

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



U.O.M. Microbiologia e Virologia - Trento

ATTENZIONE

**TRATTARE TUTTI I CAMPIONI COME
POTENZIALMENTE
PERICOLOSI**

BIOHAZARD



INDICE

Presentazione	pag.	4	APPARATO GENITALE FEMMINILE	69
Scopo		4	Tamp. vaginale	70
Informazioni generali		5	Tamp. cervicale	71
- contenitori primari in uso		8	IUD	72
RICERCA BATTERI E MICETI		12	Tamp. uretrale	73
Sangue e dispositivi vascolari		13	Screening Streptococco gr. B	74
Emocolture		14	APPARATO GENITALE MASCHILE	76
Punta di Catetere vascolare		19	Tamp. uretrale	77
Midollo osseo		20	Tamp. balano-prepuziale	78
Fili pace-maker		22	Liquido seminale (colturale)	79
Protesi vascolare		23	Spermioγραμμα	80
Valvola cardiaca		24	Urina primo mitto	82
Homograft		25	Test di Meares-Stamey	83
LIQUIDI BIOLOGICI		26	RICERCA PARASSITI	85
Liquor		27	Parassiti ematici	87
Liquidi cavitari		30	- Striscio sottile	88
Succo gastrico/duodenale		31	- Goccia spessa	89
Liquidi da drenaggio		32	- Ricerca filarie	90
PUS,ESSUDATI, ALTRI MATERIALI		34	Parassiti intestinali	91
Pus raccolta profonda		35	- Scotch test (ossiuri)	92
Pus raccolta superficiale		36	Aspirato duodenale	93
Secrezione piaga o ulcera		37	Urina	95
Scraping cute		38	Campioni oculari	96
Tampone sito inserzione c. vasc.		39	RICERCA MICOBATTERI	97
Cute e annessi ricerca miceti		40	Sangue	99
Secrezioni oculari		43	Secrezioni respiratorie	100
Dispositivi osteo-articolari		44	Urine	101
BASSE VIE RESPIRATORIE		47	Altri materiali	102
Escreato		48	RICERCHE VIRALI E MOLECOLARI	104
Secrezioni Bronchiali			Virus pneumotropi	106
- prelievo non protetto		49	Virus enterotropi	109
- prelievo protetto		50	Ric. ac. nucleici M. tuberculosis	111
ALTE VIE RESPIRATORIE (ORL)		52	“ “ “ Chlamydia/Gonococco	102
Tamp. Faringeo		53	“ “ “ meningiti batteriche	113
Tamp. nasale/nasofaringeo		54	“ “ “ virus neurotropi	114
Tamp. Cavo orale/linguale		54	“ “ “ altre infezioni virali	115
Gargarizzato		55	RICERCHE SIEROIMMUNOLOGICHE	116
Tamp. auricolare		55	Indicazioni generali prelievo venoso	117
VIE URINARIE		57	Altri materiali	118
Urine		58	TABELLA RIASSUNTIVA	119
- da mitto intermedio		59	BIBLIOGRAFIA	126
- da sacchetto		60		
- da catetere estemporaneo		61		
- da catetere permanente		62		
FECI		63		
Coprocoltura		64		
Ricerca C. difficile		65		
Ricerca antigene H. pylori		67		
Calprotectina		68		

PRESENTAZIONE

PREMESSA

La scelta del campione e l'esecuzione dei prelievi per indagini microbiologiche, apparentemente semplice, si rivela invece un compito spesso non privo di difficoltà e comunque sempre condizionante i risultati delle indagini di laboratorio.

La finalità delle indagini microbiologiche è quella di ricercare, in modo rapido ed accurato, gli agenti responsabili di processi infettivi con il duplice scopo di identificarli e, ove necessario e possibile, 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 indicati nel presente manuale.

Tutto ciò contribuisce anche a fornire ai pazienti indicazioni più precise ed univoche riguardo agli esami a cui vengono sottoposti, offrendo un'assistenza più qualificata ed attenta alle varie necessità.

SCOPO

Obiettivo di questo manuale è:

1. fornire tutte le informazioni per una corretta esecuzione, conservazione ed invio dei campioni al laboratorio di microbiologia ed inoltre, dove è stato ritenuto necessario, descrivono anche l'adeguata preparazione del paziente.
2. stabilire gli standard per far sì che i campioni vengano prelevati correttamente
3. identificare e prevenire gli errori preanalitici che, in questa fase, possono influire sulla validità dei test di laboratorio.

INFORMAZIONI GENERALI

PRELIEVO: La struttura che effettua il prelievo è responsabile della corretta raccolta del campione, della sua identificazione, della compilazione della richiesta, dell'inoltro tempestivo al laboratorio o della conservazione con modalità idonee. Nel Manuale sono indicate le corrette modalità di raccolta per le indagini più comuni. Per indagini particolari non riportate, si raccomanda di prendere contatto con i laboratori di Microbiologia prima di procedere alla raccolta.

- **RACCOGLIERE I CAMPIONI BIOLOGICI POSSIBILMENTE PRIMA DELL'INIZIO DELLA TERAPIA ANTIMICROBICA:** La ricerca di un microorganismo, effettuata dopo la somministrazione di farmaci atti a neutralizzarlo (antimicrobici), può condizionare i risultati delle indagini colturali. E' infatti probabile che il farmaco contenuto nel materiale patologico eserciti, nei terreni di coltura utilizzati in laboratorio per le manipolazioni tecniche, una prolungata attività impedendo lo sviluppo, e quindi l'evidenziazione, dell'eventuale germe in causa. Se il paziente è sottoposto a trattamento antimicrobico, è importante informare il laboratorio di Microbiologia, segnalando la terapia in corso sulla richiesta: alcuni accorgimenti tecnici (diluizione del materiale, aggiunta al terreno di sostanze neutralizzanti,...) possono infatti attenuare l'azione antimicrobica del farmaco e favorire l'isolamento del germe ed i criteri interpretativi possono modificarsi per molti campioni biologici.
- **EFFETTUARE IL PRELIEVO DALLA SEDE ANATOMICA DEL PROCESSO PATOLOGICO:** Il sito del prelievo è strettamente correlato alla patologia infettiva in atto o sospetta. Esso è rappresentato in genere dalla sede del processo morboso o dai fluidi provenienti dal distretto anatomico colpito (ad esempio si raccoglieranno le urine nel caso di sospetta cistite o pielonefrite, ma anche l'emocoltura in caso di infezioni sistemiche e/o localizzate).
- **EVITARE OGNI CONTAMINAZIONE DEL CAMPIONE (PRELIEVO IN ASEPSI):** La patologia infettiva è sostenuta in molti casi da patogeni "opportunisti o condizionali" che, a differenza dei patogeni "convenzionali", fanno parte della popolazione microbica di alcuni distretti corporei o dell'ambiente esterno. Tali microorganismi possono contaminare i campioni se il prelievo non è eseguito con modalità rigorosamente asettiche e falsare il risultato delle indagini microbiologiche (falsi positivi). Il microbiologo non è in grado di distinguere con ragionevole certezza, se non in casi particolari, se i microrganismi isolati sono gli agenti causali del processo patologico ovvero se rappresentano unicamente la popolazione microbica residente, a cui attribuire il ruolo 'di inquinamento'.
- **UTILIZZARE CONTENITORI APPROPRIATI ALLE INDAGINI:** L'uso di contenitori idonei assicura la corretta esecuzione delle indagini microbiologiche e consente il corretto trasporto e manipolazione del campione. Nelle schede relative ad ogni campione biologico sono descritti i materiali necessari per il prelievo ed il contenimento del campione.

IDENTIFICAZIONE DEL CAMPIONE: Tutti i contenitori inviati ai laboratori devono essere identificati con l'etichetta riportante il relativo codice a barre. Quando si richiedono più esami sullo stesso campione ed il sistema informatico delle richieste genera più etichette per lo stesso contenitore incollarle tutte in posizione longitudinale sulle pareti.

INVIO E TRASPORTO: E' opportuno far pervenire tempestivamente il campione biologico al laboratorio di Microbiologia, subito dopo la raccolta, con modalità che assicurino il mantenimento delle caratteristiche microbiologiche del campione raccolto. Se per ragioni organizzative, logistiche o di altra natura, non fosse possibile l' inoltro tempestivo dei campioni è indispensabile utilizzare adeguati terreni di trasporto o provvedere alla conservazione dei materiali secondo le modalità specificamente indicate nel presente manuale.

TRASPORTARE I CAMPIONI NEGLI APPOSITI CONTENITORI DI SICUREZZA A NORMA, distribuiti dal magazzino aziendale: I campioni devono essere inviati nelle apposite valigette con chiusura di sicurezza. Il rispetto di questa procedura è indispensabile per garantire la protezione dal rischio biologico degli operatori addetti al trasporto ed operatori addetti al trasporto ed alla manipolazione successiva (epatiti, infezione da HIV, tubercolosi, etc.).

⇒ **Contenitore primario e secondario per i trasporti all'interno dell'ospedale**



⇒ **Contenitore primario, secondario e terziario per il trasporto su strada (direttiva secondo ADR)**



VERIFICHE SUI CAMPIONI:

- verifica della effettiva consegna del campione biologico in laboratorio (check in)
- verifica della corretta identificazione del campione biologico
- verifica della corrispondenza tra i dati della richiesta e i dati del campione biologico
- verifica della corretta quantità (volume) di campione biologico in funzione delle ricerche da effettuare
- verifica che il campione biologico non sia fuoriuscito dal contenitore o che il contenitore non sia imbrattato
- verifica di utilizzazione del corretto sistema di trasporto / conservazione (tipo di tampone, provetta, etc.)
- verifica del tempo trascorso tra raccolta del campione e disponibilità in laboratorio
- verifica preliminare (microscopica) della idoneità microbiologica di alcuni tipi di materiale per esame colturale (es. secrezioni respiratorie)

CRITERI DI NON ACCETTABILITA' DEI CAMPIONI:

- Campioni raccolti in contenitori non idonei o non specifici
- Materiali raccolti con tampone senza terreno di trasporto ove richiesto
- Campioni non identificati o con identificazione del paziente dubbia
- Contenitori sporchi esternamente e/o non conformi alle vigenti norme di sicurezza
- Materiali biologici insufficienti per tutti i test richiesti
- Richieste di esami su campioni biologici non appropriati o non supportate da evidenze scientifiche
- Richieste inappropriate di ripetizioni esami
- Campioni trattati e/o conservati in modo inappropriato e/o con tempi di consegna non rispettati
- Campioni di sangue per biologia molecolare non raccolti nelle specifiche provette con K₂EDTA
- Liquidi seminali raccolti da più di un'ora e/o senza rispetto dei giorni previsti di astinenza sessuale
- Escreati salivari, con punteggio Q score <1 (n° leucociti/n° cellule epiteliali)
- Scotch test per ricerca ossiuri imbrattati di feci o con scotch non trasparente
- Feci non diarroiche per Coprocoltura, ricerca di C. difficile e virus enterici

CAMPIONI NON IDONEI: Il mancato rispetto di quanto riportato in precedenza comporta una "non conformità" della fase preanalitica (prelievo, conservazione ed invio), "controllate" dagli operatori del laboratorio di Microbiologia. Il laboratorio provvederà ad inviare, alle UU.OO. richiedenti l'esame, comunicazione via telefono di eventuali "non conformità" rilevate, che non consentono di procedere all'esame sul campione. Riporterà invece nel referto le "non conformità" lievi, che potrebbero condizionare il risultato dell'indagine

CONTENITORI PRIMARI IN USO:



Contenitori primari per la raccolta delle urine (urinocoltura)

barattolo sterile tappo a vite giallo con sistema di aspirazione integrato per le provette sottovuoto (ditta Kima)

+

provetta sterile sottovuoto tappo di sicurezza colore beige (ditta Becton Dickinson)



Contenitore bocca larga tappo a vite rosso per raccolta **altri liquidi e campioni biologici vari**



Contenitore tappo a vite azzurro per **raccolta feci**



Tampone sterile con asta sottile in alluminio, tappo arancione, per **prelievi naso-faringei** per ricerca Virus respiratori- Richiedere in U.O. Microbiologia e Virologia



Provetta sterile fondo conico tappo rosso per raccolta liquor



Provetta sterile con tampone floccato misura regular, tappo rosa, per prelievi da sedi anatomiche diverse



Provetta sterile con tampone floccato misura mini, tappo arancione, per prelievi da sedi anatomiche diverse (uretrali, congiuntivali, naso-faringei, pediatrici, etc.) - Richiedere in U.O. Microbiologia e Virologia



LIM Broth Provetta sterile con tampone floccato, tappo azzurro, per prelievi da introito vagino-rettale per la ricerca di Streptococco beta emolitico gruppo B in gravidanza - Richiedere in U.O. Microbiologia e Virologia



Provetta sterile E NAT con tampone floccato misura regular o mini, tappo azzurro, per prelievi uretrali per Chlamydia, Micoplasm, utilizzabile per tutti i test molecolari - Richiedere in U.O. Microbiologia e Virologia



UTM Provetta sterile con tampone floccato, tappo rosso, per ricerche virali - Richiedere in U.O. Microbiologia e Virologia

<ol style="list-style-type: none"> 1. APRIRE LA BUSTINA CONTENENTE LA SONDA FLOCCATA E LA PROVETTA 2. UTILIZZARE IL TAMPONE FLOCCATO PER PRELEVARE IL CAMPIONE 	<ol style="list-style-type: none"> 3. SVITARE IL TAPPO IN MANIERA ASETTICA. INTRODURRE LA SONDA FLOCCATA CON IL CAMPIONE, APPENA RACCOLTO, NELLA PROVETTA 	<ol style="list-style-type: none"> 4. ROMPERE L'APPLICATORE NEL PUNTO INDICATO DALLA LINEA COLORATA 	<ol style="list-style-type: none"> 5. RIAVVITARE IL TAPPO SULLA PROVETTA CHIUDENDO CON FORZA 	<ol style="list-style-type: none"> 6. APPLICARE L'ETICHETTA DI IDENTIFICAZIONE BAR CODE DEL PAZIENTE E INVIARE IL CAMPIONE IN LABORATORIO 	

Modalità di prelievo dei tamponi



Flaconi per emocoltura aerobi e anaerobi



Flaconi per emocoltura pediatrica



**Flaconi per emocoltura/Midollo per ricerca specifica Micobatteri
- Richiedere U.O. Microbiologia**



Provette vacutainer tappo rosa 3 mL con K2EDTA per ricerca parasiti ematici



Provette vacutainer tappo arancio 7 mL per ricerche sierologiche Epatite, HIV, Lue, ToRCH -



Provette vacutainer tappo ruggine 3 mL per ricerche sierologiche -



Provette vacutainer tappo perla 7 mL con K2EDTA per ricerche molecolari -

RICERCHE BATTERI E MICETI

SANGUE E DISPOSITIVI VASCOLARI

EMOCOLTURA DA VENA PERIFERICA

INDICAZIONI ALL'ESAME

L'emocoltura costituisce l'esame essenziale per porre diagnosi di infezioni gravi, quali la sepsi e infezioni sistemiche e profonde. Il prelievo si effettua da vena periferica, mentre è fortemente sconsigliato il prelievo da catetere vascolare a meno che non sia possibile effettuare il prelievo da vena periferica o si sospetti una sepsi da catetere endovascolare (vedi istruzioni specifiche).

Protocolli di prelievo consigliati:

- sospetta sepsi, meningite, osteomielite, artrite, polmonite, endocardite acuta: almeno 2, non più di 3 set nell'arco di 15-30 minuti;
- sospetta endocardite sub-acuta: come per l'acuta ma da ripetere eventualmente il giorno dopo;
- sospetta endocardite, sepsi ed altre cause di batteriemia in paziente sotto trattamento antibiotico: due prelievi diversi nell'arco di 30-60 minuti per tre giorni consecutivi e lontano dalla somministrazione del farmaco.

Il protocollo standard di indagine microbiologica sulle emocolture è indirizzato alla ricerca di batteri, aerobi ed anaerobi, e miceti. I flaconi sono incubati per 5 giorni a 35 °C. Per alcuni quadri clinici (es. endocardite, brucellosi, AIDS, micosi invasive) l'incubazione viene protratta fino a 15 - 30 giorni per consentire l'isolamento anche di batteri e miceti a lenta crescita. E' quindi molto importante che tali condizioni, se presenti o sospettate, siano indicate nella richiesta.

Si rimanda ai relativi capitoli la ricerca nel sangue dei micobatteri e dei parassiti.

- Per assicurarne la massima efficacia è importante effettuare il prelievo il prima possibile e prima della terapia antimicrobica;
- in caso di terapia in corso, prelevare prima della somministrazione di una nuova dose di antibiotico;
- effettuare il prelievo prima del rialzo febbrile (60-90 minuti prima è il momento in cui il numero dei batteri nel sangue è maggiore);
- se non è possibile effettuare il prelievo prima del rialzo febbrile, prelevare all'inizio del rialzo;
- effettuare 2-3 prelievi consecutivi ad intervalli di circa 15-30 minuti, in punti diversi, (un solo prelievo può non evidenziare una batteriemia intermittente ed inoltre rende difficile interpretare il significato clinico dell'isolamento di certi microrganismi, possibili inquinanti);
- sulla richiesta indicare, nelle note, sempre il quesito diagnostico poiché i tempi di incubazione possono variare in funzione dei diversi patogeni in causa.

