche colturali loro proprie; per questi occorre eseguire una ricerca mirata. I principali sono: Campylobacter, Gardnerella, Yersinia, Clostridi, Legionella, Vibrioni, ecc.

- **ANAEROBI**.

- **MICOBATTERI**.

- **MICETI** (la Candida, però, va considerata con i Batteri comuni).

E inoltre, con altra metodologia, **MICOPLASMI, CLAMIDIA; VIRUS, PARASSITI**.

Illustriamo ora per alcuni materiali quali ricerche vengono effettuate di routine e quali, invece, possono venire effettuate su richiesta mirata.

MATERIALE	BATTERI RICERCATI DI ROUTINE	ALTRE RICERCHE SU RICHIESTA
SANGUE	AEROBI (BATTERI COMUNI E BATTERI ESIGENTI), MICETI, ANAEROBI	MICOBATTERI

Significatività: ogni microorganismo è significativo, poiché il materiale di partenza è sterile; vi può essere inquinamento da flora cutanea o per manipolazioni scorrette.

MATERIALE**BATTERI RICERCATI
DI ROUTINE****ALTRE RICERCHE
SU RICHIESTA****LIQUOR**BATTERI COMUNI,
BATTERI ESIGENTIMICOBATTERI,
MICETI; e inoltre
Pneumocystis
Criptococco (coltura,
antigeni solubili
Rickettsia conori
Treponema
Borrelia burgdorferi
Virus

Significatività: ogni microorganismo è significativo, poiché il materiale di partenza è sterile; vi può essere inquinamento da flora cutanea o per manovre scorrette.

URINE

BATTERI COMUNI

MICOBATTERI
CHLAMYDIE
MYCOPLASMI

Significatività: varia in funzione delle modalità di prelievo, del sesso, della sintomatologia presente o meno, della carica batterica, della conferma dello stesso isolamento su due campioni consecutivi. Sono critici il prelievo, il tempo di invio e la conservazione delle urine per evitare falsi positivi.

FECI formate

SALMONELLA

YERSINIA, VIBRIONI,
C. DIFFICILE,
ROTAVIRUS,
ADENOVIRUS
CRYPTOSPORIDIUM
RICERCA PARASSITI**FECI liquide**SALMONELLA
SHIGELLA ,
CAMPYLOBACTER
YERSINIA
E. COLI 157

Significatività: è abbastanza sicura per i patogeni classici in pazienti con sintomatologia gastroenterica. Ha valore epidemiologico nei pazienti asintomatici con presenza di patogeni classici. E' discutibile nei pazienti sintomatici in cui non si evidenziano patogeni classici: andrebbero ricercati i fattori di patogenicità, come le tossine.

MATERIALE
**BATTERI RICERCATI
DI ROUTINE**
**ALTRE RICERCHE
SU RICHIESTA**
***ESPETTORATO
BRONCOASPIRATO***

BATTERI COMUNI

 MICOBATTERI, MICETI,
ACTYNOVICES,
NOCARDIA, LEGIONELLA,
PNEUMOCYSTIS

Significatività: è legata alla presenza di leucociti (indice di reazione infiammatoria) e di batteri in carica elevata e in flora prevalente. Il passaggio del materiale attraverso il cavo orale favorisce la contaminazione batterica.

TAMPONE AURICOLARE

 BATTERI COMUNI
BATTERI ESIGENTI
MICETI (Otiti croniche)

Significatività: nel caso di otite media vi deve essere perforazione timpanica; nelle otiti esterne gli isolamenti possono essere significativi solo in presenza di manifestazioni acute localizzate (foruncolo) o diffuse con canale auricolare edematoso ed arrossato.

TAMPONE FARINGEO

 STREPTOCOCCO BETA-
EMOLITICO GRUPPO A
(S. PYOGENES)

 STAFILOCOCCO
AUREO
C. DIPHTERIAE

Significatività: è certa nel caso di paziente sintomatico con presenza di S. pyogenes; è discussa nel caso di pazienti asintomatici con streptococchi in bassa carica che permangono anche dopo terapia antibiotica. La valutazione dei portatori di Stafilococco o di altri batteri deve essere strettamente correlata a problemi epidemiologici precisi: viene eseguita solo previo accordo con un laureato della Microbiologia.

TAMPONE RINO-FARINGEO

Significatività: esame di dubbio significato clinico. Si ricercano eventualmente i portatori di Stafilococco Aureo per il loro probabile ruolo nella trasmissione di infezioni ospedaliere.

TAMPONE OCULARE

 BATTERI COMUNI,
BATTERI ESIGENTI

C. TRACHOMATIS

Significatività: il dato colturale deve essere correlato alla sintomatologia clinica.

PUS

 BATTERI COMUNI
BATTERI ESIGENTI
ANAEROBI

MICOBATTERI,

Significatività: il pus è un materiale patologico, per cui la presenza di batteri sia nell'esame microscopico (soprattutto se con presenza di batteri intraleucocitari), sia nell'esame colturale, di norma è considerata significativa di infezione in atto.

MATERIALE	BATTERI RICERCATI DI ROUTINE	ALTRE RICERCHE SU RICHIESTA
<i>PUS PERITONEALE</i>	BATTERI COMUNI BATTERI ESIGENTI ANAEROBI	MICOBATTERI

Significatività: come sopra

<i>TAMPONE URETRALE ed ENDOCERVICALE</i>	BATTERI COMUNI, BATTERI ESIGENTI MICETI	MYCOPLASMI, CHLAMYDIA
---	---	--------------------------

Significatività: i batteri isolati vanno considerati in funzione di reazione infiammatoria, identificazione, carica, flora prevalente, presenza intraleucocitaria.

<i>TAMPONE VAGINALE</i>	BATTERI COMUNI, BATTERI ESIGENTI, MICETI, VALUTAZIONE VAGINOSI
--------------------------------	---

Significatività: come sopra.