MODALITA' PER LA RACCOLTA

Materiali per il prelievo per Emocoltura

Preparare il materiale necessario:

- ◊ 2 Flacons con brodo di coltura (= 1 Set/prelievo): uno per batteri anae-robi (tappo viola) uno per batteri aerobi (tappo verde). Per prelievi pediatrici 1 Flacone con brodo di coltura (tappo giallo)
- ◊ set prelievo a circuito chiuso (vacutainer)
- ◊ garza sterile e antisettico (clorexidina alcolica 0,5%)
- Apporre sui flacons le etichette con il codice a barre contenente le informazioni relative al paziente in posizione longitudinale e facendo attenzione a non sovrapporla sul codice a barre del flacone
- Individuare il sito di prelievo;
- effettuare la frizione delle mani con soluzione alcolica e Indossare i guanti (meglio se sterili);
- disinfettare accuratamente la cute con antisettico a base di clorexidina alcolica 0,5%, dapprima con una garza imbevuta per rimuovere lo sporco e poi con un impacco da lasciare in sede per almeno 30 secondi;
- rimuovere il cappuccio dei flacons per emocoltura e disinfettare il tappo di gomma applicandovi un impacco dello stesso antisettico utilizzato per la disinfezione della cute. **(Non usare iodio)**
- rimuovere gli impacchi e disinfettare nuovamente la cute utilizzando una nuova garza per almeno 30 secondi e lasciare asciugare;
- applicare il laccio e introdurre l'ago **senza ripalpare la zona disinfettata;**
- Inserire i flacons (prima quello per aerobi, poi quello per anaerobi) nell'adattatore vacutainer (set a circuito chiuso) e premere fino a bucare il tappo mantenendo il flacone diritto per visualizzare il livello di riempimento; **Evitando di introdurre aria nei flacons** prelevare la quantità di sangue indicata sul flacone (5 - 10 mL / flacone) (la quantità di sangue è critica: esiste una relazione diretta fra volume di sangue prelevato e **positività**; quantitativi superiori o inferiori riducono la sensibilità del test).
- disinfettare il tappo di gomma dei flacons con antisettico a base di clorexidina alcolica 0,5%, non ricoprire i tappi.
- agitare bene, ma dolcemente, i flacons per impedire la formazione del coagulo;
- rimuovere i guanti ed eseguire la frizione delle mani con soluzione alcolica;
- Eliminare il materiale utilizzato nei contenitori per i rifiuti speciali

N.B.: Per **prelievi pediatrici** possono essere usati flacons specifici pediatrici di 1-3 ml. di sangue (la batteriemia nei bambini presenta una carica microbica più elevata).

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Inviare i flaconi immediatamente in laboratorio.

EMOCOLTURA DA CATETERE ENDOVASCOLARE

INDICAZIONI ALL'ESAME

Di norma non vanno mai eseguiti prelievi direttamente dal catetere venoso centrale o vascolare in genere.

Se esistono sospetti di infezioni correlate a catetere in situ andrà eseguito un doppio prelievo costituito da un campione prelevato direttamente dal Catetere Venoso Centrale ed un campione ottenuto da vena periferica. Tale procedura è utilizzabile soprattutto nei casi in cui si deve cercare di salvaguardare il più possibile l'accesso vascolare. Sono interessati i cateteri vascolari a lungo termine impiantati da almeno 48 h, ma non quelli totalmente impiantabili (tipo Port).

Se il catetere è da rimuovere è preferibile associare all'emocoltura l'invio della punta del CVC per l'esame colturale (vedi procedura specifica)

MODALITA' PER LA RACCOLTA

N.B. E' preferibile effettuare la procedura con due operatori

- Effettuare la frizione delle mani con soluzione alcolica e indossare i guanti;
- sospendere le infusioni in atto e chiudere con gli appositi morsetti le vie del CVC
- preparare i flaconi per emocoltura: rimuovere il cappuccio dei flaconi e disinfettare il tappo di gomma applicandovi, per almeno 30 secondi, un impacco di clorexidina 0,5% in soluzione alcolica. (**Non usare iodio**);
- aprire sterilmente il materiale e allestire il campo sterile su un carrello servitore, posizionare un telino sterile ed una base di garze sterili in corrispondenza dei lumi del CVC;
- decontaminare le estremità dei raccordi del CVC applicando un impacco di garza sterile bagnato con clorexidina 0,5% in soluzione alcolica, lasciandolo in situ per almeno 30 secondi;

N.B.: L'applicazione e la rimozione dell'impacco vanno effettuate mediante pinze sterili;

- effettuare i prelievi da tutti i lumi del CVC con sistema vacutainer osservando la seguente successione: 1° flacone per Aerobi, 2° flacone per Anaerobi, 1 set per ogni lume;
- effettuare immediatamente anche il prelievo da vena periferica co

- me da procedura per emocoltura standard con sistema vacutainer
- Inserire i flaconi (prima quello per aerobi, poi quello per anaerobi) nell'adattatore vacutainer (set a circuito chiuso) e premere fino a bucare il tappo mantenendo il flacone dritto per visualizzare il livello di riempimento; **Evitando di introdurre aria nei flaconi** prelevare la quantità di sangue indicata sul flacone (5 - 10 mL / flacone) (la quantità di sangue è critica: **esiste una relazione diretta fra volume di sangue prelevato e positività**; quantitativi superiori o inferiori riducono la sensibilità del test).
 - una volta riempiti i flaconi per emocoltura disinfettare nuovamente il tappo con clorexidina alcoolica 0,5% (non usare iodio e non ricoprire il tappo con cerotti e/o garze); agitare bene, ma dolcemente, i flaconi per impedire la formazione del coagulo;
 - indicare sull'etichetta dei flaconi l'ora e le vie del prelievo e contrassegnare i flaconi incollando un **bollino rosso adesivo sul collo** per la rapida identificazione in laboratorio (i tempi di attesa per l'incubazione devono essere il più rapidi possibile);

N.B.: sulla richiesta indicare, nelle note, il quesito diagnostico (**sospetta sepsi catetere-correlata**)

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Dopo il prelievo inviare i flaconi **tempestivamente** in Laboratorio.

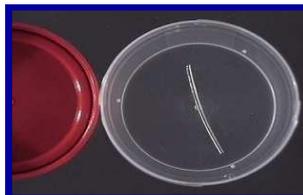
PUNTE DI CATETERI ENDOVASCOLARI

INDICAZIONI ALL'ESAME

Le complicanze correlate all'uso di cateteri vascolari comprendono infezioni localizzate al sito di inserzione ed infezioni sistemiche con batteriemie.

Le punte dei cateteri endovascolari devono essere inviate al laboratorio quando, precedenti emocolture centrali e periferiche (almeno 2), indirizzano il clinico verso una batteriemia CVC correlata.

MODALITA' PER LA RACCOLTA



Raccolta corretta



Raccolta non corretta

1. Effettuare la frizione delle mani con soluzione alcolica e indossare i guanti;
2. chiudere il catetere e disinfettare accuratamente con clorexidina in soluzione alcolica la sede di giunzione cute-catetere, lasciare asciugare;
3. estrarre il catetere con pinze sterili;
4. tagliare l'estremità distale del catetere (cioè la parte che si trova nel vaso sanguigno) per una lunghezza di 5 cm, utilizzando forbici sterili e introdurre sterilmente il materiale nel contenitore, **non aggiungere liquidi**;
5. porre l'etichetta d'identificazione sul contenitore;
6. rimuovere i guanti ed effettuare la frizione delle mani con soluzione alcolica.

NOTE: INVIARE SEMPRE ANCHE UN SET EMOCOLTURA DA VENA PERIFERICA PRELEVATA IN CONTEMPORANEA ALLA RIMOZIONE DEL CATETERE

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Dopo il prelievo inviare in laboratorio entro 2 ore o conservare a 4 °C (frigorifero) per max 1 giorno

MIDOLLO OSSEO

INDICAZIONI ALL'ESAME

Prelievo di un campione di midollo osseo rosso, che ha lo scopo di valutare la presenza di microrganismi patogeni nel midollo osseo, per mezzo di una puntura dello sterno, della cresta iliaca, dell'apofisi spinosa vertebrale o della tibia.

Quest'ultima viene eseguita solo in soggetti in età pediatrica: i bambini hanno infatti un tessuto osseo meno duro e più spugnoso, per cui sono meno esposti al rischio di fratture durante la puntura.

MODALITA' PER LA RACCOLTA

1. Disinfettare la cute della zona di prelievo con le stesse modalità utilizzate per l'emocoltura;
2. eseguire l'agoaspirato ed immettere parte del materiale nei flaconi per emocoltura (aerobi + anaerobi) ed in una provetta con K₂EDTA (tappo rosa 13x75 da 3 mL)
3. con il materiale rimasto allestire almeno due vetrini per esame batterioscopico e/o parassitologico (leishmania, vedi ricerche parassiti) facendo bene attenzione a distribuire uniformemente i frustoli di aspirato

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Inviare i flaconi immediatamente in laboratorio o, nelle ore di chiusura, conservare a temperatura ambiente per max 48 h. La provetta tappo lilla può essere conservata in frigorifero (4-8 °C) per un massimo di 24 h, i vetrini possono essere conservati a temperatura ambiente al riparo dalla polvere.

FILI PACEMAKER

INDICAZIONI ALL'ESAME

Una possibile complicanza dell'inserzione di pace-maker è legata all'infezione nel sito di inserzione. Per l'identificazione del microorganismo responsabile dell'infezione è opportuno l'invio della punta del filo, dopo estrazione del filo stesso.

Il protocollo standard per la valutazione dell'infezione è rivolto alla ricerca di germi "non esigenti".

MODALITA' PER LA RACCOLTA

1. disinfettare la cute circostante il punto di inserzione del filo di pace-maker con le stesse modalità indicate per l'emocoltura;
2. rimuovere il filo di pace-maker, evitando la contaminazione per contatto con superficie non sterili;
3. tagliare la punta del filo con forbici sterili per una lunghezza di 5 centimetri;
4. riporre la punta nel contenitore sterile aggiungendo 5 ml di soluzione salina sterile.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Inviare tempestivamente il campione in laboratorio, nelle ore di chiusura è possibile conservare in frigorifero fino ad un massimo di 48 h.

PROTESI VASCOLARE

INDICAZIONI ALL'ESAME

Le protesi vascolari sono dispositivi medici che vengono impiantati permanentemente per ripristinare l'efficacia di un tratto vascolare che non sia più in grado di trasportare correttamente il sangue. L'incidenza di infezione delle protesi vascolari è l'1-6% e le emocolture sono positive solo nel 50% dei casi. L'esame microbiologico della protesi asportate ha valore per la conferma diagnostica e l'eziologia dell' infezione ai fini di un approccio terapeutico mirato.



MODALITA' PER LA RACCOLTA

1. Procedere all'asportazione dell' innesto ;
2. introdurre l'innesto in toto o sue parti nel contenitore sterile aggiungendo soluzione fisiologica in quantità sufficienti per ricoprirlo(Attenzione! non utilizzare liquidi di conservazione o fissativi).

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Inviare tempestivamente il materiale in laboratorio, possibilmente entro quindici minuti dalla raccolta. Nel caso non fosse possibile conservare il materiale a temperatura ambiente fino a 48 h.

VALVOLA CARDIACA

INDICAZIONI ALL'ESAME

L'esame colturale delle valvole cardiache trova indicazione per la diagnosi eziologica di endocardite. Il protocollo standard comprende indagini **colturali** per: germi non esigenti, batteri esigenti, miceti filamentosi.

Poiché l'endocardite può essere sostenuta da germi a lenta crescita (es. gruppo HACEK), il tempo di osservazione è prolungato a 30 giorni.

Ricerche particolari potranno essere effettuate sulla base del sospetto clinico e specificatamente segnalate sulla richiesta.

MODALITA' PER LA RACCOLTA

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

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Inviare tempestivamente il materiale in laboratorio, possibilmente entro quindici minuti dalla raccolta. Nel caso non fosse possibile conservare il materiale a temperatura ambiente fino a 48 h.



HOMOGRAFT (OMOINNESTI)

INDICAZIONI ALL'ESAME

Gli omoinnesti sono sostituti valvolari (aortici, polmonari) o vascolari di origine umana che, prelevati da pazienti sottoposti a trapianto cardiaco, da donatore multiorgano a cuore battente o da cadavere, possono essere impiantati direttamente oppure possono essere crioconservati 'a secco' in vapori di azoto liquido oppure in media liquidi fino alla loro utilizzazione.

Fondamentale appare la valutazione della sterilità del materiale: il riscontro della crescita di una sola colonia microbica, infatti, comporta la non-utilizzabilità dell'omoinnesto. Il protocollo standard per la **valutazione della sterilità** degli omoinnesti considera la ricerca di germi non esigenti, di batteri anaerobi e di miceti.

MODALITA' PER LA RACCOLTA

1. Procedere, sterilmente, alla resezione di tre frammenti o di moinnesto, approssimativamente di 2 mm x 10 mm;
2. riporre ogni frammento in un contenitore sterile a bocca larga con tappo a vite aggiungendo soluzione fisiologica in quantità sufficiente per ricoprire i frammenti (Attenzione! non utilizzare liquidi di conservazione o fissativi).

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Inviare tempestivamente il materiale in laboratorio, possibilmente entro quindici minuti dalla raccolta. Nel caso non fosse possibile conservare il materiale a temperatura ambiente fino a 48 h.

LIQUIDI BIOLOGICI

LIQUOR CEFALORACHIDIANO

INDICAZIONI ALL'ESAME

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), senza segni clinici di meningite.

Tale informazione (sospetta meningite o controllo), comportando diverse procedure tecniche, deve essere specificata nella richiesta.

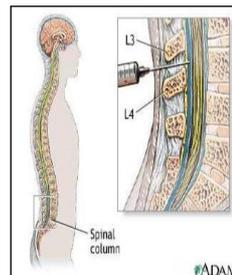
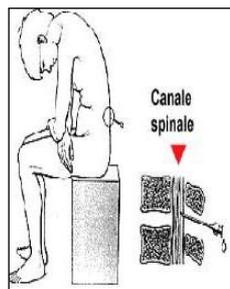
L'esame del liquor prevede, accanto alle indagini microbiologiche, lo studio dei parametri chimico fisici .

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 prevista una specifica reperibilità di un dirigente

Il protocollo standard dell'indagine microbiologica prevede l'esecuzione immediata dell' esame chimico-fisico, colturale e microscopico.

Per altre indagini, che richiedono l'utilizzo di terreni supplementari e/o di tecniche particolari, è necessario prendere contatti direttamente con il laboratorio. E' il caso soprattutto delle meningiti a liquor limpido, dove può essere indicata la ricerca di: batteri (*Brucella* spp, Micobatteri), miceti (*Cryptococcus neoformans*; per il quale è utile la ricerca dell'antigene su liquor o siero), virus (diagnosi sierologica o con biologia molecolare).

MODALITA' DI RACCOLTA



Il liquor cefalorachidiano deve essere prelevato in asepsi, sia per evitare una potenziale meningite iatrogena per introduzione meccanica di germi nello speco liquorale, sia per evitare contaminazioni con microorganismi residenti della cute che potrebbero rendere difficoltoso il giudizio interpretativo dell'esame colturale. E' opportuno che il prelievo e la raccolta del liquor vengano effettuate da due operatori: il medico che effettua la rachicentesi ed un secondo operatore che raccoglie nelle provette il liquor che fuoriesce.

Liquor cefalorachidiano da rachicentesi

- lavare accuratamente le mani e indossare i guanti;
- Porre il paziente in **decubito ortopnoico** (il paziente siede al centro del letto, in modo da piegarsi più facilmente, con le braccia conserte; il capo è chinato verso le ginocchia ed i piedi sono penzoloni, l'assenza di appoggi per i piedi evita la possibilità che l'ammalato possa tirarsi su con la schiena durante la rachicentesi; l'infermiere si pone di fronte all'ammalato stringendogli le gambe tra le proprie e ponendo una mano dietro la nuca ed una dietro la spalla) o in **decubito a cane di fucile** (il paziente è in decubito laterale destro o sinistro, le gambe sono flesse sull'addome ed il capo è inclinato verso le ginocchia; il paziente tiene le braccia conserte mentre l'infermiere gli inarca la colonna vertebrale sostenendo la nuca ed il cavo popliteo)
- disinfettare la cute con antisettico a base di clorexidina 0.5% in soluzione alcoolica, dapprima con una garza imbevuta per rimuovere lo sporco e poi con un impacco da lasciare in sede per almeno 30": il tempo totale di contatto deve essere di 2 minuti.
- introdurre l'ago sterile monouso (nel caso risulti difficile reperire l'accesso, è necessario provvedere alla sostituzione dell'ago di prelievo, prima di riprendere la manovra di prelievo): per la rachicentesi vengono impiegati aghi provvisti di mandrino;
- ritirare il mandrino e raccogliere il liquor (possibilmente almeno 6 mL) suddividendo il campione, in parti uguali, in almeno tre provette sterili con tappo estraibile (senza anticoagulante) facendo attenzione che non venga a contatto con la cute del paziente, numerate in ordine progressivo e da utilizzare:
 - per esame chimico-fisico,
- per esami microbiologici, per eventuali esami siero-immunologici e molecolari
- Se la quantità totale raccolta non supera i 2 ml, il campione non va suddiviso ed è necessario informare il microbiologo sulle priorità analitiche,
- chiudere le provette e sfilare l'ago;
- apporre un impacco di cotone e colloidio 5% o una compressa di garza e cerotto sul sito di prelievo;
- rimuovere i guanti e lavare le mani.

Liquor cefalorachidiano da derivazione

- lavare accuratamente le mani e indossare i guanti sterili;
- rimuovere il tampone che avvolge la punta del deflussore della derivazione;
- porre in corrispondenza della punta del deflussore una provetta, anche non sterile, e lasciare defluire (per l'esame completo);
- porre in corrispondenza della punta del deflussore le provette per la raccolta del liquor facendo attenzione che le provette sterili non vengano a contatto con la cute del paziente o con la punta del deflussore. Raccogliere il liquor (possibilmente almeno 6 mL) suddividendo il campione, in parti uguali, in almeno tre provette sterili con tappo estraibile (senza anticoagulante) numerate in ordine progressivo da utilizzare:
 - ⇒ per esame chimico-fisico,
 - ⇒ per esami microbiologici,
 - ⇒ per eventuali esami siero-immunologici e molecolari
- Se la quantità totale raccolta non supera i 2 ml, il campione non va suddiviso ed è necessario informare il microbiologo sulle priorità analitiche,
- chiudere le provette e introdurre il deflussore in una nuova flebetta;
- rimuovere i guanti e lavare accuratamente le mani.
- Contattare il laboratorio o il dirigente reperibile dell' U.O. Microbiologia e Virologia

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Il campione deve essere inviato immediatamente in laboratorio con procedure separate e prioritarie rispetto ad altro materiale biologico corredando la richiesta di essenziali notizie cliniche, valore della pressione di apertura, glicemia e terapia antibiotica e specificando la ricerca di particolari microrganismi (es. micobatteri, *Cryptococcus neoformans*). In caso di prelievo durante le ore di chiusura del laboratorio o in fascia notturna e festiva contattare il dirigente reperibile.

ALTRI LIQUIDI BIOLOGICI

Il protocollo standard è indirizzato alla ricerca di batteri aerobi ed anaerobi e lieviti.

La possibilità di ricercare i microorganismi anaerobi è subordinata alla corretta conservazione del campione. Ulteriori ricerche vengono effettuate solo su specifica richiesta clinica (es.: Mycobacterium spp. e miceti filamentosi) o in applicazione di protocolli concordati.

LIQUIDI CAVITARI

INDICAZIONI ALL'ESAME

Le modalità di prelievo, conservazione ed invio di seguito descritte si applicano ai liquidi da cavità sterili:

- liquido pleurico;
- liquido pericardico;
- liquido peritoneale/ascitico;
- liquido amniotico;
- liquido articolare/sinoviale;
- umor vitreo/umor acqueo;
- bile

MODALITA' DI RACCOLTA



Materiale per la raccolta:

- set di prelievo per paracentesi
- contenitore sterile di polistirene con tappo a vite rosso
- flaconi da emocoltura aerobi e anaerobi

La tecnica di prelievo di questi liquidi, di competenza del medico che la esegue, avviene mediante paracentesi, in condizioni di sterilità:

- detergere e disinfettare accuratamente come descritto per la raccolta del liquor

- raccogliere per aspirazione circa 5-10 ml di liquido
- versare il campione nel contenitore sterile facendo bene attenzione a non inquinare durante la manovra e aggiungere qualche goccia di citrato di sodio 1,8%

N.B.: In caso di prelievo di umor vitreo o acqueo prelevare, prima, campioni per colture congiuntivali per eventuali contaminanti

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Inviare il campione in laboratorio entro un'ora dal momento della raccolta. Se non è possibile l'invio rapido del campione inoculare i flaconi da emocoltura aerobi ed anaerobi con 3 - 5 mL di liquido e conservare a temperatura ambiente per massimo 48 h; conservare il rimanente liquido nel contenitore sterile con tappo a vite a temperatura di frigorifero (+4 °C) per massimo 48 h.

SUCCO GASTRICO E DUODENALE

INDICAZIONI ALL'ESAME

Il succo gastrico è un materiale generalmente utilizzato per la ricerca dei micobatteri, mentre il succo duodenale per la ricerca parassiti. L' utilizzo per la diagnosi di infezioni batteriche e microbiche è limitata ed il protocollo standard è relativo alla ricerca di batteri aerobi ed anaerobi e lieviti. Altre ricerche devono essere specificate nella richiesta

MODALITA' DI RACCOLTA

Materiale per la raccolta:

- set di prelievo per aspirazione (sondino naso-gastrico)
 - provetta di polistirene con tappo rosso a vite
 - eseguire il lavaggio antisettico delle mani ed indossare guanti sterili
1. raccogliere il campione tramite sondino nasale od orale, correttamente posizionato
 2. aspirare 5-10 ml di campione con siringa sterile
 3. porre il materiale in un contenitore sterile con tappo a vite rosso

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

inviare il campione in laboratorio nel più breve tempo possibile. Se non è possibile l'invio rapido del campione inoculare i flaconi da emocoltura aerobi ed anaerobi con 3 - 5 mL di liquido e conservare a temperatura ambiente per massimo 48 h; conservare il rimanente liquido nel contenitore sterile con tappo a vite a temperatura di frigorifero (+4 °C) per massimo 48 h.

N.B. per la ricerca di *Giardia intestinalis* si rimanda allo specifico paragrafo in Ricerca parassiti

LIQUIDI DA DRENAGGIO

MODALITA' DI RACCOLTA

Il materiale deve essere raccolto, in maniera asettica, da sistemi a circuito chiuso.

Se vi è abbondante materiale, clampare il drenaggio a valle, disinfettare il tubo, prelevare bucando con siringa sterile ed aspirare ca. 10 mL di liquido; se vi è scarso materiale, clampare il drenaggio con due pinze opportunamente distanziate, con una siringa sterile immettere nel tubo 10-15 mL di soluzione fisiologica sterile e riaspirare la soluzione espellere l'aria aspirata e porre il materiale in un contenitore sterile con tappo a vite rosso



I TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Inviare il campione in laboratorio entro un'ora dal momento della raccolta. Se non è possibile l'invio rapido del campione inoculare i flaconi da emocoltura aerobi ed anaerobi con 3 - 5 mL di liquido e conservare a temperatura ambiente per massimo 48 h; conservare il rimanente liquido nel contenitore sterile con tappo a vite a temperatura di frigorifero (+ 4 C) per massimo 48 h.

**PUS, ESSUDATI,
ALTRI MATERIALI**

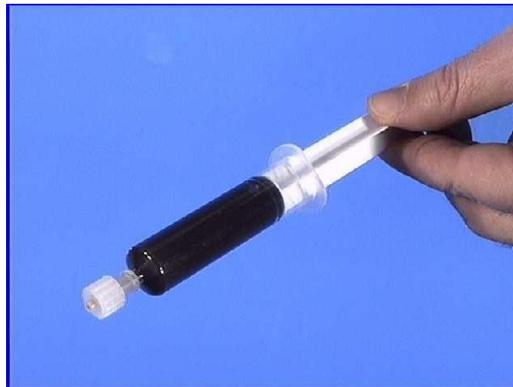
RACCOLTA ASCESSUALE PROFONDA (PUS DA RACCOLTA CHIUSA)

INDICAZIONI ALL'ESAME

Indicare sulla richiesta la sede del prelievo; questa indicazione risulta necessaria sia per identificare il campione che per l'interpretazione dei risultati. Ulteriori ricerche oltre il protocollo standard (batteri aerobi ed anaerobi e lieviti) quali: *Actinomyces* spp, *Nocardia* spp, miceti filamentosi, devono essere specificate sulla richiesta

MODALITA' DI RACCOLTA

1. Detergere e disinfettare accuratamente la superficie esterna del sito di prelievo come descritto per l'emocoltura
2. con ago e siringa sterile aspirare 5-10 mL liquido
3. Chiudere la siringa con l'apposito tappino fornito dal Servizio farmacia (tappo siringa per emogasanalisi)



TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Inviare il campione in laboratorio entro un'ora dal momento della raccolta. Se non è possibile l'invio rapido del campione inoculare i flaconi da emocoltura aerobi ed anaerobi con 3 - 5 mL di liquido e conservare a temperatura ambiente per massimo 48 h; conservare il campione rimanente nella siringa sterile chiusa con l'apposito tappo a temperatura di frigorifero (+4 °C) per massimo 48 h.

PUS DA RACCOLTA SUPERFICIALE

INDICAZIONI ALL'ESAME

L'interpretazione dei risultati delle indagini microbiologiche effettuate su secrezioni o pus prelevati con tampone dalla cute o mucose risulta non sempre agevole, per la difficoltà a discriminare tra colonizzanti o contaminanti e agenti responsabili del processo flogistico in atto. Quando possibile, ad esempio in presenza di fistole, è preferibile procedere alla raccolta di secrezione in profondità nel corso di revisione chirurgica.

Il protocollo standard prevede l'esame colturale per la ricerca di germi "non esigenti" e la determinazione semiquantitativa della carica. Il prelievo con tampone non consente la ricerca di anaerobi (tale ricerca è possibile solo su materiale raccolto con siringa, come specificato per la raccolta ascessuale).

Per ulteriori ricerche (ad esempio: *Nocardia spp.* o actinomiceti aerobi) si consiglia di contattare un dirigente del laboratorio di Microbiologia.

MODALITA' DI RACCOLTA

- lavare le mani con soluzione alcoolica;
- indossare guanti, non necessariamente sterili;
- Lavare con soluzione fisiologica ma non disinfettare la ferita;
- inumidire il tampone in soluzione fisiologica o acqua distillata sterile;
- raccogliere la secrezione con il tampone strisciandolo e/o ruotandolo nella sede della lesione, evitando di toccare la cute integra;
- riporre il tampone nel contenitore con l'apposito terreno di trasporto;
- togliere i guanti e lavare le mani con soluzione alcoolica.

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 salina sterile, riaspirarla e penetrando con catetere sterile nel focolaio suppurativo procedere all'aspirazione del materiale

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

I campioni possono essere conservati fino a 48 h, a 4 °C

.L'aspirato da tragitto fistoloso va conservato a 4-8 °C

SECREZIONI DA PIAGA O ULCERA

INDICAZIONI ALL'ESAME

La diagnosi eziologica di infezione di piaga o ulcera si rivela non semplice, per la necessità di distinguere i patogeni responsabili da batteri, che possono essere isolati in coltura, ma che hanno significato di contaminazione o colonizzazione della lesione. Particolarmente critica si rivela quindi la modalità di raccolta. Il protocollo standard prevede l'esame colturale per la ricerca di germi "non esigenti" e la determinazione semiquantitativa della carica. Ulteriori ricerche verranno eseguite dopo colloquio del Medico curante con un dirigente del laboratorio di Microbiologia.

MODALITA' DI RACCOLTA

Il campione raccolto con tampone non è idoneo per l'accertamento eziologico.

Raccolta del campione con la tecnica di irrigazione/aspirazione:

- immettere delicatamente, con una siringa senza ago, almeno 1 ml di soluzione fisiologica sotto il margine dell'ulcera ripetendo l'operazione 2 volte lungo tutta la circonferenza;
- rimuovere con una garza sterile l'eccesso di liquido;
- massaggiare con una garza sterile i margini dell'ulcera lungo tutta la circonferenza;
- ripetere l'irrigazione ed il massaggio dei margini con una nuova garza;
- raccogliere almeno 0,25 ml di liquido con una siringa e tapparla con gli appositi tappi disponibili in Farmacia.

Può essere utile raccogliere un secondo campione dopo 1-2 ore, ripetendo l'intera procedura.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Inviare tempestivamente in laboratorio. Qualora ciò non fosse possibile il campione può essere conservato fino 48 h a 4 °C

SCRAPING CUTE

INDICAZIONI ALL'ESAME

La coltura di materiali ottenuti con scraping cutaneo è di elevata significatività se effettuata sulla base di un sospetto clinico definito. Le indagini colturali sono sempre mirate, ad esempio per:

- *Fusarium spp.* ed altri miceti filamentosi o lievitiforimi (micosi in neutropenico);
- *Bacillus anthracis* (carbonchio);
- *Pseudomonas aeruginosa*.

MODALITA' DI RACCOLTA

1. lavare le mani con acqua e sapone, indossare guanti;
2. incidere verticalmente ed orizzontalmente la cute (formando una croce) con la lama di un bisturi, scoprendo il fondo della lesione;
3. inumidire un tampone in soluzione fisiologica o in acqua distillata sterile;
4. strisciare, ruotandolo, il tampone sulla sede della scarificazione, evitando di toccare la cute integra.
5. riporre il tampone nel contenitore con l'apposito terreno;
6. togliere i guanti e scartarli nel contenitore per rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo e lavare le mani con acqua e sapone

N.B.: In caso di presenza di petecchie cutanee da sospetta infezione meningococcica allestire un vetrino diretto per apposizione da un secondo tampone eseguito come riportato sopra

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Nel caso di ricerca mirata di *Neisseria meningitidis* è imperativo l'inoltro immediato del campione in laboratorio, nel caso in cui ciò non fosse possibile contattare il laboratorio o il dirigente reperibile; negli altri casi i campioni possono essere conservati fino a 48 h a 4 °C.

TAMPONE SITO DI INSERZIONE CATETERE VASCOLARE (EXIT SITE)

INDICAZIONI ALL'ESAME

Il tampone da exit site trova indicazione quando sia impossibile la rimozione del catetere vascolare, potendo avere valore predittivo negativo dell'eventuale colonizzazione della punta della cannula ma è **utile solo quando si manifesta evidenza clinica di infezione localizzata**, poiché risultati colturali positivi possono essere riferiti alla presenza di batteri commensali e condurre ad interpretazioni errate. Il prelievo contemporaneo di campioni di sangue dalla cannula e da una vena periferica rappresenta il metodo più valido, e su cui tutti gli autori sono concordi, per il rilievo dell'infezione associata alla cannula che consente il mantenimento dell'accesso venoso centrale (vedi Emocolture).

Il protocollo standard prevede l'esame colturale per la ricerca di germi "non esigenti" e la determinazione semiquantitativa della carica.

Nel sospetto clinico di altri agenti eziologici è necessario prendere contatto con il laboratorio, per concordare le idonee ricerche.

MODALITA' DI RACCOLTA

1. lavare le mani con soluzione alcoolica, indossare i guanti, non necessariamente sterili, a meno che debba essere eseguita la palpazione della sede di inserzione
2. Pulire l' exit-site e la zona circostante con soluzione fisiologica, non disinfettare l'exit-site;
3. inumidire il tampone in soluzione fisiologica o acqua distillata sterile;
4. strisciare, ruotandolo, il tampone, sulla cute attorno al punto di inserzione della cannula;
5. riporre il tampone nel contenitore con l'apposito terreno;
6. togliere i guanti e scartarli nel contenitore per rifiuti sanitari pericolosi a rischio e lavare le mani con soluzione alcoolica.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

I campioni possono essere conservati fino 48 h a 4 °C.

CUTE E ANNESSI PER LA RICERCA DI MICETI

INDICAZIONI ALL'ESAME

Il prelievo è indirizzato alla ricerca di miceti responsabili di affezioni dell'apparato tegumentario.

Prima del prelievo viene compilata un'apposita scheda clinico-anamnestica riportata alla fine del paragrafo da inviare in laboratorio insieme al campione prelevato.

MATERIALE PER IL PRELIEVO

- Alcool 70%
- Garze sterili, Pinzette sterili, Forbicine sterili, Tronchesi sterili, Soluzione fisiologica sterile, Tamponi sterili monouso, Bisturi chirurgico monouso a lama con punta arrotondata, Vetrini per microscopia, Nastro adesivo trasparente
- Blu di lattofenolo
- Terreni di coltura selettivi per miceti (AGAR SABUORAUD + CLORAMFENICOLO – per lieviti e muffe ialine e dematiacee, AGAR SABOURAUD + CLORAMFENICOLO + ACTIDIONE – per funghi dermatofiti)

MODALITA' DI RACCOLTA

Prelievo cutaneo da aree glabre e con annessi piliferi

- Allestire un vetrino riportante l'identificativo del paziente sulla sua parte smerigliata, con una goccia di blu-lattofenolo da dropper pronto all'uso per la ricerca microscopica diretta di spore e ife
- Indossare guanti monouso
- Raschiare la cute interessata dalla lesione a livello del bordo di avanzamento dalla lesione stessa, utilizzando un bisturi monouso o, in alternativa, il bordo di un vetrino per microscopia; in caso di lesioni vescicolose (ad esempio tinea pedis plantare) prelevare il tetto delle vescicole e/o i lembetti epidermici tagliando con una forbicina
- Far cadere su entrambi i terreni di coltura le scaglie cutanee così sollevate o i lembi tagliati
- Apporre 3-4 cm di nastro adesivo trasparente sull'area scarificata in modo da staccare le residue scaglie cutanee, quindi depositare lo scotch sul vetrino precedentemente preparato a contatto con il blu-lattofenolo

Procedere ad un'ulteriore scarificazione della cute e con un tampone sterile intriso di fisiologica, prelevare completamente il materiale scarificato e seminarlo con movimento rotatorio su almeno tre zone distinte delle piastre di coltura.

Nelle lesioni cutanee caratterizzate da chiazze alopeciche o di rarefazione del capillizio o dei peli, è opportuno procedere anche alla raccolta mediante pinzetta, di monconi di capelli/peli con relativi bulbi e di squame lamellari o furfuracee sempre a livello del margine di avanzamento del processo infettivo, per poi depositarli nelle piastre di coltura.

Prelievo di materiale ungueale

La raccolta di materiale ungueale va eseguita previa valutazione della tipologia della lesione.

Interessamento sub ungueale distale e laterale

Disinfettare con alcool al 70%

Rimuovere con un tronchesino sterile e buttare la porzione di lamina onicolitica fino ad arrivare al limite con i tessuti sani

Procedere quindi al grattamento della porzione di lamina residua (anche nel suo strato ventrale) o di iponichio interessati, utilizzando un bisturi o delle fobicine in modo da ottenere dei piccoli frammenti da depositare sulle piastre di coltura

Interessamento superficiale

Disinfettare con alcool al 70%

Raschiare con un bisturi le zone, solitamente biancastre, dello strato dorsale della lamina ungueale facendo cadere il materiale sui terreni di coltura

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

I terreni di coltura seminati vanno chiusi sigillandone i bordi con nastro adesivo in modo da impedire l'essiccazione dell' agar poiché i tempi di incubazione per questo tipo di ricerca microbiologica sono generalmente lunghi (mediamente 21 giorni).