N.B.: su ogni materiale, previo accordo tra Clinico e Microbiologo, si possono eseguire ricerche mirate

1.4 ELENCO DEGLI ESAMI MICROBIOLOGICI

Broncoaspirato
Coprocultura
Emocoltura (aerobiosi)
Emocoltura (anaerobiosi)
Espettorato
Essudato (specificare: ascesso, essudato gastrico, ferita, pus, ecc.)
Liquido cefalo-rachidiano
Liquido peritoneale
Liquido pleurico
Liquido sinoviale
Liquido seminale
Mielocoltura
Punta catetere
Tampone auricolare
Tampone congiuntivale
Tampone cutaneo
Tampone endocervicale
Tampone faringeo
Tampone rinofaringeo
Tampone uretrale
Tampone vaginale
Urinocoltura
Esame batterioscopico
Ricerca a fresco per Trichomonas
Ricerca Streptococco di gruppo B in tampone vaginale, cervicale, rettale
Ricerca Chlamydia (specificare la sede del prelievo)
Ricerca Mycoplasmi urogenitali
Ricerca Rotavirus nelle feci
Ricerca Adenovirus nelle feci
Ricerca Cryptosporidium nelle feci
Ricerca tossina A di Clostridium difficile nelle feci
Esame parassitologico delle feci, per elminti e protozoi
Scotch test
Ricerca Dermatofiti (batterioscopico - colturale)
Esame batterioscopico per Micobatteri in materiali diversi (specificare)
Esame colturale per Micobatteri in materiali diversi (specificare)
Ricerca di Criptococco (esame colturale)
Ricerca di antigeni solubili di Criptococco (D.A.)
Ricerca Pneumocisti (I.F.)
Ricerca Legionella (I.F. e coltura)

II PARTE

MODALITA' DI PRELIEVO DEI CAMPIONI

2.1 SANGUE (EMOCOLTURA)

MATERIALE PER LA RACCOLTA

- Aghi e siringhe monouso oppure Vacutainer;
- disinfettante in base alcoolica (Clorexidina) o alcool 70°
- flaconi contenenti brodo di coltura, da conservare - prima dell'uso - a temperatura ambiente (flaconi VITAL (Bio Merieux) per aerobi e per anaerobi).

MODALITA' DI PRELIEVO

PREPARAZIONE

- Individuare la vena più adatta al prelievo;
- sgrassare la cute con disinfettante in base alcoolica (Clorexidina) o alcool 70°;
- disinfettare la cute lasciando in sede di prelievo un impacco di disinfettante in soluzione alcoolica per 2 - 4 minuti; il disinfettante viene rimosso con alcool 70° pulendo dal centro alla periferia
- per ogni prelievo devono essere utilizzati due diversi flaconi per emocoltura (ovvero un set), così da consentire la crescita di tutti i possibili patogeni;
- rimuovere il cappuccio dai flaconi senza toccare il tappo di gomma, sterile. In caso di contatto, disinfettare il tappo di gomma applicando un impacco con lo stesso disinfettante utilizzato per la cute. Non flambare e non utilizzare disinfettanti contenenti iodio.

ESECUZIONE

- Effettuare il prelievo senza toccare con le dita la zona disinfettata; se necessario, munirsi di guanti sterili o disinfettarsi accuratamente il dito che palpa;
 - prelevare non più di 5 ml. per ogni flacone
 - per la Pediatria sono sufficienti 1-2 ml.
 - immettere immediatamente il sangue in ciascun flacone, inoculando per primi i flaconi per anaerobi. Quantità superiori possono alterare il test ed impedire la lettura strumentale.
 - ciascun flacone deve essere accompagnato da un modulo di richiesta compilato in tutte le sue parti, specificando data ed ora del prelievo. Data ed ora del prelievo vanno riportate anche sull'etichetta di identificazione di ciascun flacone.
- Si raccomanda inoltre particolare attenzione nell'applicare le etichette. Lo SPAZIO VUOTO SUL FLACONE deve rimanere libero, poiché lo strumento legge attraverso quella finestra. Non applicare inoltre l'etichetta sul codice a barre che peraltro serve allo strumento per identificare il campione.

NUMERO E TEMPI DI PRELIEVO

- Eseguire SEMPRE almeno 2 - 3 prelievi (set) per emocoltura. Questo è essenziale per una corretta valutazione di microorganismi non classicamente patogeni (es. Staphylococcus epidermidis), che assumono significato solo se isolati da più campioni;
- in caso di brivido effettuare il prelievo il più presto possibile; a questo far seguire il secondo ed il terzo ad intervalli di 15-30 minuti;

- in caso di febbre continua con sospetta setticemia (endocardite, brucellosi, tifo...) il momento del prelievo non è particolarmente critico e si possono eseguire 3-6 prelievi nell'arco di 1-2 giorni;
 - in caso di paziente in cui è necessario iniziare immediatamente la terapia (es. shock settico da *Neisseria*), eseguire due prelievi per emocoltura contemporaneamente (uno per braccio), dopodiché si può iniziare immediatamente la terapia antibiotica;
 - è importante ESEGUIRE L'EMOCOLTURA PRIMA DELLA TERAPIA ANTIBIOTICA. Gli antibiotici riducono comunque la carica batterica circolante, per cui, in caso di terapia, si ha una più frequente negatività dell'esame colturale.
- In caso di paziente in terapia antibiotica, si consiglia di eseguire il prelievo immediatamente prima della somministrazione di una nuova dose di antibiotico introducendo una minore quantità di sangue (3 ml) al fine di ridurre la concentrazione delle sostanze antimicrobiche.

CONSERVAZIONE

Consegnare in Laboratorio; dopo l'orario di chiusura mantenere a temperatura ambiente.

NOTE

E' consigliato eseguire il prelievo da vena periferica: campioni raccolti attraverso cateteri vascolari hanno più probabilità di contaminarsi durante la raccolta.

I campioni vengono incubati di regola per un periodo di 8 giorni. Su segnalazioni particolari ed in base alle informazioni fornite con il modulo di richiesta (sospetto di brucellosi o di endocardite, ricerca di microorganismi esigenti, ...), il tempo di osservazione viene protratto;

In caso di positività, che si può verificare in un qualunque giorno del periodo di incubazione, verrà immediatamente data comunicazione telefonica alla Divisione di degenza.