SECREZIONI OCULARI

INDICAZIONI ALL'ESAME

Le indagini microbiologiche consentono l'accertamento eziologico di **congiuntivite** e **cheratite**. Il protocollo standard è indirizzato alla ricerca di batteri "non esigenti" e batteri "esigenti".

In età neonatale può essere in causa *Chlamydia trachomatis*, acquisita durante la fase espulsiva del parto. Tale ricerca si effettua mediante test molecolari, richiede specifiche modalità di raccolta e deve essere specificata sulla richiesta.

Per altre indagini, che richiedono l'utilizzo di terreni supplementari e/o di tecniche particolari, è necessario prendere contatti direttamente con il laboratorio (miceti filamentosi, amebe a vita libera, etc.)

MODALITA' DI RACCOLTA

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.

Quando si sospetta una congiuntivite unilaterale eseguire anche l'esame della congiuntiva controlaterale per la valutazione di eventuali contaminanti.

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

Il prelievo deve essere effettuato dallo specialista. Eseguire il prelievo per scarificazione in punti multipli dell'area ulcerata o suppurata. Precedentemente effettuare il prelievo per l'esame colturale dalle congiuntive dei due occhi per la valutazione di eventuali contaminanti.

4) Prelievo per *Chlamydia trachomatis* :

- In questa fase è possibile instillare 1 - 2 gocce di anestetico, utilizzando una spatola di Kimura sterile raschiare delicatamente la superficie più bassa della congiuntiva tarsale e raccogliere con il tampone il materiale sulla spatola;
- Il prelievo può essere effettuato direttamente con il tampone: allontanare la palpebra dal bulbo oculare, traendola delicatamente verso l'operatore, estrarre il tampone dal kit e ruotarlo tre-quattro volte, delicatamente ma con fermezza, mantenendolo a contatto con la mucosa;
- Inserire il tampone nel contenitore .

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

I campioni possono essere conservati fino 48 h a 4 °C

Per i prelievi di umor acqueo/ vitreo vedi Liquidi biologici

Per le ricerche di amebe a vita libera vedi Ricerche parassiti

DISPOSITIVI OSTEO-ARTICOLARI

INDICAZIONI ALL'ESAME

La coltura e l'isolamento del microrganismo infettante da campioni di tessuto periprotetico è tuttora il *gold standard* per la diagnosi di infezione della protesi articolare.

Diversi punti critici si ritrovano nella fase preanalitica del percorso diagnostico:

- ◆ raccolta di un numero significativo di campioni
- ◆ esecuzione del prelievo dei campioni con modalità corrette
- ◆ sospensione della profilassi antibiotica fino al prelievo dei campioni
- ◆ sospensione della terapia antibiotica almeno 15 giorni prima del prelievo dei campioni.

La terapia antibiotica deve essere sospesa almeno 2 settimane prima dell'espianto delle componenti protesiche, compatibilmente con il quadro clinico del paziente. In presenza di un'infezione early (sia early diagnosi che early infection), la terapia antibiotica, se il paziente è clinicamente stabile, non va mai somministrata prima della pulizia chirurgica. La terapia antibiotica va iniziata dopo il prelievo dei campioni per esame colturale

MODALITA' DI RACCOLTA

Aspirato articolare

L'aspirazione richiede asepsi e preferibilmente dovrebbe essere eseguita in sala operatoria mediante aspirazione articolare percutanea o comunque a capsula articolare chiusa se eseguita durante l'intervento di revisione.

Inoculare aliquote >0,5ml in fiasche da emocoltura per microrganismi aerobi e anaerobi e trasferire l'eventuale rimanente in contenitore sterile.



L'utilizzo di brodi di arricchimento è importante perché:

- ◆ **nelle forme croniche il numero dei microrganismi liberi (planctonici) può essere ridotto e la sensibilità colturale dell'aspirato articolare può quindi risultare scarsa.**
- ◆ **favorisce lo sviluppo di microrganismi a vitalità ridotta a seguito di pregressi trattamenti antibiotici e/o per le caratteristiche metaboliche dei microrganismi sessili.**

Tessuti periprotetici

Il prelievo di campioni biotici multipli è indispensabile al fine di aumentare la sensibilità dei metodi colturali distinguere i microrganismi contaminanti dai patogeni.

Ogni singola biopsia di tessuto periprotetico va prelevata con strumentazione separata ed inserita in un contenitore dedicato per prevenire la contaminazione crociata di tutti i campioni da sottoporre all'esame colturale. Prelevare un numero ≥ 3 di biopsie periprotetiche, includendo un campione rappresentativo della interfaccia protesi osso e due della capsula articolare.

Qualora venga evidenziata una zona con infezione manifesta prelevare i tessuti interessati.

Ricoprire con soluzione fisiologica sterile e inviare rapidamente al laboratorio per colture in aerobiosi e anaerobiosi.

Nei medesimi punti prelevare un numero equivalente di biopsie per la valutazione dello stato infiammatorio mediante esame istologico.

Componenti protesiche

Porre ogni singola componente protesica in un contenitore rigido, sterile, a tenuta, di idonee dimensioni e adatto alla procedura di sonicazione. Ricoprire la componente per almeno il 90 % del suo volume con soluzione di Ringer o soluzione fisiologica sterile.



Viti e Materiali per osteosintesi



Porre la componente in apposito contenitore sterile a tenuta con aggiunta di fisiologica sterile fino ad immergere il campione



TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Etichettare correttamente i diversi campioni applicando le etichette corrispondenti ai diversi materiali prelevati.

Utilizzare il campo “**Note alla richiesta**” in fase di accettazione per comunicare al laboratorio le informazioni cliniche rilevanti (Esempio: Spaziatore antibiotato? No/Si?, Progressiva terapia antibiotica? Data di sospensione gg/mm/aaaa. Antibiotico/i somministrato/i, Profilassi perioperatoria? No/Si (effettuata in caso di sospetta mobilizzazione asettica); Specificare zona di prelievo per eventuali biopsie 4 e 5).

I campioni devono essere inviati al laboratorio nel minor tempo possibile e possibilmente entro lo stesso giorno di prelievo. Per tempi superiori conservare i materiali a 4 °C e le fiasche inoculate con liquido articolare a temperatura ambiente per un massimo di 48h.

Poiché le procedure di lavorazione dei campioni sono estremamente lunghe **INFORMARE** il laboratorio sulla programmazione operatoria evitando di inviare i campioni dopo le ore 13.00

Materiali non idonei

Pus da fistola: Le colture da secrezione da fistola non sono utili perché i microrganismi isolati sono spesso colonizzanti della cute e non sono predittivi dell'agente causale dell'infezione profonda con eccezione di *S. aureus*.

Materiale periprotetico raccolto con tampone: I prelievi di materiale periprotetico mediante tampone vanno evitati poiché la sensibilità colturale è molto bassa

SECREZIONI BASSE VIE RESPIRATORIE

ESCREATO

INDICAZIONI ALL'ESAME

L'indagine microbiologica delle secrezioni delle basse vie respiratorie viene per lo più richiesta per la diagnosi di **bronchite cronica riacutizzata** o di **polmonite**. La contaminazione del campione con saliva limita però molto l'utilità di questa ricerca nella pratica clinica. Il protocollo standard prevede l'esecuzione di un **esame microscopico** per valutare 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** ed alla determinazione della carica semiquantitativa di batteri non esigenti ed esigenti.

Ricerche particolari (ad es. *Legionella* spp, *Nocardia* spp, miceti filamentosi, *B. cepacia* in pazienti con fibrosi cistica) devono essere chiaramente indicate nella richiesta

MODALITA' DI RACCOLTA

E' opportuno che il paziente sia assistito, durante la raccolta, da personale infermieristico.

- raccogliere l'espettorato preferibilmente lontano dall'assunzione di cibo;
- rimuovere sempre eventuali protesi dentarie;
- raccogliere almeno 2 ml di materiale;
- pulire, grattando gentilmente con spazzolino da denti o con tampone umidi, la mucosa interna delle guance, le gengive e la lingua;
- 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. Si può avere un protezione dalla contaminazione salivare inserendo tra guance e gengive cilindretti di cotone sterile per bloccare la secrezione salivare dal dotto di Stenone;
- se il paziente ha difficoltà ad espettorare, si può ricorrere alla **induzione aerosolica**: far inspirare al paziente, lentamente e profondamente, un aerosol di 20-30 ml di soluzione salina tiepida;
- raccogliere, successivamente, l'espettorato nel contenitore sterile.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Eeguire la raccolta solo durante gli orari di apertura del laboratorio: attese superiori alle due ore prima della semina possono rendere non attendibili i risultati dell'esame colturale. Tempi di conservazione: massimo 2 h a 4 °C

SECREZIONI BRONCHIALI DA PRELIEVO NON PROTETTO (oltre Escreato)

INDICAZIONI ALL'ESAME

E' possibile la raccolta di secrezioni respiratorie anche da:

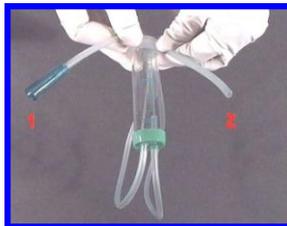
1. Aspirato o lavaggio tracheo-bronchiale
2. Aspirato transcricoido
3. Aspirato da tracheostomia

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; 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.

la ricerca di particolari microorganismi (Miceti, Micobatteri) deve essere specificata sul modulo di richiesta;

MODALITA' DI RACCOLTA

La raccolta di questi ultimi materiali è di specifica competenza del medico specialista.



- 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.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Eeguire gli aspirati solo durante gli orari di apertura del laboratorio; attese superiori alle due ore prima della semina possono rendere non attendibili i risultati dell'esame colturale. Tempi di conservazione: massimo 2 h a 4° C

SECREZIONI BRONCHIALI DA PRELIEVO PROTETTO

INDICAZIONI ALL'ESAME

Le secrezioni bronchiali raccolte con "prelievo protetto" rappresentano il materiale di elezione per la diagnosi eziologica delle infezioni delle basse vie respiratorie (polmoniti, ascessi 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 clinica, nel sospetto di forme eziologiche inusuali o che richiedano terapie mirate (infezioni fungine, infezioni ospedaliere).

Il protocollo standard prevede l'esecuzione di **esame microscopico** (presenza e numerosità di: cellule epiteliali del cavo orale o "cellule di sfaldamento", cellule "bronchiali", globuli bianchi, batteri o miceti) e delle **ricerche colturali**, indirizzate alla ricerca di un ampio spettro di batteri e miceti: batteri non esigenti, batteri esigenti, batteri anaerobi, miceti (lieviti e miceti filamentosi). Il risultato dell'esame colturale viene espresso in forma quantitativa (la conoscenza della carica microbica consente di discriminare i microrganismi responsabile di infezione dai contaminanti). Gli agenti eziologici di polmonite sono generalmente presenti in alte concentrazioni nelle secrezioni respiratorie ($> 10^5$ - 10^6 UFC/ml); la popolazione microbica contaminante delle alte vie respiratorie è invece presente in concentrazioni più basse ($< 10^4$ UFC/ml) quando il materiale è raccolto correttamente.

Ulteriori ricerche (es. *Legionella spp.*, *Nocardia spp.*, o miceti dimorfi nel sospetto di Istoplasmosi, *Pneumocystis jiroveci*) potranno essere effettuate sulla base del sospetto clinico, e specificatamente richiesti.

MODALITA' DI RACCOLTA

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

1. Lavaggio broncoalveolare;
2. Lavaggio broncoalveolare mirato con cateterino;
3. Brushing endobronchiale protetto.



Nel paziente sottoposto a broncoscopia si iniettano nei bronchi che interessano 20-50 mL di soluzione fisiologica sterile, di cui si riaspira il massimo volume possibile. Il materiale va raccolto direttamente nel contenitore del set sterile.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Eeguire il prelievo solo durante gli orari di apertura del laboratorio; attese superiori alle due ore prima della semina possono rendere non attendibili i risultati dell'esame culturale. Tempi di conservazione: massimo 2 h a 4 °C

**SECREZIONI ALTE VIE
RESPIRATORIE
(ORECCHIO - NASO -
GOLA)**

ESSUDATO (TAMPONE) FARINGEO

INDICAZIONI ALL'ESAME

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 faringotonsillite. La ricerca degli streptococchi beta-emolitici costituisce il protocollo standard per le indagini su questo materiale.

In caso di sospetto di altre forme cliniche è necessario che siano presi contatti direttamente con il Laboratorio, ad es. nei casi di ricerca:

- *Neisseria meningitidis*, in pazienti affetti da sospetta meningite meningococcica o loro 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*);
- lieviti, nel mugugno o candidosi orofaringea, resistente a terapie antimicotiche mirate;
- angina di Vincent (*Borrelia vincentii* e *Fusobacterium spp.*);

MODALITA' DI RACCOLTA

- Si raccomanda di eseguire il tampone faringeo lontano dall'assunzione di cibo: la stimolazione del faringe potrebbe indurre il riflesso del vomito.
- rivolgere il paziente verso una sorgente appropriata di illuminazione, per visualizzare la sede ove operare il prelievo;
- premere la lingua con un abbassalingua;
- guidare il tampone fino alla parte posteriore del faringe avendo cura di non toccare la lingua, le arcate dentarie, il velopendolo e le pareti laterali del cavo orale;
- strisciare "energicamente" il tampone tra i pilastri tonsillari, premendo sulle cripte tonsillari;
- riporre il tampone nel contenitore con l'apposito terreno di trasporto.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

I tamponi possono essere conservati fino a 48 h a 4 °C. Nel caso di ricerca mirata di *Neisseria meningitidis* o *N. gonorrhoeae* è consigliato l'inoltro immediato del campione al Laboratorio.

ESSUDATO (TAMPONE) NASALE O NASO-FARINGEO

INDICAZIONI ALL'ESAME

Ricerche microbiologiche su tampone nasale o rino-faringeo hanno dubbio significato clinico. il tampone rinofaringeo è per la ricerca dei virus respiratori, di *Bordetella pertussis* (in particolare nei bambini) e per ricerche mirate "epidemiologiche", come l'identificazione dei portatori di *N. meningitidis* e *C. diphtheriae*. Per la ricerca dei portatori di *Staphylococcus aureus* si consiglia di effettuare il prelievo nasale dalle narici anteriori con tampone con terreno di trasporto inserito per 2-3 cm e ruotato delicatamente. Indicare sulla richiesta il sospetto diagnostico e specificare le indagini da eseguire

MODALITA' DI RACCOLTA

- Utilizzare preferenzialmente il tampone sottile con asta flessibile in alluminio;
- dopo aver immobilizzato la testa del paziente, inserire il tampone profondamente sino alla parete posteriore del rinofaringe mantenere in sito il tampone per qualche secondo ruotandolo delicatamente;
- riporre il tampone nel contenitore con l'apposito terreno di trasporto.

ATTENZIONE: in caso di sinusite prelevare con puntura diretta la secrezione del seno paranasale, chiudere la siringa con gli appositi tappini disponibili in farmacia ed inviarla in laboratorio in breve tempo (max 2 h). La procedura è di competenza dello specialista ORL.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

I tamponi possono essere conservati fino a 48 h a 4 °C. Nel caso di ricerca mirata di *Neisseria meningitidis* o *N. gonorrhoeae* è consigliato l'inoltro immediato del campione al Laboratorio.

TAMPONE CAVO ORALE, LINGUALE

INDICAZIONI ALL'ESAME

L'esame si effettua per evidenziare la presenza di microrganismi causa di stomatiti e glossiti. Il protocollo standard include la ricerca di miceti inclusi i funghi filamentosi (*Aspergillus spp.*).

MODALITA' DI RACCOLTA

- Strofinare "energicamente" il tampone sulle lesioni presenti nel cavo orale o sulla lingua;
- riporre il tampone nel contenitore con l'apposito terreno di trasporto.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

I tamponi possono essere conservati fino a 48 h a 4 °C.

GARGARIZZATO

INDICAZIONI ALL'ESAME

L'esame si effettua per evidenziare la presenza di microrganismi causa di infezioni, in particolare virali del cavo orale e dell'orofaringe

MODALITA' DI RACCOLTA

Fare assumere al paziente 50 cc di soluzione fisiologica senza deglutire e fare effettuare alcuni gargarismi, quindi sputare la soluzione in un contenitore sterile a bocca larga con tappo a vite.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Conservare a temperatura ambiente ed inviare in laboratorio entro 2 h. Se ciò non possibile conservare il prelievo a temperatura di frigorifero (4-8 °C) fino a 48 h max.

ESSUDATO (TAMPONE) AURICOLARE

INDICAZIONI ALL'ESAME

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

Il protocollo standard prevede la ricerca di batteri "non esigenti", batteri "esigenti" e miceti (inclusi i miceti filamentosi, quali *Aspergillus* spp.).

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.

Il tampone auricolare non trova indicazione nei casi di otite media a membrana timpanica integra.

MODALITA' DI RACCOLTA

La raccolta è solitamente di competenza del medico specialista, salvo i casi di abbondante fuoriuscita di pus dal timpano perforato.

- Raccomandare al paziente di non procedere alla pulizia del canale auricolare nelle ore precedenti la raccolta delle secrezioni per l'esame microbiologico (asportare le secrezioni potrebbe rendere non significativi i risultati dell'esame);

- rivolgere il paziente verso una sorgente appropriata di illuminazione, per visualizzare la sede ove operare il prelievo;
- guidare il tampone nel condotto uditivo avendo cura di non strofinarne le pareti interne, se possibile, usare un otoscopio sterile che, proteggendo il tampone durante l'inserimento, consente la raccolta di materiale a bassa contaminazione;
- accertarsi che sul tampone sia presente materiale di secrezione o essudazione;
- riporre il tampone nel contenitore con l'apposito terreno di trasporto.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

I campioni dovranno essere inoltrati nel più breve tempo possibile (per garantire la vitalità dei batteri esigenti, in particolare di *Haemophilus spp.* e *Streptococcus pneumoniae*). Ove ciò non fosse possibile conservare il tampone a 4 °C fino a max 48 h.

VIE URINARIE

URINE

INDICAZIONI ALL'ESAME

L'esame colturale delle urine consente la ricerca di **germi non esigenti** (protocollo standard): Enterobatteri, Bacilli Gram negativi non fermentanti, Staphylococcus spp., Streptococcus spp. e bacilli Gram positivi e lieviti. L'esame è quantitativo, preceduto da uno screening citofluorimetrico con contemporanea valutazione della presenza di globuli bianchi, indice di infezione.

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. Per la facilità di contaminazione del campione urinario con materiale fecale o perineale, nel referto è segnalata la possibilità di contaminazione in occasione di ogni esito positivo.
- **Urine da catetere estemporaneo**, riservato a pazienti per i quali non è possibile la raccolta del campione da mitto intermedio o, raramente, per conferma di risultati dubbi nel prelievo da mitto intermedio.
- **Urine da catetere permanente**, da pazienti portatori di un catetere a permanenza, nei quali però, in caso di positività, l'assenza di sintomi clinici depone per una colonizzazione vescicale più che per un'infezione delle vie urinarie.
- **Urine da ...** Si intendono i campioni raccolti con specifiche modalità o sedi (da catetere nefrostomico, da uretero-cutaneo-stomia, da catetere ureterale, lavaggio vescicale, ecc.). La modalità del prelievo deve sempre essere specificata nel modulo di richiesta.

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

Tali campioni, non essendo idonei non saranno esaminati.

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

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

URINE DA MITTO INTERMEDIO

MODALITA' DI RACCOLTA

- Informare adeguatamente il paziente delle corrette modalità di raccolta;
- lavare con cura le mani con acqua e sapone (**non usare antisettici**), risciacquare e asciugare;
- lavare con cura i genitali esterni, con acqua e sapone (**non usare antisettici**):
- per **pazienti di sesso maschile**: retrarre il prepuzio; poi lavare l'orifizio uretrale e la zona circostante, quindi sciacquare e asciugare con una salviettina pulita;
- per **pazienti di sesso femminile**: lavare e risciacquare passando per tre volte dall'avanti all'indietro, l'orifizio uretrale e la zona perineale, poi asciugare con una salviettina pulita;
- aprire il contenitore sterile a bocca larga con tappo a vite evitando di toccare l'interno e/o il coperchio, appoggiando sia il contenitore che il coperchio (rivolto all'insù) su una superficie piana;
- proseguire come di seguito indicato a seconda del sesso del paziente: urinare (le **donne**, divaricando con le dita le grandi labbra della vulva; i **maschi**, tenendo represso il glande), scartare nella tazza del WC la prima parte delle urine emesse;
- raccogliere direttamente nel recipiente sterile la seconda parte delle urine emesse, in quantità non superiore a 3-4 cm;
- chiudere immediatamente il contenitore, avvitando con cura il tappo ed evitando di toccare l'interno.

Modalità di raccolta delle urine

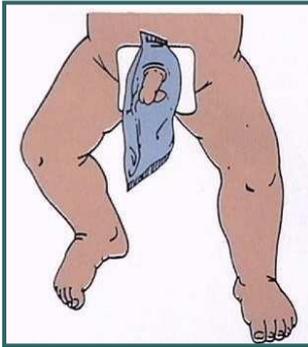


In laboratorio inviare solo la provetta

URINE DA SACCHETTO

MODALITA' DI RACCOLTA

- lavare con cura le mani con acqua e sapone (**non usare antisettici**), risciacquare e asciugare;
- lavare con cura i genitali esterni e il perineo del piccolo paziente con acqua e sapone (**non usare antisettici**), quindi sciacquare e asciugare;
- aprire il sacchetto sterile evitando di toccarne l'interno;
- fare aderire il sacchetto alla cute perineale;
- mantenere il bambino in posizione eretta;
- raccogliere le urine;



- nel caso il bambino abbia difficoltà a urinare, rimuovere il sacchetto ogni trenta minuti e ripetere la procedura di pulizia e posizionamento sopra descritte, fino alla raccolta del campione;
- richiudere il sacchetto utilizzando l'apposita linguetta adesiva;
- porre il sacchetto in posizione verticale in un contenitore sterile a bocca larga con tappo a vite (non travasare le urine dal sacchetto al fine di ridurre la possibilità di contaminazione);
- Chiudere con cura il contenitore.

URINA DA CATETERE ESTEMPORANEO

MODALITA' DI RACCOLTA

- Lavarsi accuratamente le mani, asciugarle con cura e indossare guanti non sterili;
- verificare la presenza del globo vescicale;
- lavare accuratamente con acqua e sapone (**non con antisettici**) la regione dell'uretra; poi sciacquare con acqua sterile e asciugare con una garza sterile;
- introdurre sterilmente il catetere dopo avere indossato guanti sterili;
- lasciare defluire la prima parte delle urine, eliminandola in un contenitore destinato allo scarto.;
- procedere alla raccolta delle urine successive in un contenitore sterile.

URINA DA CATETERE PERMANENTE

MODALITA' DI RACCOLTA

Allo scopo di ridurre il più possibile le possibilità di inviare un'urina contaminata dal catetere si consiglia di sostituire il catetere vescicale prima della raccolta e raccogliere le urine circa 2 ore dopo la sostituzione



- Non sconnettere mai il catetere per raccogliere le urine;
- clampare il catetere immediatamente a valle del dispositivo di prelievo;
- lavarsi accuratamente le mani, asciugarle con cura e indossare guanti non sterili;
- disinfettare il dispositivo del catetere predisposto per il prelievo;
- raccordare sterilmente alla siringa sterile monouso da 15 ml l'ago sottile (23-25 G);
- inserire l'ago nell'apposito dispositivo ed aspirare delicatamente 10 - 15 ml di urine;
- rimuovere l'ago e trasferire le urine nel contenitore sterile;
- eliminare ago e siringa negli appositi contenitori rigidi,

- chiudere immediatamente il contenitore, avvitando con cura il tappo ed evitando di toccarne l'interno;
- togliere la pinza di clampaggio.

Non raccogliere mai le urine aspirando direttamente dalla sacca

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

- Accertarsi che il contenitore sia ermeticamente chiuso in modo che l'urina non fuoriesca durante il trasporto;
- Inviare il materiale al laboratorio entro 2 h dalla raccolta, conservandolo a temperatura ambiente;
- In alternativa conservare le urine in frigorifero + 4° C (non in congelatore!) per un massimo di 48 h.

Per le modalità di raccolta, conservazione e trasporto delle urine primo mitto si rimanda alla sezione Apparato genitale maschile

Per le ricerche parassiti e le ricerche virali nelle urine consultare i capitoli specifici

FECI

FECI

COPROCOLTURA

INDICAZIONI ALL'ESAME

La coprocoltura è effettuata per la diagnosi eziologica delle gastroenteriti infettive (*si può ipotizzare una diarrea infettiva qualora vengano emesse almeno 5 scariche nell'arco di un'unica giornata o almeno 3 scariche al giorno per 3 giorni consecutivi*), per la ricerca di portatori di *Salmonella*, per la ricerca di miceti in soggetti trapiantati. Le indagini sono sempre mirate: la decisione di quali microrganismi cercare è guidata dal quadro clinico e da considerazioni epidemiologiche. Si raccomanda sempre l'esecuzione di una emocoltura nel paziente febbrile.

La coprocoltura di routine prevede la ricerca di *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*; ogni altra indagine va richiesta espressamente. Poiché il quadro clinico può indirizzare il laboratorio verso ricerche aggiuntive a quelle richieste si consiglia di riportare sempre il sospetto diagnostico.

MODALITA' DI RACCOLTA

E' consigliabile effettuare il prelievo in fase di acuzie clinica. Secondo alcuni Autori le feci formate costituiscono materiale non idoneo per la ricerca di batteri responsabili di enterite.

E' preferibile la raccolta in barattolo ed evitare la raccolta per mezzo di tampone:

- raccogliere le feci su una "padella" o su una superficie pulita evitando la contaminazione con urine
- trasferire nel barattolo una quantità di feci pari al volume di una nocciola per mezzo del tappo-cucchiaino, per feci liquide è sufficiente un volume di 2-3 ml
- Fare attenzione a non imbrattare le superfici esterne ed il tappo del contenitore

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Inviare tempestivamente (entro due ore dalla raccolta) il campione in laboratorio per garantire la vitalità dei microrganismi, se ciò non fosse possibile i campioni possono essere conservati in frigorifero trasferiti in tampone Fecal Swab al massimo per 48 ore.

RICERCA CLOSTRIDIUM DIFFICILE

INDICAZIONI ALL'ESAME

Agente causale di sindromi diarroiche intestinali la cui gravità può variare da una diarrea benigna associata agli antibiotici (AAD) a forme di colite antibiotico-associate (AAC) ed alla colite pseudomembranosa (PMC). Solo i ceppi produttori di tossine hanno un ruolo patogeno.

MODALITA' DI RACCOLTA

Effettuare la raccolta in barattolo, non è idonea la raccolta per mezzo di tampone. Sono considerati campioni idonei solo le feci diarroiche (gradi 5 -7 della Bristol Stool Chart), campioni di feci formate, considerati non idonei non saranno sottoposte ad analisi:

- raccogliere le feci su una "padella" o su una superficie pulita evitando la contaminazione con urine
- trasferire nel barattolo una quantità di feci liquide del volume di 2-3 ml
- Fare attenzione a non imbrattare le superfici esterne ed il tappo del contenitore

Grazie all'elevata sensibilità e specificità del metodo in uso non sono effettuati esami su campioni ripetuti, a meno di una valida motivazione e dopo accordi tra il medico del reparto ed un dirigente del laboratorio di microbiologia

In considerazione della mancanza di significato clinico ed epidemiologico dell'esame per la conferma dell'avvenuta guarigione o per valutare l'eventuale stato di portatore non inviare campioni di pazienti già refertati positivi da meno di 30 giorni

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Inviare tempestivamente (entro due ore dalla raccolta) il campione in laboratorio, se ciò non fosse possibile i campioni possono essere conservati in frigorifero, al massimo per 72 ore.

Tipo 1		Grumi duri e separati, simili a noci (difficili da espellere)
Tipo 2		A forma di salsiccia, ma grumosa
Tipo 3		Simile ad una salsiccia, ma con crepe sulla superficie
Tipo 4		A forma di salsiccia o serpente, liscia e morbida
Tipo 5		Grumi morbidi con bordi ben definiti (si espelle facilmente)
Tipo 6		Pezzi lanuginosi con bordi frastagliati, feci pastose
Tipo 7		Acquosa, senza pezzi solidi. Interamente liquida

Bristol Stool Chart

Sono considerati campioni idonei solo le feci diarroiche (gradi 5 -7)

RICERCA HELICOBACTER PYLORI (ANTIGENE FECALE)

INDICAZIONI ALL'ESAME

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

MODALITA' DI RACCOLTA

E' consigliabile effettuare il prelievo in fase di acuzie clinica. Secondo alcuni Autori le feci formate costituiscono materiale non idoneo per la ricerca di batteri responsabili di enterite.

E' preferibile la raccolta in barattolo ed evitare la raccolta per mezzo di tampone:

- raccogliere le feci su una "padella" o su una superficie pulita evitando la contaminazione con urine
- trasferire nel barattolo una quantità di feci pari al volume di una nocciola per mezzo del tappo-cucchiaino, per feci liquide è sufficiente un volume di 2-3 ml
- Fare attenzione a non imbrattare le superfici esterne ed il tappo del contenitore

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Inviare tempestivamente (entro due ore dalla raccolta) il campione in laboratorio, se ciò non fosse possibile i campioni possono essere conservati in frigorifero, al massimo per 48 ore.

CALPROTECTINA FECALE

INDICAZIONI ALL'ESAME

La Calprotectina è una proteina legante il calcio presente nei neutrofili. Aumentati livelli di Calprotectina fecale si riscontrano soprattutto nelle **IBD – Inflammatory Bowel Disease** (rettocolite ulcerosa, Morbo di Crohn) ed in alcune neoplasie del gastroenterico. Livelli aumentati possono essere riscontrati anche in tutte le patologie che implicano un processo infiammatorio, acuto o cronico, a carico dell'apparato gastroenterico includendo le patologie peptiche, le diverticoliti, le enterocoliti infettive, il trattamento con alcuni farmaci.

MODALITA' DI RACCOLTA

- Raccogliere il campione al momento dell'evacuazione su una "padella" o su una superficie pulita evitando la contaminazione con urine o acqua del water.
- Prelevare le feci da punti diversi dell'intera evacuazione.
- Trasferire in un contenitore con tappo a vite di plastica una porzione di feci pari al volume di una noce; se le feci sono non formate o diarroidiche raccogliere almeno 5-10 mL di materiale fecale.
- Fare attenzione a non imbrattare le superfici esterne ed il tappo del contenitore
-

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Inviare entro due ore dalla raccolta il campione in laboratorio. In alternativa il campione può essere conservato a temperatura di frigorifero + 4 °C per un massimo di 2 giorni, **NON CONGELARE**

Per le ricerche parassiti e le ricerche virali nelle feci consultare i capitoli specifici

APPARATO GENITALE FEMMINILE

TAMPONE VAGINALE

INDICAZIONI ALL'ESAME

Le indagini devono accertare l'eziologia microbica di una sospetta vaginite (Candida spp., Trichomonas vaginalis), rilevare una condizione di vaginosi, valutare patologie da prevalenza in caso di dismicrobismo. La ricerca di altri eventuali germi potenzialmente patogeni è subordinata ad una valutazione microscopica preliminare che evidenzi un marcato dismicrobismo (es. assenza di lattobacilli).

In età pediatrica si ricercano Candida spp., Streptococcus pyogenes (gruppo A), Haemophilus spp.; più raramente possono essere in causa cocchi gram positivi, enterobatteriacee e Trichomonas vaginalis.

MODALITA' DI RACCOLTA

Le pazienti devono essere istruite su alcune norme cui attenersi per rendere attendibile l'esito dell'esame ed in particolare:

- non avere rapporti sessuali nei 3 giorni precedenti l'esame;
- non essere in periodo mestruale e averlo concluso da almeno 5 giorni;
- non eseguire lavande vaginali nei 3 giorni precedenti il prelievo;
- sospendere eventuali trattamenti chemio-antibiotici locali o generali almeno tre giorni prima dell'esame.

Il prelievo va effettuato da personale qualificato dal fornice posteriore con tampone sterile previa introduzione di uno speculum bivalve sterile.

Adottare tutte le necessarie misure di sicurezza per evitare contaminazioni da una paziente all'altra e salvaguardare l'operatore.

Effettuare sempre la misurazione del pH dell'essudato vaginale ed il fishy odor test:

pH vaginale: Va misurato sempre e prima dell'inserimento dello speculum, utilizzando cartine indicatrici (a range ristretto 4-7 ad alta sensibilità) o pHmetri monouso per contatto con la parete vaginale. E' preferibile la determinazione lungo le pareti vaginali laterali perché a livello del fornice posteriore si possono verificare false alcalinizzazioni dovute alle secrezioni vaginali.

Fishy odor test: La rilevazione va effettuata in complementarietà alla determinazione del pH: è assolutamente da effettuarsi a pH >4. Si aggiunge una goccia di soluzione al 10% di KOH all'essudato vaginale deposto su un vetrino. La positività è evidenziata da un caratteristico odore di pesce avariato che si sprigiona dal contatto tra KOH ed essudato.

Misurazione del pH e fishy odor test vanno effettuati direttamente in sede di prelievo e segnalati sulla scheda di accompagnamento.

In gravidanza (tampone vagino-rettale): per la prevenzione dell'infezione neonatale da *Streptococcus agalactiae* (SGB) il tampone va eseguito verso la 35°-36° settimana di gravidanza, prima nell'introito vaginale e successivamente con lo stesso tampone nell'introito rettale.

In età pediatrica: L'esame può essere eseguito su secrezioni vaginali; in caso di sintomatologia a carico dei genitali esterni può essere indicata l'esecuzione di un tampone vulvare.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Il tampone deve essere introdotto subito dopo aver effettuato il prelievo dell'essudato vaginale nell'apposito terreno di trasporto che deve essere inviato al laboratorio o conservato in frigorifero a +4 °C per un massimo di 48 ore.

TAMPONE CERVICALE

INDICAZIONI ALL'ESAME

Le ricerche sono indirizzate

- per la diagnosi di **cervicite** all'esame per la ricerca di *Neisseria gonorrhoeae* e *Chlamydia trachomatis*;
- per lo studio di **infertilità**, all'esame per la ricerca di *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis*.

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

- cervicite in donne portatrici di IUD;
- bartolinite;
- endometrite;
- salpingite.

MODALITA' DI RACCOLTA

Le norme preliminari cui devono attenersi le pazienti prima del prelievo sono le stesse del prelievo dal fornice vaginale.

Il prelievo va effettuato a livello **endocervicale**, previa introduzione di uno speculum bivalve sterile, con le seguenti modalità:

Prelievo per ricerca *Neisseria gonorrhoeae*: inserire il tampone nell'endocervice per circa 1cm. e ruotarlo alcune volte; porre il tampone nel terreno di trasporto

Prelievo per ricerca *Mycoplasma/Ureaplasma*: inserire il tampone nell'endocervice per circa 1 cm. e ruotarlo alcune volte; porre il tampone nel terreno di trasporto.