Per la ricerca di Malaria non si eseguono emocolture, bensì inviare provette da emocromo.

2.2 MIDOLLO OSSEO (MIELOCOLTURA)

MATERIALE PER LA RACCOLTA

- Flaconi da emocoltura
- siringhe ed aghi appositi.

MODALITA' DI PRELIEVO

- Disinfettare la cute della zona di prelievo con le stesse modalità utilizzate per l'emocoltura;
- eseguire l'agoaspirato ed immettere parte del materiale nei flaconi.
- con il materiale rimasto allestire almeno due vetrini per esame batterioscopico.

CONSERVAZIONE

- Il prelievo va concordato e inviato immediatamente in Microbiologia (solo durante gli orari di apertura del servizio).

NOTE

- E' NECESSARIO CONOSCERE A PRIORI IL SOSPETTO DIAGNOSTICO;
- ricerche particolari (es. Leishmania) eseguire almeno due vetrini per esame batterioscopico.

2.3 PUNTE DI CATETERI VASCOLARI

MATERIALE PER LA RACCOLTA

- Contenitori sterili in plastica, a bocca larga, con tappo a vite.

MODALITA' DI PRELIEVO

- Disinfettare la sede di giunzione cute - catetere, utilizzando un disinfettante alcolico oppure un impacco iodato da applicare per almeno un minuto. Attendere che il disinfettante sia asciugato;
- pinzare il catetere con pinze sterili e, utilizzando forbici sterili, tagliarne il segmento distale intravascolare. Il segmento, di una lunghezza di circa 5 centimetri, deve essere introdotto sterilmente nel contenitore.

CONSERVAZIONE

- Inviare immediatamente in Microbiologia, oppure conservare il campione a +4°C in frigorifero per non più di 24 ore.

2.4 LIQUIDO CEFALO-RACHIDIANO (esame colturale)

MATERIALE PER LA RACCOLTA

- Provette sterili;
- aghi e siringhe sterili.

MODALITA' DI PRELIEVO

- Disinfettare la cute come indicato per le emocolture;
- prelevare il liquor e distribuirlo in due provette, destinate rispettivamente all'esame colturale ed all'esame chimico-fisico.

CONSERVAZIONE

- Inviare subito in Microbiologia; è esame urgente.

NOTE

- Si sottolinea che, per una corretta indagine microbiologica, è necessario inviare almeno 5 mL di campione;
- è necessario eseguire SEMPRE contemporaneamente un'emocoltura;
- in caso di positività, che si può verificare in un qualunque giorno del periodo di incubazione, verrà data immediatamente comunicazione telefonica alla Divisione di degenza;
- la ricerca di particolari microorganismi (Micobatteri, anaerobi, Miceti) deve essere specificata sul modulo di richiesta.

2.5 URINE

A) Urine da mitto intermedio

MATERIALE PER LA RACCOLTA

- Contenitore sterile in plastica, con tappo a vite;

MODALITA' DI PRELIEVO

- Raccogliere le urine procedendo come segue:
 - lavare accuratamente le mani con acqua e sapone;
 - pulire accuratamente e ripetutamente i genitali esterni con acqua e sapone (nel maschio dopo aver represso completamente la cute del glande; nella donna tenendo distanziate le grandi labbra con una mano e pulendo con l'altra mano dall'avanti all'indietro);
 - risciacquare con acqua corrente ed asciugarsi con tovaglioli di carta monouso;
 - urinare (nella donna tenendo divaricate le grandi labbra), scartando il primo getto (circa 20 mL), e raccogliere il mitto intermedio direttamente nel contenitore;
 - riempire per un quarto il contenitore, avendo l'avvertenza di non contaminare con mani, peli o genitali i bordi o l'interno del contenitore;
 - richiudere accuratamente il contenitore.

NOTE

- Le urine della prima minzione del mattino sono da preferirsi, in quanto presentano una carica batterica più elevata, dovuta alla permanenza delle urine in vescica durante la notte;

B) Urine da sacchetto di plastica adesivo

MATERIALE PER LA RACCOLTA

- Sacchetto di plastica adesivo, sterile;

MODALITA' DI PRELIEVO

- Detergere accuratamente la regione sovrapubica, perineale ed i genitali esterni con soluzione saponosa; risciacquare a lungo ed asciugare con tovaglioli di carta monouso;
 - applicare il sacchetto, facendolo aderire al perineo ed alla regione sovrapubica;
 - lasciare "in situ" il sacchetto per non più di 30-60 minuti; se necessario, procedere alla sostituzione, dopo aver ripetuto la detersione dei genitali e della cute;
 - appena avvenuta la minzione, rimuovere il sacchetto e versare l'urina nell'apposito contenitore, o inviare il sacchetto stesso dopo averlo chiuso accuratamente.

NOTE

- A causa delle critiche modalità di raccolta del campione, è essenziale rispettare le modalità di conservazione ed ogni risultato positivo deve essere confermato su almeno due campioni raccolti in giorni successivi, in cui vi sia lo sviluppo degli stessi batteri in colonia pura.
- se l'urina viene travasata dal sacchetto al contenitore sterile, segnalare sulla scheda di accompagnamento la natura del campione (ovvero urina da sacchetto), poiché su tali campioni verrà effettuata la conta dei leucociti in camera di Nageotte (valori normali: meno di 8 leucociti per mL).

C) Urine da catetere o con prelievo sterile

MATERIALE PER LA RACCOLTA

- Contenitore sterile in plastica, a bocca larga, con tappo a vite;
- siringa sterile monouso.

MODALITA' DI PRELIEVO

- Per le urine da catetere a permanenza:
 - clampare il catetere con una pinza, al di sotto del raccordo con la sacca, per almeno un'ora;
 - disinfettare un tratto del catetere, appena al di sotto della giunzione con il tubo di raccordo, oppure, se il catetere ne è provvisto, disinfettare l'apposito dispositivo per la raccolta dei campioni;
 - aspirare con siringa sterile circa 10 mL di urina ed immetterli nell'apposito contenitore;
 - non raccogliere l'urina dalla sacca o sconnettendo il catetere.
- Per le urine da cateterizzazione vescicale:
 - raccogliere l'urina direttamente nel contenitore sterile;
 - data la frequenza di infezioni delle vie urinarie, conseguenti a questa pratica, il suo impiego andrebbe limitato a casi molto particolari (es. impossibilità di evitare la contaminazione del campione mediante altre tecniche di raccolta, pazienti incapaci di collaborare, problemi di valutazione di basse cariche microbiche);
- Per le urine in corso di cistoscopia:
 - l'urina raccolta in corso di cistoscopia è immessa in contenitore sterile;
 - segnalare sul contenitore che si tratta di urina in corso di cistoscopia, poiché in questo caso si valuta ogni carica batterica.

CONSERVAZIONE

- Tutti i campioni, raccolti con le modalità descritte precedentemente, devono essere inviati subito in Microbiologia, oppure conservati a +4°C (fino a 24 ore).

NOTE

- Per ricerche particolari è necessario contattare il Laboratorio di Microbiologia;
- per la ricerca di Micobatteri si richiede l'invio delle urine emesse con la minzione del mattino. Il campione di urina deve essere raccolto in provetta sterile disponibile in Microbiologia; sono necessari tre campioni di urina, raccolti in tre mattine successive;
- non sono idonee per indagini microbiologiche le urine raccolte dalla sacca connessa al catetere permanente o da uridom;

- non vanno eseguite indagini colturali su punte di catetere vescicale, in quanto danno risultati fuorvianti.

2.6 FECCI

MATERIALE PER LA RACCOLTA

- Contenitore in plastica, con tappo a vite;

MODALITA' DI PRELIEVO

1) Per enterite:

- è preferibile il prelievo in contenitore di plastica;
- viene eseguita di routine la ricerca di Salmonella spp. e, in caso di feci diarroiche, Campylobacter, Shigella, Yersinia, Cryptosporidium, E.Coli 157, Stafilococco Aureo, Rotavirus, Adenovirus.

2) Per ricerca di tossina di Clostridium difficile:

- inviare una piccola quantità di feci in contenitore di plastica;
- tale ricerca deve essere espressamente richiesta sul modulo di accompagnamento.

3) Per la ricerca di Streptococco B nelle pazienti all'8° mese di gravidanza eseguire tampone rettale

4) Per ricerca Parassiti:

- inviare almeno tre campioni di feci da raccogliere con l'apposito collettore inserito nel tappo del contenitore di plastica con liquido conservante;
- tale ricerca deve essere espressamente richiesta: sul modulo di accompagnamento occorre rispondere accuratamente alle domande ivi riportate, riguardanti alcune situazioni di tipo anamnestico.

CONSERVAZIONE

- Le feci raccolte in contenitore di plastica devono essere inviate in Laboratorio entro due ore dalla raccolta; diversamente, la sopravvivenza di determinati patogeni (es. Campylobacter spp.) può essere compromessa;

NOTE

- Le feci rappresentano il materiale idoneo per tutte le ricerche sopra indicate, purché vengano consegnate entro due ore dalla raccolta
- le feci non sono un materiale idoneo per la ricerca di Micobatteri;
- può essere richiesta a parte la ricerca di Yersinia, Criptosporidium, Rotavirus, Adenovirus, Miceti, Campylobacter, Clostridium.
- per l'esame parassitologico delle feci è a disposizione apposito contenitore con formalina, al fine di migliorare la conservazione di parassiti, uova e cisti;
- per la ricerca di uova di Enterobius vermicularis (Ossiuro) il prelievo consigliato è lo Scotch test: va eseguito preferibilmente al mattino, lasciando adesivo all'orifizio anale uno scotch trasparente, per circa 10 minuti; questo verrà, poi, fatto aderire ad un vetrino portaoggetto, da inserire in un contenitore ed inviare in Laboratorio;
- per ogni altro tipo di ricerca non prevista dal protocollo, è necessario contattare un laureato della Microbiologia.

2.7 BRONCOASPIRATO

MATERIALE PER LA RACCOLTA

- Set sterile monouso con apposito contenitore con tappo a vite.

MODALITA' DI RACCOLTA

- In presenza di abbondante secrezione, collegare il sondino endobronchiale direttamente al set monouso, rispettando rigorosamente le norme di asepsi;
- in caso di scarsa secrezione, immettere sterilmente 3-5 mL di soluzione fisiologica sterile nel sondino endobronchiale; far rimuovere, quando possibile, le secrezioni profonde con colpi di tosse ed aspirare nella provetta del set monouso.

CONSERVAZIONE

- Eseguire il broncoaspirato solo durante gli orari di apertura della Microbiologia; attese superiori alle due ore prima della semina possono rendere non attendibili i risultati dell'esame colturale.

NOTE

- Il broncoaspirato è un materiale non idoneo per la ricerca di batteri anaerobi (tale ricerca è, invece, possibile su secrezioni raccolte con catetere protetto infatti, anche il broncoaspirato, durante la raccolta, può facilmente contaminarsi con la flora residente nel cavo orale;
- la ricerca di particolari microorganismi (Miceti, Micobatteri) deve essere specificata sul modulo di richiesta;
- il tubo endotracheale non è un materiale idoneo per le indagini microbiologiche, in quanto durante la sua rimozione viene contaminato, inevitabilmente, dai microorganismi del cavo orale.

2.8 BRNCOLAVAGGIO

MATERIALE PER LA RACCOLTA

- Set sterile monouso con apposito contenitore con tappo a vite.

MODALITA' DI RACCOLTA

- Nel paziente sottoposto a broncoscopia si iniettano nei bronchi che interessano 20-30 mL di fisiologica sterile, di cui si riaspira il massimo volume possibile. Il materiale va raccolto direttamente nel contenitore del set sterile.