Prelievo per ricerca *Chlamydia trachomatis*: rimuovere l'eccesso di muco cervicale con un "tampone a secco"; inserire un secondo tampone (o un citobrush) specifico fornito dal laboratorio per 1,5 cm oltre la giunzione squamosa e ruotarlo più volte.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

I tamponi devono essere introdotti, subito dopo aver effettuato il prelievo, nell'apposito terreno di trasporto ed inviati al laboratorio al massimo entro la mattina successiva al prelievo. Possono essere conservati a 4 °C al massimo per 48 ore per esame colturale per gonococco e 72 H per le ricerche in biologia molecolare.

IUD

INDICAZIONI ALL'ESAME

L'esame standard è indirizzato alla ricerca mirata di *Actinomyces* spp per la difficoltà a raccogliere il campione senza contaminazione con flora vaginale. La ricerca richiede l'incubazione del materiale in anaerobiosi. Per altre indagini, che richiedono l'utilizzo di terreni supplementari e/o di tecniche particolari, è necessario prendere contatti direttamente con il laboratorio di Microbiologia

MODALITA' DI RACCOLTA

Il prelievo è una manovra di pertinenza specialistica. Rimuovere lo IUD e porlo in un contenitore sterile, aggiungendo 3-5 ml di soluzione fisiologica sterile (NaCl 0,9%, pH 7.0).

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Inviare il materiale in laboratorio nel più breve tempo possibile conservandolo a temperatura ambiente. Se non fosse possibile conservare a 4 °C per massimo 48 ore.

TAMPONE URETRALE (nella donna)

INDICAZIONI ALL'ESAME

L'esame ha lo scopo di individuare l'agente eziologico di uretrite. Devono essere ricercati routinariamente *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma/Ureaplasma*, *Trichomonas vaginalis*. Possono essere ricercati anche eventuali altri patogeni quali *Staphylococcus aureus* e *saprophyticus*, *Gardnerella vaginalis*, *Streptococcus agalactiae* ed enterobatteriacee che devono essere valutati circa la loro significatività.

MODALITA' DI RACCOLTA

Valgono le norme generali cui le pazienti devono attenersi prima del prelievo dal fornice posteriore. **La paziente non deve aver urinato da almeno tre ore.**

Il prelievo va effettuato introducendo per circa 1 cm un tampone minitip nell'uretra dopo aver rimosso con un tampone a secco l'eventuale presenza di muco (NB : Tampone con terreno di trasporto e provetta tappo arancione per esami colturali compresa *N. gonorrhoeae* + tampone specifico per *Chlamydia trachomatis*, *T. vaginalis*, *Mycoplasmi/Ureaplasma*, *N. gonorrhoeae* ric. molecolare: tappo azzurro ENAT).

Il tampone uretrale può essere sostituito dal primo mitto di urina, raccogliendo i primi 10-15 mL di urina con le stesse modalità previste per l'uricoltura in contenitore bocca larga tappo rosso a vite

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

I tamponi devono essere introdotti, subito dopo aver effettuato il prelievo, nell'apposito terreno di trasporto ed inviati al laboratorio entro 48 ore. Conservare a 4° C. Il primo mitto di urina va conservato per massimo 48 ore a temperatura di frigorifero (4-8 °C)

SCREENING PER RICERCA *Streptococcus agalactiae* IN GRAVIDANZA

INDICAZIONI ALL'ESAME

Streptococcus agalactiae (Streptococco β -emolitico di gruppo B) 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 microrganismo, si effettuano a livello vagino-rettale alla 35-37° settimana.

MODALITA' DI RACCOLTA

Valgono le norme generali cui le pazienti devono attenersi prima del prelievo dal fornice posteriore. Il prelievo va effettuato prima a livello del terzo inferiore della vagina strofinando delicatamente il tampone sulle pareti vaginali, quindi lo stesso tampone va introdotto attraverso lo sfintere anale per circa 2 cm e ruotato delicatamente per 30 secondi ca.

Utilizzare l' apposito kit con provetta tappo azzurro LIM BROTH

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

I tamponi devono essere introdotti, subito dopo aver effettuato il prelievo, nell'apposito terreno di trasporto ed inviati al laboratorio o conservato in frigorifero a +4 ° C per un massimo di 48 ore.

APPARATO GENITALE MASCHILE

Le patologie che più frequentemente interessano l'apparato urogenitale maschile sono le uretriti, le balanopostiti, le prostatiti e le orchiepididimiti. Il loro decorso è per lo più sintomatico e la loro eziologia batterica non sempre risulta dimostrata. Un problema a parte sono le indagini per infertilità e la preparazione alla fecondazione assistita, dove le ricerche vengono spesso effettuate su pazienti asintomatici e dove tutti i germi isolati devono essere valutati attentamente circa la loro significatività.

I materiali da prelevare per indagini microbiologiche dipendono dalla sede in cui si ritiene possa essere localizzato il processo infettivo e la loro idonea raccolta è presupposto fondamentale per una corretta diagnosi. E' inoltre assolutamente necessaria la formulazione da parte del clinico di un preciso sospetto diagnostico per permettere al microbiologo di guidare le indagini nel modo più idoneo.

TAMPONE URETRALE (nell' uomo)

INDICAZIONI ALL'ESAME

Il tampone uretrale deve essere sempre eseguito in caso di secrezione purulenta o vischiosa filamentosa del meato uretrale con o senza sintomatologia dolorosa. Talvolta può essere presente solo sensazione di bruciore, soprattutto durante la minzione, senza nessuna secrezione.

Il tampone dovrebbe essere eseguito anche nel caso in cui siano isolati microrganismi responsabili di infezioni a trasmissione sessuale nella partner.

Il tampone uretrale potrebbe essere utile anche nella ricerca dell'eziologia di una orchiepididimite. *Non è indicato nella diagnosi delle prostatiti.*

Un'ulteriore motivazione all'indagine sono gli screening per infertilità, dove il soggetto può essere del tutto asintomatico.

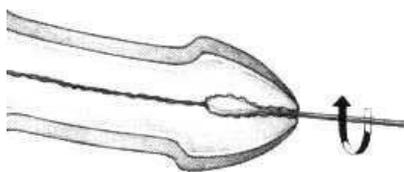
MODALITA' DI RACCOLTA

I pazienti devono essere istruiti su alcune norme da rispettare ed in particolare:

- astenersi da rapporti sessuali nelle 24 ore precedenti l'esame;
- aver cessato qualsiasi trattamento chemio-antibiotico da almeno una settimana;
- non aver urinato nelle ultime tre ore.

Nei casi in cui non sia evidente una secrezione è importante eseguire il tampone al mattino prima della minzione.

Il prelievo deve essere effettuato con tamponi di piccolo calibro in nylon o Dacron e deve essere preceduto dalla detersione con soluzione fisiologica del glande e del meato uretrale esterno. Si effettua una pressione alla base del pene per cercare di raccogliere eventuale secrezione, in seguito si introduce il tampone per circa 2 cm all'interno del canale uretrale, ruotandolo per 10 secondi.



Il prelievo va effettuato introducendo per circa 1 cm un tampone minitip nell'uretra dopo aver rimosso con un tampone a secco l'eventuale presenza di muco (NB : Tampone con terreno di trasporto e provetta tappo arancione per esami colturali compresa *N. gonorrhoeae* + tampone specifico per *Chlamydia trachomatis*, *T. vaginalis*, *Mycoplasma/Ureaplasma*, *N. gonorrhoeae* ric. molecolare: tappo azzurro ENAT).

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

I tamponi devono essere introdotti, subito dopo aver effettuato il prelievo, nell'apposito terreno di trasporto ed inviati al laboratorio. I tamponi possono essere mantenuti a 4 °C per massimo 72 ore.

TAMPONE BALANO-PREPUZIALE

INDICAZIONI ALL'ESAME

Le balaniti sono definite come stati infiammatori della mucosa del glande che può interessare anche il prepuzio (balanopostiti). La loro frequenza relativamente elevata può essere spiegata dalla stessa anatomia, trattandosi di zona cutanea sottoposta a macerazione e sfregamenti.

La loro eziologia è estremamente varia e nelle forme acute le cause infettive rivestono un ruolo di primo piano; i microrganismi più frequentemente chiamati in causa sono *Candida albicans*, *Trichomonas vaginalis*, streptococchi di gruppo A e B, *Staphylococcus aureus*, *Gardnerella vaginalis*, HSV e HPV.

In caso di lesioni purulente, la balanite potrebbe essere secondaria ad un'infezione uretrale che rischia di passare inosservata: queste balaniti sono spesso localizzate a livello del meato. Il prelievo (consigliato tampone uretrale) può mettere in evidenza *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis* o altri microrganismi quali micoplasmi urogenitali o *Chlamydia trachomatis*. La balanite associata a *Chlamydia* ha spesso una tendenza emorragica.

Se sono presenti lesioni ulcerative devono essere prese in considerazione indagini sierologiche per la sifilide.

MODALITA' DI RACCOLTA

Il prelievo deve essere effettuato con tamponi floccati tappo rosa dal solco balano-prepuziale.

Il paziente non deve aver effettuato terapia antibiotica o antimicotica topica o sistemica da almeno tre giorni.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

I tamponi devono essere introdotti, subito dopo aver effettuato il prelievo, nell'apposito terreno di trasporto ed inviati al laboratorio. I tamponi possono essere mantenuti a 4 ° C per un massimo di 48 ore.

LIQUIDO SEMINALE (SPERMIOCOLTURA)

INDICAZIONI ALL'ESAME

L'esame non è indicato per la diagnosi di prostatite batterica, né per la diagnosi di orchio-epididimite. Ha una sua utilità negli screening per l'infertilità e come esame di preparazione alla fecondazione assistita. Nell'ottica dello screening dell'infertilità la ricerca deve essere estesa a tutti i microrganismi che potenzialmente possano creare alterazioni del liquido seminale.

L'indagine microbiologica colturale su liquido spermatico è indirizzata alla ricerca di miceti, microrganismi aerobi, Gardnerella vaginalis e micoplasmi.

MODALITA' DI RACCOLTA

I pazienti devono essere istruiti su alcune norme da rispettare :

- astenersi da rapporti sessuali nei 3-4 giorni precedenti l'esame;
- aver cessato qualsiasi trattamento chemio-antibiotico da almeno una settimana
- per evitare la contaminazione da parte della normale flora batterica cutanea, il prelievo deve essere preceduto da un'accurata pulizia dei genitali esterni e delle mani.

La raccolta del liquido seminale deve avvenire mediante masturbazione e tutto l'eiaculato deve essere raccolto in un contenitore sterile a bocca larga.

La **ricerca di *Chlamydia trachomatis* e Micoplasmi urogenitali** , non potendo essere effettuata su liquido seminale, va effettuata sul **primo getto di urina**, raccolta in contenitore sterile, al mattino o almeno dopo tre ore dall'ultima minzione, prima della raccolta del liquido seminale.

Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae sono difficilmente isolabili dallo sperma per la presenza di sostanze inibenti; qualora sia necessaria una loro ricerca è consigliabile inviare il primo getto di urina con la specifica richiesta.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Il campione deve pervenire in laboratorio entro due ore dalla raccolta, in caso di impossibilità conservare in frigorifero (4 ° - 8 ° C) per massimo 48 ore

LIQUIDO SEMINALE (SPERMIOGRAMMA)

INDICAZIONI ALL'ESAME

Lo spermioγραμμα è l'analisi del liquido seminale finalizzata a valutare la qualità degli spermatozoi, attraverso la verifica della forma, del numero e della motilità. Tale esame rappresenta lo strumento principale per la valutazione della fertilità maschile.

Uno spermioγραμμα è necessario anche per verificare il buon esito di un intervento di vasectomia.

MODALITA' DI RACCOLTA

- Astinenza sessuale completa prima dell'esame fra i 3 e i 5 giorni (un periodo più breve diminuisce la concentrazione degli spermatozoi, un periodo più lungo ne diminuisce la motilità);
- Sospensione di terapie farmacologiche (ormoni, farmaci anti-infiammatori, antibiotici, steroidi) da almeno 5 giorni
- Effettuare un'accurata pulizia dei genitali esterni e delle mani per evitare la contaminazione con microrganismi muco-cutanei
- Raccogliere il campione mediante masturbazione manuale in un contenitore tappo a vite a bocca larga. Il campione non può essere ottenuto per coito interrotto o raccolto mediante condom
- Se per motivi religiosi la masturbazione è proibita, la raccolta del liquido può anche essere eseguita dopo un rapporto sessuale completo, in tal caso deve essere utilizzato un ospeciale preservativo di silicone o poliuretano (il lattice può danneggiare lo sperma)

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

La raccolta del campione deve avvenire preferibilmente presso il laboratorio ove viene effettuata l'analisi; se ciò non è possibile il campione può essere raccolto a casa e portato al laboratorio entro un' ora in posizione verticale procurando di tenerlo al caldo, preferibilmente in una tasca vicino al corpo.

URINA PRIMO MITTO

INDICAZIONI ALL'ESAME

La coltura del primo mitto di urina può essere utile, oltre che nei casi di prostatiti acute, nei pazienti con orchio-epididimiti soprattutto nei soggetti sopra i 35 anni dove l'eziologia deve essere ricercata principalmente tra i patogeni comuni delle vie urinarie.

MODALITA' DI RACCOLTA

Informare adeguatamente il paziente delle corrette modalità di raccolta:

- Raccogliere le urine al mattino o almeno dopo tre ore dall'ultima minzione;
- lavare con cura le mani con acqua e sapone (**non usare antisettici**), risciacquare e asciugare;
- lavare con cura i genitali esterni, con acqua e sapone (**non usare antisettici**):
- retrarre il prepuzio; poi lavare l'orifizio uretrale e la zona circostante, quindi sciacquare e asciugare con una salviettina pulitaasciugare;
- aprire il contenitore sterile a bocca larga con tappo a vite evitando di toccare l'interno e/o il coperchio, appoggiando sia il contenitore che il coperchio (rivolto all'insù) su una superficie piana;
- tenendo represso il glande raccogliere direttamente nel recipiente sterile la prima parte delle urine emesse, in quantità non superiore a 2 cm;
- chiudere immediatamente il contenitore, avvitando con cura il tappo ed evitando di toccare l'interno.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Il campione deve pervenire in laboratorio entro 2 ore dalla raccolta o conservare a temperatura di frigorifero (4-8 °C) fino ad un massimo di 48 ore

TEST DI MEARES-STAMEY

INDICAZIONI ALL'ESAME

Il test di Meares-Stamey è in grado di definire, tramite una raccolta frazionata, la localizzazione prostatica di una infezione della sfera genitale maschile.

L'esecuzione del test è assolutamente controindicata in corso di prostatiti acute, ma è indicato nelle prostatiti batteriche sub-acute o croniche e per discriminare in modo più efficace la presenza di eventuali colonizzanti uretrali.

MODALITA' DI RACCOLTA

Il prelievo viene effettuato dopo almeno 3 ore di ritenzione urinaria, il paziente deve avere la vescica piena, non deve aver eiaculato da due giorni e non essere in terapia antibiotica da un mese;

Non devono essere presenti segni di prostatite acuta né di sospetta patologia neoplastica;

Preparare 4 contenitori sterili con tappo rosso a vite e contrassegnavarli come VB1, VB2, EPS e VB3

1. Far raccogliere i primi 10 ml di urina (VB1) e successivamente altri 10 ml di urina (VB2) in contenitori separati ed opportunamente contrassegnati;
2. Eseguire un prolungato massaggio ad entrambi i lobi della ghiandola;
3. Raccogliere la secrezione prostatica cercando di favorirne la fuoriuscita dal meato uretrale premendo dalla base del pene fino al glande (EPS);
4. Raccogliere subito dopo 10 ml di urina (VB3) dicendo al paziente di svuotare successivamente la vescica.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Il campione deve pervenire in laboratorio entro 2 ore dalla raccolta o conservare a temperatura di frigorifero (4-8 °C) fino ad un massimo di 48 ore

RICERCHE PARASSITI

Anche se sempre più rare nel nostro Paese, le parassitosi devono sempre essere considerate in specifici gruppi di popolazione o a fronte di quadri clinici particolari:

- soggetti originari di paesi in via di sviluppo (immigrazione, adozioni internazionali);
- soggetti di ritorno da viaggi (per turismo, lavoro) in paesi in via di sviluppo.

Il rischio è maggiore se:

- I soggetti non hanno effettuato profilassi adeguate (malaria) o non hanno adottato le necessarie misure di igiene alimentare;
- Hanno avuto contatti stretti con individui affetti da parassitosi trasmissibili per via orofecale o da ectoparassiti (es. scabbia, pediculosi);
- sono soggetti immunodepressi per patologia o terapia;
- sono soggetti con sintomi quali malassorbimento, dimagrimento, eosinofilia, senza altra causa riconoscibile.

La finalità delle indagini è quella di ricercare, in modo rapido ed accurato, gli agenti responsabili di infezioni sostenute da Parassiti, mediante metodiche di diagnosi diretta:

- ⇒ esame macroscopico (ricerca elminti)
- ⇒ esame microscopico, per ricerca di parassiti
- ⇒ colturale.

Per garantire la significatività dei risultati, il laboratorio deve potere disporre di campioni che contengano i microorganismi responsabili. I campioni da esaminare devono, pertanto, essere prelevati e conservati seguendo scrupolosamente i criteri indicati nelle singole schede.