CONSERVAZIONE

- Eseguire il broncolavaggio solo durante gli orari di apertura della Microbiologia; attese superiori alle due ore prima della semina possono rendere non attendibili i risultati dell'esame colturale.

NOTE

- La ricerca di particolari microorganismi (Miceti, Micobatteri) deve essere specificata sul modulo di richiesta.

2.9 ESPETTORATO

MATERIALE PER LA RACCOLTA

- Recipiente sterile trasparente, a bocca larga, con tappo a vite.

MODALITA' DI RACCOLTA

- Al mattino, a digiuno, procedere ad una accurata pulizia del cavo orale ed effettuare dei gargarismi con acqua distillata sterile;
- raccogliere l'espettorato dopo un colpo di tosse; l'espettorato deve provenire dalle basse vie aeree e non deve essere contaminato da saliva; è opportuno che il paziente sia assistito, durante la raccolta, da personale infermieristico;
- se il paziente ha difficoltà ad espettorare, si può ricorrere alla induzione aerosolica: far inspirare al paziente, lentamente e profondamente, un aerosol di soluzione salina tiepida per una decina di volte; raccogliere, successivamente, l'espettorato nel contenitore sterile.

TEMPI DI PRELIEVO

- Un solo campione è in genere sufficiente nel caso di polmoniti batteriche (vedi: note);
- per la diagnosi di infezione tubercolare sono necessari tre campioni raccolti in tre mattine distinte.

CONSERVAZIONE

- Eseguire la raccolta solo durante gli orari di apertura della Microbiologia; attese superiori alle due ore prima della semina possono rendere non attendibili i risultati dell'esame colturale;
- se l'espettorato è raccolto per la ricerca di Micobatteri, può essere conservato a +4°C fino a 24 ore.

NOTE

- L'espettorato può essere non rappresentativo della infezione in atto, se contaminato da materiale salivare; perciò viene sempre valutata l'idoneità del campione con un esame microScopico del materiale prima di procedere all'indagine.
- l'espettorato è un materiale non idoneo per la ricerca di batteri anaerobi; tale ricerca è, invece, possibile su secrezioni raccolte attraverso catetere protetto.
- la ricerca di particolari microorganismi (Miceti, Micobatteri) deve essere specificata sul modulo di richiesta.

2.10 TAMPONE FARINGEO

MATERIALE PER LA RACCOLTA

- Tampone con terreno di trasporto;
- abbassalingua sterile.

MODALITA' DI PRELIEVO

- Facendo uso di un abbassalingua e di un appropriato sistema di illuminazione, applicare il tampone direttamente sulla sede interessata, evitando il contatto con la lingua, il velo palatino e le arcate dentarie. Assicurarsi che il tampone si imbibisca del materiale patologico della lesione, premendo sulle cripte tonsillari. Evitare che il tampone si contamini di saliva. Riporre il tampone nel terreno di trasporto.

CONSERVAZIONE

- Inviare subito in Microbiologia, oppure conservare a temperatura ambiente per non più di 24 ore.

NOTE

- Di routine viene ricercato *Streptococcus pyogenes* (Streptococco beta-emolitico di gruppo A); ogni altra ricerca (*Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium diphtheriae*, ecc.) deve essere specificata sul modulo di richiesta, dopo aver preso contatti con un laureato della Microbiologia.

2.11 TAMPONE RINOFARINGEO

MATERIALE PER LA RACCOLTA

- Tampone sottile, montato su filo di alluminio, con terreno di trasporto.

MODALITA' DI PRELIEVO

- Dopo aver immobilizzato la testa del paziente, inserire con cautela il tampone sottile in una narice, ruotandolo e procedendo fino a raggiungere la parete posteriore del rinofaringe; mantenere il tampone "in situ" per qualche secondo, prima di estrarlo. Ripetere l'operazione con lo stesso tampone per l'altra narice. Riporre i tamponi nei contenitori con terreno di trasporto.

CONSERVAZIONE

- Inviare subito in Microbiologia, oppure conservare a temperatura ambiente per non più di 24 ore.

NOTE

- Ricerche microbiologiche su tampone rino.faringeo hanno dubbio significato clinico.
- per la ricerca a scopo epidemiologico di portatori di *Staphylococcus aureus*, è sufficiente il prelievo dalle narici anteriori con lo stesso tipo di tampone utilizzato per il tampone faringeo, inserito per 2-3 centimetri e ruotato delicatamente; per queste ricerche vanno presi accordi preventivi con un laureato della Microbiologia;
- per eventuali ricerche di altro tipo, contattare un laureato della Microbiologia.

2.12 TAMPONE AURICOLARE

MATERIALE PER LA RACCOLTA

- Tampone sottile, montato su filo di alluminio, con terreno di trasporto;
- otoscopio.

MODALITA' DI ESECUZIONE

- Il prelievo prevede l'impiego di un otoscopio che, raddrizzando la curvatura del condotto uditivo esterno e proteggendo il tampone durante l'inserimento, consente la raccolta del materiale che fuoriesce dal timpano, riducendone la contaminazione. Dopo aver imbibito il tampone del materiale purulento, riporlo nel contenitore con terreno di trasporto;
- la raccolta è solitamente di competenza del medico specialista, salvo i casi di abbondante fuoriuscita di pus dal timpano perforato;
- per otiti esterne, imbibire il tampone con materiale significativo (vedi: note).

CONSERVAZIONE

- Inviare subito in Microbiologia, oppure conservare a temperatura ambiente per non più di 24 ore.

NOTE

- Nelle otiti croniche è consigliabile effettuare contemporaneamente la ricerca dei Miceti;
- il tampone auricolare non trova indicazione nei casi di otite media a membrana timpanica integra;
- le otiti esterne che giustificano una ricerca colturale sono quelle con manifestazioni acute localizzate (foruncolo), o acute diffuse con cute del canale edematosa ed arrossata; le otiti esterne croniche sono legate di norma ad otiti medie croniche suppurative.