Per le ricerche anticorpi vedi il capitolo Ricerche Sieroimmunologiche

RICERCA PARASSITI EMATICI

INDICAZIONI ALL'ESAME:

La ricerca malaria con emoscopia diretta (**goccia spessa e striscio sottile**) è il "golden standard" per la diagnosi della malaria. La goccia spessa permette di concentrare i parassiti, lo striscio sottile di stabilirne la specie. Vengono inoltre eseguiti la biologia molecolare per *Plasmodium* spp e, in caso di positività, la ricerca degli antigeni che permette di distinguere il *P.falciparum* dalle altre specie.

La goccia spessa e lo striscio, comunemente utilizzati per la diagnosi microscopica della malaria, sono ugualmente utili per la diagnosi di tripanosomiasi e la ricerca delle microfilarie.

Data la periodicità e la bassa carica parassitaria solitamente presente (ad esclusione dei rari casi di infezione da *T. b. rhodesiense*), è necessario esaminare numerose emoscopie in diversi momenti (sensibilità > 2.000 parassiti/ml). Il personale addetto alla manipolazione dei campioni deve adottare le adeguate misure di prevenzione per evitare il rischio di infettarsi, poiché i tripomastigoti sono estremamente infettivi.

Per la ricerca delle microfilarie, ad eccezione della varietà *pacifica* di *W. bancrofti*, il prelievo sanguigno deve essere fatto preferenzialmente di notte, tra le 22 e le 24, a causa della periodicità notturna delle microfilarie.

MODALITA' PER LA RACCOLTA



1



2 - 3

1. Indossare i guanti. Il prelievo di sangue periferico deve essere eseguito prima della somministrazione di farmaci e preferibilmente durante l'accesso febbrile
2. Prelevare il sangue in una provetta con K2EDTA da emocromo
3. Agitare dolcemente per inversione (8-10 volte) dopo il prelievo

Ricerca delle microfilarie con biopsia cutanea

- Contattare il laboratorio ed accordarsi con un dirigente dell' U.O. Microbiologia e Virologia sui tempi di esecuzione del prelievo
- Usando uno strumento adatto per biopsia cutanea si prelevano in modo incruento tre piccoli campioni di pelle dal diametro di 2 - 3 mm .
- Trasferire ognuno su un vetrino porta-oggetti coprendolo con una goccia di soluzione fisiologica e senza schiacciare con un vetrino copri-oggetto.
- Dopo 3 - 10 - 30 minuti si ricercano al microscopio, a 20 o più ingrandimenti le microfilarie che fuoriescono dal lembo di pelle.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Contattare il Laboratorio e il Dirigente reperibile per la consegna del campione e inviare nel più breve tempo possibile non oltre le 2 ore dal prelievo.

RICERCA PARASSITI INTESTINALI

INDICAZIONI ALL'ESAME

L'esame parassitologico delle feci, per ricerca parassiti e loro uova, viene effettuato su campione di feci appena emesse o conservate in apposito liquido conservante, mediante esame microscopico diretto e/o dopo colorazione e/o attraverso l'esame colturale.

Per un corretto esame parassitologico si consiglia la ricerca su almeno tre 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, di presenza di verme adulto nelle feci, disturbi addominali *sine causa*;
- protozoi in pazienti sintomatici (diarrea acquosa e/o disturbi cronici dell'alvo);

Su richiesta specifica si procede alla ricerca di *Enterobius vermicularis*, che richiede specifiche modalità di prelievo (Scotch-tape test).

E' opportuno informare il laboratorio sul sospetto diagnostico, la sintomatologia e l'eventuale soggiorno in paesi in via di sviluppo compilando l'apposito modello di accompagnamento all'esame

MODALITA' PER LA RACCOLTA

- Prelevare i campioni almeno una settimana dopo la somministrazione di antibiotici o disinfettanti intestinali; non ricorrere a purganti, specialmente se a base di oli
- Raccogliere le feci direttamente durante la defecazione in un contenitore pulito a tappo largo e chiusura ermetica; in alternativa, defecare su una "padella" o su una superficie pulita e raccogliere una piccola quantità col tappo-cucchiaino del contenitore, evitare la contaminazione con urine. La quantità di campione deve essere almeno pari al volume di una nocciola (quantità minime di materiale fecale non potranno essere lavorate); per feci liquide è sufficiente un volume di 2-3 ml

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

- Inviare rapidamente il campione (entro 1 ora dalla raccolta) o conservare a 4 °C per massimo 48 ore.

Segnalare sempre se il paziente è reduce da un soggiorno all'estero
Ripetere l'invio delle feci in giorni diversi per un totale di 3 campioni
N.B.: i campioni che contengono oli minerali, bismuto, antibiotici, antiprotozoari, sostanze di contrasto, etc. non sono mai adeguati per la ricerca di parassiti

Ricerche DNA protozoiario (Giardia intestinalis, Cryptosporidium sp., Entamoeba histolytica, Dientamoeba fragilis)

- Raccogliere le feci come per l'esame parassitologico. L'esame si effettua esclusivamente su feci fresche appena emesse.
- L'esame deve essere specificatamente richiesto

Attenzione: il test non sostituisce l'esame parassitologico, ma costituisce una ricerca mirata delle parassitosi intestinali indicate

SCOTCH -TAPE TEST

ricerca Enterobius vermicularis (ossiuri)

Per tale esame occorre un vetrino portaoggetti (fornito dal laboratorio) e dello scotch trasparente

MODALITA' PER LA RACCOLTA

- Indossare i guanti
- Disporre un pezzo di nastro adesivo trasparente (4-5 cm) su un abbassalingua, con la parte adesiva all'esterno, tenendo le due estremità tra pollice e indice;
- Appoggiare l'abbassalingua con lo scotch alle pliche anali e far aderire il nastro adesivo per raccogliere le eventuali uova di ossiuri presenti;
- Rimuovere il nastro adesivo e porlo su un vetrino portaoggetti, facendolo aderire ed evitando di creare pieghe.
- Togliere i guanti e lavarsi accuratamente le mani

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

I tempi di conservazione non sono critici, il campione può essere conservato a temperatura ambiente al riparo dalla polvere

ASPIRATO DUODENALE

INDICAZIONI ALL'ESAME

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

- *Strongyloides stercoralis*
- *Giardia intestinalis*
- *Criptosporidium sp.*

La ricerca è sempre mirata e su richiesta specifica.

MODALITA' PER LA RACCOLTA

Effettuare il prelievo a digiuno.

Il campione può essere raccolto:

- con aspirato duodenale, immettendo parte dell'aspirato nel contenitore sterile, senza additivi, contenitore tappo rosso a bocca larga;
- con Enterotest, applicando alla guancia con un cerotto l'estremità libera del filo e facendo inghiottire al paziente l'ovulo di gelatina; dopo 4 ore si procede al recupero del filo che va immerso in un contenitore sterile a bocca larga

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Inviare tempestivamente, entro quindici minuti dalla raccolta, il materiale in laboratorio conservandolo a temperatura ambiente. Ove non fosse possibile contattare il laboratorio.

URINE

INDICAZIONI ALL'ESAME

I campioni urinari vengono analizzati, dietro specifica richiesta, per la ricerca di uova di *Schistosoma haematobium*, in soggetti sintomatici (febricola e/o ematuria e/o proteinuria) provenienti da zone in cui la schistosomiasi è endemica.

MODALITA' PER LA RACCOLTA

- i campioni urinari debbono essere prelevati almeno tre ore dopo l'ultima minzione;
- il paziente deve effettuare, prima di urinare, almeno dieci flessioni sulle gambe;
- Raccogliere nello stesso contenitore (sterile a bocca larga, tappo rosso) le prime urine emesse (pochi cc), parte del mitto intermedio (pochi cc) e le ultime urine emesse (pochi cc).

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Inviare tempestivamente, entro quindici minuti dalla raccolta, il materiale in laboratorio conservandolo a temperatura ambiente. Ove non fosse possibile contattare il laboratorio.

CAMPIONI OCULARI

INDICAZIONI ALL'ESAME

Acanthamoeba spp. possono provocare forme di cheratite, solitamente non associate ad interessamento del SNC. La casistica ha avuto un notevole incremento con l'utilizzo generalizzato delle lenti a contatto (LAC). Il paziente inizia ad accusare fotofobia, dolore e calo del "visus" che si accentuano con il trascorrere dei giorni; solitamente è associata una seria infezione congiuntivale. La mancata o errata diagnosi porta, nel corso di qualche settimana o al massimo di qualche mese, ad un grave interessamento corneale, che sfocia inevitabilmente nella perforazione e, nei casi più seri, può esitare nell'enucleazione del bulbo oculare. Il fatto che il quadro clinico obiettivo sia molto simile alle cheratiti erpetiche è la causa prima del progressivo aggravamento, così come di una parziale sottostima di questa patologia.

MODALITA' PER LA RACCOLTA

Le Acanthamebe, in forma vegetativa e cistica, possono essere ricercate microscopicamente sia su materiale ottenuto da "scraping" che da biopsia corneale, colorati con Giemsa o PAS o fluorocromi (Calcofluor white). Parte dello stesso materiale potrà essere utilizzato per tentare l'isolamento in vitro su terreni agarizzati.

- Il prelievo può essere eseguito alla lampada a fessura, mediante spatola di Kimura o Crescent Knife, toccando e raschiando la lesione, prelevando l'epitelio e/o il tessuto in disfacimento lungo i bordi della lesione;
- scaricare il materiale prelevato sul vetrino pulito e sgrassato e/o sul terreno agarizzato da richiedere in laboratorio. In caso di lesioni profonde effettuare anche un prelievo di stroma mediante biopsia.

E' opportuno inviare anche le LAC ed il loro liquido di conservazione. L'esame parassitologico dovrebbe essere sempre associati alla ricerca di batteri, virus e miceti.

NB: Nella fase iniziale dell'infezione, quando la capsula di Bowman non è ancora stata superata, il prelievo ha anche un valore terapeutico, in quanto viene rimosso il parassita, per cui conviene sempre asportare un'ampia zona di epitelio allo scopo di eliminare tutte le cellule infettate.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Inviare in laboratorio il vetrino, appena asciutto, conservandolo al riparo dalla polvere e le piastre di terreno agarizzato ben chiuse con nastro adesivo lungo il bordo. Entrambi i materiali possono essere conservati a temperatura ambiente per alcuni giorni.

IMPORTANTE: Contattare, prima di programmare i prelievi, il laboratorio di Microbiologia per l'allestimento dei materiali necessari (terreni e vetrini) per i quali potrebbero essere necessari alcuni giorni.

RICERCA MICOBATTERI

La finalità delle indagini è quella di ricercare, in modo rapido ed accurato, gli agenti responsabili di infezioni sostenute da micobatteri, mediante metodiche:

- di diagnosi diretta:
- esame microscopico, per ricerca di bacilli acido alcool resistenti (il loro riscontro è suggestivo di infezione da micobatteri, soprattutto in presenza di quadri clinici che orientano al sospetto di infezione da micobatteri);
- per ricerca del genoma micobatterico con tecniche di amplificazione del DNA (PCR);
- colturale che consente l'identificazione di specie e l'esecuzione dei test di sensibilità.

Per garantire la significatività dei risultati, il microbiologo deve potere disporre di materiali (provenienti dalla sede del processo patologico) che contengano i microorganismi responsabili dell'infezione.

I campioni da esaminare devono, pertanto, essere prelevati seguendo scrupolosamente i criteri già indicati per le indagini batteriologiche e micologiche, pur tenendo presente che, essendo le ricerche mirate, non sussistono in questi casi i problemi interpretativi tipici delle indagini batteriologiche.

Sui campioni positivi all'esame batterioscopico diretto per bacilli alcool-acido resistenti viene proposta (dall'U.O. Microbiologia e Virologia) l'esecuzione della ricerca del DNA dei micobatteri del *Mycobacterium tuberculosis complex*, con metodiche di biologia molecolare. Tale ricerca è possibile anche su richiesta specifica.

SANGUE

INDICAZIONI ALL'ESAME

L'emocoltura per micobatteri trova indicazione nei soggetti immunocompromessi, in particolare in quelli affetti da AIDS, per la diagnosi microbiologica delle micobatteriosi disseminate.

MODALITA' PER LA RACCOLTA

- E' consigliabile procedere all'esecuzione di tre emocolture, effettuando i tre prelievi a distanza di trenta minuti l'uno dall'altro.
- Per la modalità di prelievo, seguire il protocollo descritto per emocolture da germi comuni e miceti utilizzando l'apposito flacone Bactec MYCO/F-Lytic (da richiedere, al bisogno, al Laboratorio)

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Il campione deve pervenire in laboratorio entro un' ora dalla raccolta. In caso di impossibilità conservare a temperatura ambiente per un massimo di 48 ore

SECREZIONI RESPIRATORIE

INDICAZIONI ALL'ESAME

La ricerca di micobatteri si può effettuare su tutti i campioni di secrezioni respiratorie, comunque raccolti.

L'indagine consiste nell'esame microscopico (ricerca di bacilli alcool-acido resistenti), nell'esame colturale. Si procede alla esecuzione dei test di sensibilità nel caso di isolamento di *Mycobacterium tuberculosis complex*. Se richiesto dall' U.O. di ricovero, il laboratorio può procedere al test di rilevazione del DNA dei micobatteri del *Mycobacterium tuberculosis complex* con metodiche di biologia molecolare. Tale test è effettuato su iniziativa diretta del laboratorio, nel caso di esame microscopico diretto positivo per bacilli alcool-acido resistenti.

MODALITA' PER LA RACCOLTA

- valgono le indicazioni segnalate per la raccolta di secrezioni respiratorie per indagini di Batteriologia/Micologia.
- Se espettorato, raccogliere campioni in tre giorni diversi

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Eeguire la raccolta solo durante gli orari di apertura del laboratorio. In caso di assoluta impossibilità a consegnare i campioni in laboratorio entro due ore dalla raccolta conservare in frigorifero 4-8 °C per un massimo di 48 ore.

URINE

INDICAZIONI ALL'ESAME

L'indagine consiste nell'esame microscopico (ricerca di bacilli alcool-acido resistenti), nell'esame colturale. Si procede alla esecuzione dei test di sensibilità nel caso di isolamento di *Mycobacterium tuberculosis complex*. Se richiesto dall'U.O. di ricovero, il laboratorio può procedere al test di rilevazione del DNA dei micobatteri del *Mycobacterium tuberculosis complex* con metodiche di biologia molecolare. Tale test è effettuato su iniziativa diretta del laboratorio, nel caso di esame microscopico diretto positivo per bacilli alcool-acido resistenti.

MODALITA' PER LA RACCOLTA

- Raccogliere un campione della prima minzione al mattino in tre giorni diversi; prelevare almeno 40 ml di urine;
- valgono le indicazioni segnalate per la raccolta delle urine da per esami batteriologici

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

- Accertarsi che il contenitore sia ermeticamente chiuso in modo che l'urina non fuoriesca durante il trasporto;
- Inviare il materiale al laboratorio entro 1 h dalla raccolta, conservandolo a temperatura ambiente;
- In alternativa conservare le urine in frigorifero + 4° C (non in congelatore!) per un massimo di 48 h.

ALTRI MATERIALI

1. **Aspirato gastrico** del primo mattino: 5 -10 ml, in contenitore sterile, per tre giorni consecutivi (utile nel bambino e in caso di mancata o scarsa espettorazione);
2. **liquor cefalorachidiano** (i micobatteri sono responsabili di meningiti a liquor limpido): raccogliere il campione in un contenitore sterile;
3. **liquido pleurico** (in caso di versamento concomitante a localizzazione polmonare dell'infezione): 5 - 10 ml in contenitore sterile, aggiungere alcune gocce di citrato di sodio all' 1,8% sterile
4. **raccolte purulente**: prelevare il materiale con una siringa sterile e trasferirlo in un contenitore sterile;
5. **linfonodi e frammenti bioptici**: porre il materiale in un contenitore sterile con tappo a vite aggiungendo soluzione fisiologica sterile tanto da ricoprire il materiale; non sono idonei campioni raccolti in formalina, alcool o altri fissativi;
6. **feci**: raccogliere almeno 1 g di materiale fecale in un contenitore sterile con tappo a vite per tre giorni consecutivi;
7. **aspirato midollare**: trasferire il materiale raccolto con una siringa sterile in un flacone Bactec MYCO/F-Lytic (da richiedere al bisogno al laboratorio di Microbiologia)

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

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

- Accertarsi che i contenitore siano ermeticamente chiusi in modo che il campione non fuoriesca durante il trasporto;
- Inviare il materiale al laboratorio entro 1 h dalla raccolta, conservandolo a temperatura ambiente;
- In alternativa conservare i campioni in frigorifero + 4° C per un massimo di 48 h.