2.13 PRELIEVI OCULARI

MATERIALE PER LA RACCOLTA

- Tampone sottile, montato su filo di alluminio, con terreno di trasporto;
- kit per la ricerca di *Chlamydia trachomatis*.

MODALITA' DI PRELIEVO

1) In caso di congiuntivite:

- raccogliere le secrezioni dalla congiuntiva tarsale mediante tampone prima della instillazione di anestetici e/o antibiotici. Riporre il tampone nel terreno di trasporto.

2) In caso di dacriocistite (acuta o cronica):

- se possibile, spremere dolcemente il sacco lacrimale e raccogliere con il tampone il materiale purulento che fuoriesce; riporre il tampone nel terreno di trasporto.

3) in caso di cheratite, endoftalmite, celluliti orbitali e perisettali:

- il prelievo deve essere effettuato dallo specialista.

CONSERVAZIONE

- Inviare subito in Microbiologia, oppure conservare a temperatura ambiente per non più di 24 ore.

2.14 ESSUDATI E LIQUIDI DA DRENAGGIO

MATERIALE PER LA RACCOLTA

- Siringa sterile;
- contenitori per il trasporto dei campioni in condizioni di anaerobiosi (PORT-A-CUL);
- provette sterili (o recipienti sterili) con tappo a vite;
- tampone con terreno di trasporto.

MODALITA' DI PRELIEVO

PREPARAZIONE

- Per la raccolta di materiale in profondità (da ascessi, liquido pleurico, liquido ascitico,...) si raccomanda un'accurata disinfezione della cute, come indicato per l'emocoltura;
- per le raccolte superficiali (ferite) si raccomanda la deterzione della lesione con soluzione fisiologica sterile; non utilizzare disinfettanti che possono compromettere l'esito dell'indagine;
- per la raccolta da tragitti fistolosi è opportuno procedere ad accurata pulizia del tragitto, immettendovi, dopo aver disinfettato la cute in corrispondenza dell'orifizio, soluzione fisiologica sterile ed aspirandola successivamente. Penetrare, quindi, con un catetere nel focolaio suppurativo e procedere all'aspirazione del materiale da esaminare;
- per le raccolte dai drenaggi:
 - A - se vi è abbondante materiale, clampare il drenaggio a valle, disinfettare il tubo, prelevare bucando con siringa sterile ed aspirare;
 - B - se vi è scarso materiale, clampare il drenaggio con due pinze opportunamente distanziate, quindi con siringa sterile immettere nel tubo soluzione fisiologica sterile, previa disinfezione del punto di inserzione, ed aspirare la soluzione.

PRELIEVO

- Per la ricerca di microorganismi aerobi, anaerobi e Miceti:
 - non sono idonei per tale ricerca i campioni prelevati con tampone, oppure trasferiti in provette o altri contenitori diversi da quello indicato al punto successivo. Questi, infatti, consentono il contatto del materiale con l'aria, rendendolo non più idoneo alla ricerca dei germi anaerobi;
 - sono idonei per tale ricerca i campioni conservati e trasportati negli appositi flaconi PORT-A-CUL. A tale scopo, disinfettare il tappo del contenitore ed immettere lentamente il materiale, in modo che si deponga sulla superficie del terreno di trasporto. Evitare di introdurre aria. I contenitori non sono più utilizzabili se il loro contenuto si presenta disidratato, con screpolature, oppure se è di colore rosa-lavanda, indice di presenza di ossigeno;
 - per la ricerca di soli microorganismi aerobi e Miceti:
 - qualora si ritenga non opportuno procedere alla ricerca di anaerobi, i campioni possono essere inviati in provette o altri recipienti sterili con tappo a vite oppure in tampone con terreno di trasporto. Per la ricerca di Micobatteri, i campioni NON devono essere raccolti con tampone in terreno di trasporto. Se vi è necessità di esame microscopico, il campione deve essere inviato in provetta.

CONSERVAZIONE

- In contenitori per anaerobi (PORT-A-CUL) o in tampone con terreno di trasporto, la conservazione può essere protratta per 24 ore a temperatura ambiente;

- i campioni in provette o altri recipienti sterili devono essere inviati immediatamente in Microbiologia.

2.15 ESSUDATO VAGINALE

MATERIALE PER LA RACCOLTA

- Tamponi sterili con terreno di trasporto;
- tamponi sterili senza terreno di trasporto (tamponi a secco);
- vetrini portaoggetto;
- provetta con soluzione fisiologica.

MODALITA' DI PRELIEVO

1) In caso di sospetta vaginite:

- alla paziente in posizione ginecologica inserire lo speculum, eventualmente inumidito in acqua corrente tiepida, e prelevare le secrezioni dai fornicia vaginali. Utilizzare:

- un tampone con terreno di trasporto per l'esame colturale;
- un tampone a secco (da porre nella provetta con soluzione fisiologica) per la ricerca di *Trichomonas vaginalis*;
- un tampone a secco con cui eseguire due vetrini per l'esame batterioscopico (vedi: allegato 1);
- un tampone con terreno di trasporto per Mycoplasmi.

2) per la ricerca di portatore di *Streptococcus agalactiae* (*S. beta-emolitico* di gruppo B):

- alla paziente in posizione ginecologica inserire lo speculum, eventualmente inumidito in acqua corrente tiepida, e prelevare la secrezione endo-cervicale, utilizzando un tampone con terreno di trasporto.

CONSERVAZIONE

- Soltanto il materiale prelevato con tampone ed inserito nel terreno di trasporto può essere conservato per 24 ore a temperatura ambiente;
- la provetta per la ricerca di *Trichomonas vaginalis* va inviata immediatamente in Microbiologia, solo durante gli orari di apertura.

NOTE

- La paziente deve evitare, dalla sera precedente l'esame, lavande vaginali e l'introduzione in vagina di prodotti per l'igiene intima; possono essere effettuati lavaggi esterni;
- l'applicazione di farmaci locali o terapie antibiotiche per via sistemica devono essere state sospese da almeno 3 - 4 giorni;
- le secrezioni dai fornicia vaginali non sono idonee per la ricerca di *Neisseria gonorrhoeae* e di *Chlamydia trachomatis* (vedi: essudato endocervicale);
- la ricerca del solo *Streptococcus agalactiae*, consigliata durante l'ultimo mese di gravidanza, deve essere espressamente richiesta sul modulo di accompagnamento.

2.16 ESSUDATO ENDOCERVICALE

MATERIALE PER LA RACCOLTA

- Tamponi sterili con terreno di trasporto;
- tamponi sterili senza terreno di trasporto (tamponi a secco);
- vetrini portaoggetto;
- kit per la ricerca di *Chlamydia trachomatis*.

MODALITA' DI PRELIEVO

1) Per la ricerca di *Neisseria gonorrhoeae*, di *Mycoplasmi urogenitali* e di *Streptococco agalactiae*:

- alla paziente in posizione ginecologica inserire lo speculum, eventualmente inumidito in acqua corrente tiepida; rimuovere l'eccesso di muco cervicale mediante tampone a secco. Inserire poi un secondo tampone nell'endocervice e ruotarlo per alcuni secondi; riporre questo tampone nel suo contenitore con terreno di trasporto;

2) Per la ricerca di *Chlamydia trachomatis*:

- alla paziente in posizione ginecologica inserire lo speculum come sopra.
- Inserire, poi, nell'endocervice il tampone del kit o lo spazzolino e lasciarvelo per 2-3 secondi; farlo ruotare di 360°, poi ritirarlo, evitando di toccare le pareti della vagina. Srotolare il materiale del tampone o dello spazzolino sul pozzetto del vetrino del kit, esercitando una certa pressione, così da ricoprirlo interamente;
- lasciare asciugare completamente all'aria; fissare, poi, il vetrino, utilizzando il contenuto della fialetta apposita, e lasciare evaporare.

CONSERVAZIONE

- Il tampone per la ricerca di *Neisseria gonorrhoeae* e di *Mycoplasmi* va eseguito solo durante gli orari di apertura del Laboratorio e, quindi, inviato immediatamente;
- il vetrino per la ricerca di *Chlamydia trachomatis* può essere conservato in frigorifero e, poi, inviato in Laboratorio.

NOTE

- La paziente deve evitare, dalla sera precedente l'esame, lavande vaginali e l'introduzione in vagina di prodotti per l'igiene intima; possono essere effettuati lavaggi esterni;
- l'applicazione di farmaci locali o terapie antibiotiche per via sistemica devono essere state sospese da almeno 3-4 giorni.

2.17 ESSUDATO URETRALE

MATERIALE PER LA RACCOLTA

- Tampone sottile, montato su filo di alluminio, con terreno di trasporto;
- tampone sottile, montato su filo di alluminio, senza terreno di trasporto;
- vetrini portaoggetto;
- kit per la ricerca di *Chlamydia trachomatis*.

MODALITA' DI PRELIEVO

- 1) Per la ricerca di *Neisseria gonorrhoeae* e di *Mycoplasmi urogenitali*:
 - inserire il tampone sottile nell'uretra per circa 3-4 centimetri e ruotarlo per alcuni secondi. Riporre, poi, il tampone nel terreno di trasporto;
 - con un secondo tampone senza terreno di trasporto allestire uno o due vetrini per esame microscopico (vedi: allegato 1);
- 2) Per la ricerca di *Chlamydia trachomatis*:
 - inserire nell'uretra per 3 - 4 centimetri il tampone sottile del kit e lasciarvelo per alcuni secondi. Farlo ruotare, poi ritirarlo e srotolare il materiale del tampone sul pozzetto del vetrino del kit, esercitando una certa pressione, così da ricoprirlo interamente;
 - lasciare asciugare completamente all'aria; fissare, poi, il vetrino, utilizzando il contenuto della fialetta apposita, e lasciare evaporare.

CONSERVAZIONE

- Il tampone per la ricerca di *Neisseria gonorrhoeae* e di *Mycoplasmi* va eseguito solo durante gli orari di apertura del Laboratorio e, quindi, inviato immediatamente;
- il vetrino per la ricerca di *Chlamydia trachomatis* può essere conservato in frigorifero e, poi, inviato in Laboratorio.

NOTE

- E' bene effettuare il tampone uretrale al mattino, prima della minzione;
- in assenza di secrezione spontanea o nel caso di difficoltà ad effettuare il prelievo con tampone, gli esami possono essere praticati sul sedimento ottenuto dal primo getto della minzione (non più di 5-10 mL): in questo caso il campione deve essere inviato immediatamente in Laboratorio, previo accordo con un laureato della Microbiologia.

2.18 PEZZI BIOPTICI E PROTESI

MATERIALE PER LA RACCOLTA

- Contenitore sterile in polistirolo, a bocca larga, con tappo a vite.

MODALITA' DI PRELIEVO

- Prelevare il materiale in asepsi e, utilizzando pinze e forbici sterili, frantumarlo il più possibile; introdurre i vari pezzi nel barattolo sterile.

CONSERVAZIONE

- Inviare immediatamente in Microbiologia, previo avviso telefonico e dopo aver contattato un laureato della Microbiologia, accompagnando il materiale con una richiesta debitamente compilata.

III PARTE

ALLEGATI

ALLEGATO 1

MODALITA' DI ESECUZIONE DEGLI STRISCI PER ESAME BATTERIOSCOPICO

- Si prende un vetrino portaoggetto e lo si identifica, segnando con una matita sulla parte smerigliata il cognome del paziente, il materiale in esame e la data di prelievo;
- si preleva il materiale con un tampone a secco e lo si pone a contatto con la parte centrale del vetrino già identificato; il tampone va ruotato ripetutamente sul suo asse, così che il materiale venga srotolato sul vetrino;
- se il materiale è abbondante, va strisciato accuratamente su una più ampia superficie, per evitare di avere vetrini con materiale troppo spesso, che risultano poi non leggibili: di norma, i vetrini sono poco leggibili per eccesso di materiale, e non per difetto;
- se vi è necessità di diluizione del materiale, aggiungere una goccia di soluzione fisiologica sterile sul vetrino o con il tampone (prima imbibito nella fisiologica e mescolato con il materiale, e poi spremuto su un vetrino per evitare l'eccesso di liquido) effettuare uno striscio su un secondo vetrino;
- lasciare asciugare il vetrino completamente e, poi, inviarlo in Microbiologia.

NOTE

- Il tampone usato per l'esame batterioscopico NON deve essere usato per l'esame colturale.

ALLEGATO 2

ORARI E MODALITA' DI ACCETTAZIONE DEI MATERIALI BIOLOGICI

Da lunedì a venerdì:

il materiale può essere consegnato direttamente in Laboratorio **entro le ore 14.**

Al sabato:

i prelievi microbiologici devono pervenire **entro le ore 12.**

Oltre questi orari:

il materiale non sarà processato che al giorno dopo, con le conseguenze di vanificare prelievi per inattendibilità preanalitica (**vedi allegato 3**)

Prelievi inderogabili:

per motivi di urgenza, verranno accettati, oltre tali orari, **solo** se concordati **telefonicamente** tra il Medico di Reparto e il Collega del Laboratorio.

ALLEGATO 3

MODALITA' DI CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI BIOLOGICI NELLE ORE DI CHIUSURA DEL LABORATORIO

- **Sangue:** conservare i flaconi a temperatura ambiente per non più di 12 ore.
- **Punte di cateteri vascolari:** il contenitore sterile con il catetere può essere conservato in frigorifero a +4°C per non più di 12 ore.
- **Liquido cefalo-rachidiano:** portare immediatamente il liquor in urgenza; l'esame viene eseguito dal Medico di guardia.
- **Urine:** tutti i campioni possono essere conservati in frigorifero a +4°C per non più di 24 ore.
- **Feci:** in frigorifero per il minor tempo possibile; il tampone con terreno di trasporto può essere conservato a temperatura ambiente per non più di 24 ore.
- **Broncoaspirato ed espettorato:** solamente per la ricerca dei Micobatteri si possono conservare i campioni a +4°C per 24 ore.
- **Materiali raccolti con tamponi con terreno di trasporto:** possono essere conservati a temperatura ambiente per 24 ore.
- **Essudati e liquidi di drenaggio:** se raccolti in contenitori per anaerobi o in tampone con terreno di trasporto, possono essere conservati a temperatura ambiente per 24 ore; se raccolti in provette o altri recipienti sterili, devono, invece, essere inviati immediatamente in Microbiologia, solo durante gli orari di apertura specificati.

ALLEGATO 4

MATERIALI NECESSARI PER I PRELIEVI MICROBIOLOGICI

- Abbassalingua sterili monouso;
- contenitore per urinocoltura;
- contenitore per ricerca Micobatteri nelle urine;
- contenitore per coprocoltura;
- contenitore per esame parassitologico delle feci;
- contenitori Port-a-cul per ricerca anaerobi;
- flaconi per emocoltura
- provetta sterile;
- recipiente sterile in polistirolo per espettorato;
- set sterile monouso per broncoaspirato, in dotazione ai Reparti
- set sterile monouso per broncolavaggio, in dotazione ai Reparti
- tampone faringeo con terreno di trasporto;
- tampone sottile, montato su filo di alluminio, con terreno di trasporto;
- tampone a secco;
- kit per la ricerca di Chlamydia;
- vetrini portaoggetto.

ALLEGATO 5**FACSIMILE SCHEDA DI ACCOMPAGNAMENTO ESAMI
MICROBIOLOGICI**

DATI RICHIESTI PER ESAMI MICROBIOLOGICI

Prelievo eseguito il ore.

conservato in frigorifero

temperatura ambiente.

Sospetta infezione

Controllo di routine

Controllo di infezione pregressa

Controllo dopo intervento chirurgico

Controllo dopo manovra strumentale

Altra motivazione

Urine da mitto intermedio

Urine da catetere

Urine da sacchetto

Pus da

Ipertermia SI NO

Leucocitosi SI NO

Vomito SI NO

Diarrea SI NO

Terapia antibiotica

.

...

PER ESAME PARASSITOLOGICO DELLE FECI

Soggiorno del paziente all'estero SI NO

Il paziente mangia carne cruda o poco cotta SI NO

Il paziente ha contatti con la terra
(giardinaggio o lavoro in campagna) SI NO

Il paziente possiede animali domestici SI NO

IV PARTE

SIEROIMMUNOLOGIA

MONONUCLEOSI:

- anticorpi eterofili (monotest)	A.D.
- Epstein-Barr virus VCA IgM	E.L.I.S.A (a cattura)
VCA IgG	E.L.I.S.A
EBNA IgG	E.L.I.S.A

TOXOPLASMOSI:

- IgM	E.L.I.S.A (a cattura)
- IgG	E.L.I.S.A
- IgA	E.L.I.S.A (a cattura)

ROSOLIA:

- IgM	E.L.I.S.A (a cattura)
- IgG	E.L.I.S.A

INFEZIONI DA CYTOMEGALOVIRUS

- IgM	E.L.I.S.A (a cattura)
- IgG	E.L.I.S.A

INFEZIONI DA HERPES VIRUS

- HV1-2 IgM	E.L.I.S.A
- HV1 IgG	E.L.I.S.A
- HV2 IgG	E.L.I.S.A

INFEZIONI MICOTICHE

- Ag per Criptococco	test al lattice
----------------------	-----------------

INFEZIONI DA H. PYLORI

- IgG	E.L.I.S.A.
-------	------------

INDICI INFIAMMATORI

- LE test	H.A.
- Waaler-Rose	H.A.
- Antistafilolisina	test al lattice

ANTICORPI ANTIGLIADINA

- IgG	E.L.I.S.A-
- IgA	E.L.I.S.A.

ANTICORPI ANTIENDOMISIO

- Ig	I.F.
------	------