Materiale	Quantità	Istruzioni	Campioni non idonei
Aspirato gastrico	>5/10 mL raccolto al mattino dopo almeno 8 ore di digiuno	Neutralizzare con carbonato di sodio entro 1 ora dal prelievo	Non neutralizzati
Broncoaspirato, BAL	> 3 ml		
Espettorato	5-10 mL raccolto al mattino in 3 giorni consecutivi	Istruire il paziente su come espettorare correttamente	Saliva, pool di escreti
Espettorato indotto	5-10 mL raccolto al mattino in 3 giorni consecutivi	Specificare che si tratta di espettorato indotto	Non etichettati come "espettorato indotto"
Feci	> 1 grammo	Per la diagnosi di TBC intestinale ricorrere al prelievo biotico	Campioni congelati o tamponi rettali
Liquor	> 2 mL		
Liquidi cavitari	Almeno 5-10 mL in provetta sterile con anticoagulante	Per la diagnosi di pleurite tubercolare più indicata biopsia pleurica	
Linfonodo	Linfonodo o porzione di esso in contenitore sterile	Aggiungere una piccola quantità di fisiologica	Campioni in formalina o con altri fissativi, o inclusi in paraffina
Materiale da lesioni cutanee	La massima possibile	Prelevare con siringa o tampone e stemperare in fisiologica sterile	Tamponi con terreno di trasporto
Materiali necrotico-ascessuali	La massima possibile	Prelevare con siringa o tampone e stemperare in fisiologica sterile	Tamponi con terreno di trasporto
Prelievi biotici	>1 g di tessuto in contenitore sterile	Aggiungere piccola quantità di fisiologica sterile	Campioni in formalina o altri fissativi
Aspirato midollare	Max possibile in Isolator o Myco-Lytic		Coagulato o in provetta con EDTA
Sangue periferico	5-10 mL in flacone Myco-Lytic	3 campioni a distanza di 30 minuti uno dall'altro	Sangue coagulato, o in provetta con EDTA
Sangue mestruale	Alcuni mL raccolti al 2°-3° giorno di flusso in provetta con eparina		Sangue coagulato
Urina	La prima urina del mattino (almeno 50 mL)	3 campioni in giorni consecutivi	Urina delle 24 ore, urine da sacca

RICERCHE VIRALI E MOLECOLARI

Le indagini virologiche sono indirizzate alla ricerca di virus attraverso la ricerca di antigeni virali o del genoma (molecolari). La diagnosi di infezione virale è possibile anche con la ricerca di anticorpi specifici con metodi immunologici (vedi Esami sierologici)

Il laboratorio di Microbiologia effettua direttamente alcune indagini virali (ricerca antigeni):

- Ricerca virus pneumotropi su aspirato naso-faringeo in Immunofluorescenza (Virus respiratorio sinciziale, Adenovirus, Virus influenza A-B, Virus parainfluenzali)

Ricerche molecolari:

- HCV
- Genotipo HCV
- HBV
- HIV
- Virus Herpes simplex 1 e 2
- Virus Varicella-zoster
- Cytomegalovirus
- Enterovirus
- BKVirus
- JCVirus
- Epstein Barr Virus
- Human Herpes Virus 6 e 8
- Parvovirus B19
- Toxoplasma
- Pneumocystis jiroveci
- Aspergillus spp.
- Ricerca *Mycobacterium tuberculosis*
- Ricerca *Clostridium difficile* (con rilevazione dei genotipi ad alta virulenza)
- Ricerca virus enterotropi su feci (Adenovirus, Rotavirus, Norovirus, Astrovirus)
- Ricerca protozoi intestinali (Giardia, Cryptococcus, E. histolytica, Dientamoeba fragilis)
- Ricerca agenti di Infezione a Trasmissione Sessuale (*Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Trichomonas vaginalis*)

Altre indagini molecolari eseguite sono:

- Genotipizzazione Micobatteri non tubercolari
- Genotipi di resistenza di *Mycobacterium tuberculosis*
- Ricerca batteri causa di meningite (*S.pneumoniae*, *N. meningitidis*, *H.influenzae*, *E.coli*, *Listeria sp.*, *Streptococcus beta emolitico gr. B*)
- Ricerca virus causa di meningo-encefalite (Enterovirus, HSV1/2, VZV, EBV, CMV, HHV6 e 8, Parechovirus, Adenovirus e Parvovirus B19)
- Virus influenza A, 2009-H1N1v (influenza suina) e Ricerca altri virus pneumotropi in caso di polmonite severa

Il laboratorio di Microbiologia provvede all'esecuzione presso altri laboratori esterni all' APSS di:

- HHV-8 quantitativo
- HTLV 1 - 2
- Borrelia sp.
- West Nile Virus
- Chikungunia Virus

VIRUS PNEUMOTROPI SU SECREZIONI RESPIRATORE

INDICAZIONI ALL'ESAME

La ricerca di antigeni virali su aspirato naso-faringeo consente l'accertamento rapido di infezioni virali sostenute da:

- Virus Respiratorio Sinciziale (RSV), responsabile di bronchioliti nei neonati e nei bambini nel primo anno di vita;
- Virus Influenzale A e B, Adenovirus e Virus parainfluenzae 1,2,3, responsabili di infezioni acute delle alte e basse vie respiratorie con quadri sintomatologici influenzali;
- Ricerca specifica di Virus Influenza 2009-H1N1v (variante suina) e virus pneumotropi con test molecolare solo per pazienti ricoverati con polmonite di grado severo

MODALITA' PER LA RACCOLTA

La ricerca può essere eseguita su tutte le secrezioni respiratorie ma sono consigliati:

- **Secreto naso-faringeo** ottenuto per mezzo di **tampone** (vedi capitolo Secrezioni alte vie respiratorie) e **aspirato naso-faringeo**:
 - inserire un tubicino per aspirazione nel naso-faringe;
 - applicare l'aspirazione;
 - immettere 2-3 ml di fisiologica attraverso il tubicino;
 - riaspirare e trasferire il campione in un contenitore sterile (almeno 0,5 mL di secrezioni naso-faringee).
- **Gargarizzato** (vedi capitolo Secrezioni alte vie respiratorie)

Per la ricerca specifica del **virus influenzale 2009-H1N1v** e dei **virus pneumotropi cn test molecolare** effettuare il prelievo con un tampone contenente terreno di trasporto UTM (Copan Diagnostics) da richiedere in laboratorio.



Provetta UTM contenente soluzione di Hanks bilanciata per la ricerca virus

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Conservare a temperatura ambiente ed inviare in laboratorio entro 2 h. Se ciò non possibile conservare il prelievo a temperatura di frigorifero (4-8 ° C) fino a 24 h max.

VIRUS ENTEROTROPI SU FECI

INDICAZIONI ALL'ESAME

La ricerca di antigeni virali su aspirato naso-faringeo consente l'accertamento rapido di infezioni virali sostenute da:

- **Rotavirus e Adenovirus:** sono la più frequente causa di diarrea nei bambini in età prescolare. Inducono una gastroenterite acuta febbrile con diarrea, dolori addominali e vomito, che è un importante veicolo di trasmissione, talvolta possono essere presenti anche sintomi respiratori.
- **Norovirus:** sono causa di una diarrea con febbre modica, diarrea acquosa, vomito intenso, spesso a getto, malessere, anoressia, cefalea, mialgie e dolori addominali; si presentano frequentemente in forma epidemica.
- **Astrovirus:** causa, in genere, di forme lievi con diarrea, vomito e dolori addominali.

MODALITA' PER LA RACCOLTA

Per le modalità di prelievo fare riferimento alla raccolta feci per esami batteriologici.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Conservare in frigorifero a 4 °C ed inviare in laboratorio entro 24 ore dalla raccolta

RICERCA ACIDI NUCLEICI MYCOBACTERIUM TUBER-CULOSIS COMPLEX

INDICAZIONI ALL'ESAME

La finalità delle indagini è quella di ricercare, in modo rapido ed accurato, gli agenti responsabili di infezioni sostenute da *Mycobacterium tuberculosis complex*, mediante ricerca del genoma micobatterico con tecniche di amplificazione del DNA (PCR);

Sui campioni positivi all'esame batterioscopico diretto per bacilli alcool-acido resistenti viene proposta (dall'U.O. Microbiologia e Virologia) l'esecuzione della ricerca del DNA dei micobatteri del *Mycobacterium tuberculosis complex*, con metodiche di biologia molecolare. Tale ricerca, possibile anche su richiesta

Specificata, è spesso effettuata direttamente dal laboratorio nei casi di positività all'esame microscopico e/o colturale.

In alcuni casi, sempre su iniziativa diretta del laboratorio, sono effettuate anche ricerche molecolari per la genotipizzazione dei micobatteri non tubercolari e per rilevare la presenza di geni di resistenza a rifampicina e isoniazide

MODALITA' PER LA RACCOLTA

Per le modalità di prelievo fare riferimento alle indicazioni specifiche per i singoli campioni biologici per la ricerca colturale e microscopica dei micobatteri e per esami batteriologici.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Per le modalità di trasporto e conservazione fare riferimento alle indicazioni specifiche per i singoli campioni biologici per la ricerca colturale e microscopica dei micobatteri e per esami batteriologici.

RICERCA ACIDI NUCLEICI CHLAMYDOPHILA TRACHOMATIS / NEISSERIA GO- NORRHOEAE / MICOPLASMI UROGENITALI / TRICHO- MAS VAGINALIS

INDICAZIONI ALL'ESAME

Le ricerche sono indicate per

- la diagnosi eziologica di **cervicite / uretrite**
- la diagnosi eziologica di **malattia infiammatoria pelvica (PID)**
- lo studio di **infertilità**

MODALITA' PER LA RACCOLTA

Per le modalità di prelievo fare riferimento alle indicazioni specifiche per i singoli campioni biologici per esami batteriologici.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Per le modalità di trasporto e conservazione fare riferimento alle indicazioni specifiche per i singoli campioni biologici per esami batteriologici.



Provetta sterile **E NAT** con tampone floccato misura regular o mini, tappo azzurro, per **prelievi uretrali per Chlamydia, Micoplasm**, **utilizzabile per tutti i test molecolari** - Richiedere in U.O. Microbiologia e Virologia

RICERCA ACIDI NUCLEICI IN MENINGITI BATTERICHE:

INDICAZIONI ALL'ESAME

Tali indagini sul liquor cefalorachidiano sono eseguite, su iniziativa del laboratorio, per confermare il **sospetto clinico di meningite** (a liquor torbido) ed identificare l'agente eziologico nei casi in cui vi sia un franco sospetto di meningite con esame colturale negativo ed esame microscopico che evidenzi la presenza di leucociti con o senza l'evidenza di microrganismi.

MODALITA' PER LA RACCOLTA

Per le modalità di prelievo fare riferimento alla raccolta liquor per esami batteriologici.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Per le modalità di trasporto e conservazione fare riferimento alla raccolta liquor per esami batteriologici.

RICERCA ACIDI NUCLEICI IN MENINGOENCEFALITI VIRALI:

INDICAZIONI ALL'ESAME

Tali indagini sul liquor cefalorachidiano sono eseguite, su richiesta specifica o su iniziativa del laboratorio, per confermare il **sospetto clinico di meningoencefalite** (a liquor limpido) ed identificare l'agente virale nei casi in cui vi sia un franco sospetto di meningoencefalite .

MODALITA' PER LA RACCOLTA

Per le modalità di prelievo fare riferimento alla raccolta liquor per esami batteriologici.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Per le modalità di trasporto e conservazione fare riferimento alla raccolta liquor per esami batteriologici.

RICERCA ACIDI NUCLEICI INFEZIONI VIRALI:

INDICAZIONI ALL'ESAME

Tali indagini sono indirizzate alla ricerca di virus attraverso la ricerca del genoma virale. Il laboratorio di Microbiologia effettua direttamente alcune indagini virali:

Ricerche molecolari:

- **HCV**
- **Genotipo HCV**
- **HBV**
- **HIV**
- **Virus Herpes simplex 1 e 2**
- **Virus Varicella-zoster**
- **Cytomegalovirus**
- **Enterovirus**
- **BKVirus**
- **JCVirus**
- **Epstein Barr Virus**
- **Human Herpes Virus 6 e 8**
- **Parvovirus B19**
- **Toxoplasma**

MODALITA' PER LA RACCOLTA

Per le modalità di prelievo fare riferimento alla raccolta dei campioni biologici specifici per esami batteriologici.

Per le ricerche su sangue la provetta da utilizzare è tappo perla 13x100 da 5mL con K₂EDTA e gel separatore, dopo il prelievo agitare dolcemente per inversione (8-10 volte)

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Per le modalità di trasporto e conservazione fare riferimento alle indicazioni riportati relativamente alla raccolta degli specifici materiali. In generale la conservazione per le ricerche di virus a RNA non deve essere superiore a 4 ore a temperatura di frigorifero (+4 °C). Le provette di sangue vanno inviate in laboratorio nel più breve tempo possibile o conservata a temperatura di frigorifero (+4 °C) per un massimo di 4 ore.

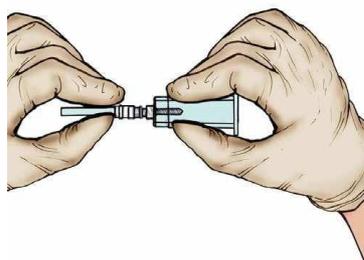
Per ogni altra ricerca virale contattare il laboratorio di Microbiologia

**RICERCHE
SIEROIMMUNOLOGICHE**

Le indagini sierologiche sono mirate alla evidenziazione di antigeni o anticorpi. In particolare, esse sono rivolte alla diagnosi di:

- infezioni batteriche
- infezioni fungine
- infezioni parassitarie
- infezioni virali
- proteine infiammatorie
- autoimmunità

L'elenco delle indagini è riportato nella tabella riassuntiva finale del presente manuale



INDICAZIONI GENERALI PER L'ESECUZIONE DEL PRELIEVO VENOSO

PREPARAZIONE DEL PAZIENTE

1. osservare un digiuno 8-12 ore prima del prelievo
2. evitare di sostenere sforzi fisici nelle 12 ore prima del prelievo
3. non fumare nel periodo di tempo intercorrente tra il risveglio e l'effettuazione del prelievo
4. non assumere alcool nelle 12 ore precedenti il prelievo.

MODALITA' DI PRELIEVO

- individuare il sito di prelievo;
- lavare accuratamente le mani e indossare i guanti non sterili;
- disinfettare la cute lasciando, in sede di prelievo, un impacco antisettico per almeno un minuto;
- introdurre l'ago in vena, senza toccare con le dita la cute disinfettata;
- collegare al set di prelievo l'apposita provetta;
- prelevare la quantità di sangue prevista per la specifica provetta;

vetta

- estrarre l' ago dalla vena;
- rimuovere i guanti e gettarli nel contenitore per rifiuti speciali.

TRASPORTO E CONSERVAZIONE

I campioni di sangue devono essere raccolti in provette tipo vacutainer senza anticoagulante, inviate in laboratorio a temperatura ambiente (per evitare l'emolisi).

Indagini sierologiche possono essere effettuate su liquidi biologici diversi dal siero:

- liquor cefalorachidiano (Sierologia per lue e TBE, Ricerca antigene criptococcico)
- BAL (Dosaggio Galattomannano e β -D-Glucano)
- urine (Antigene di Legionella e Pneumococco)

Per le modalità di prelievo, conservazione e trasporto fare riferimento ai paragrafi specifici riportati nella sezione Ricerca batteri e miceti

Descrizione	Contenitore	Campione	Q. min. (mL)
-------------	-------------	----------	--------------

Adenovirus nelle feci	Contenitore feci	feci	
Ameba nelle feci	Contenitore feci	feci	
Anticorpi anti Adenovirus IgG	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Adenovirus IgM	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Ameba	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Aspergillus	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Bartonella IgG	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Bartonella IgM	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Bordetella pertussis IgA	T. Ruggine piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Bordetella pertussis IgG	T. Ruggine piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Borrelia IgG	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti Borrelia IgG - test di conferma	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti Borrelia IgM	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti Borrelia IgM - test di conferma	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti cellule parietali gastriche	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Chlamydia pneumoniae IgG	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Chlamydia pneumoniae IgM	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Chlamydia psittaci IgG	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Chlamydia psittaci IgM	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Chlamydia trachomatis IgG	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Chlamydia trachomatis IgM	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Citomegalovirus IgG	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti Citomegalovirus IgG - determinazione avidità	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti Citomegalovirus IgM	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti Citomegalovirus IgM - test di conferma	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti citoplasma neutrofili	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti citrullina	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Coxiella burneti	T. Rosso piccola	sangue venoso	3

Descrizione	Contenitore	Campione	Q. min. (mL)
-------------	-------------	----------	--------------

Anticorpi anti DNA nativo in ANA positività	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti DNA nativo quantitativa	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Echinococco	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti endomisio	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Enterovirus	T. Ruggine piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Herpes symplex 1-2 IgG	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti Herpes symplex 1-2 IgM	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti Herpes zooster IgG (Varicella)	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti Herpes zooster IgM (Varicella)	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti Legionella pneumoniae	T. Ruggine piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Leishmania	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Leptospira	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti membrana glomerulare basale	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti microsomi epatici e renali	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti mieloperossidasi	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti mitocondri	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti muscolo liscio	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Mycoplasma pneumoniae	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti nucleo	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Parvovirus B19 IgG	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti Parvovirus B19 IgM	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti Plasmodium falciparum	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Proteinasi 3	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti reticolina R1-3	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Rickettsia conori	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Rickettsia mooseri	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Saccharomyces cerevisiae IgA	T. Rosso piccola	sangue venoso	3

Descrizione	Contenitore	Campione	Q. min. (mL)
-------------	-------------	----------	--------------

Anticorpi anti Saccharomyces cerevisiae IgG	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Salm. typhi, paratyphi e Brucella mel. (Widal Wright)	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti spermatozoi su liquido seminale	Contenitore sterile	liquido seminale	
Anticorpi anti tossina tetanica	T. Ruggine piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Toxoplasma IgG	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti Toxoplasma IgG - determinazione avidità	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti Toxoplasma IgG - test di conferma	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti Toxoplasma IgM	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti Toxoplasma IgM - test di conferma	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti transglutaminasi IgA	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti transglutaminasi IgG	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti Treponema pallidum (IgG e IgM)	T. arancio alta	sangue venoso	5
Anticorpi anti Treponema pallidum (LUE)	T. arancio alta	sangue venoso	5
Anticorpi anti Treponema pallidum (RPR)	T. arancio alta	sangue venoso	5
Anticorpi anti virus Coxsackie A IgM	T. Ruggine piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti virus Coxsackie B IgM	T. Ruggine piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti virus del Morbillo IgG	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti virus del Morbillo IgM	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti virus della Parotite IgG	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti virus della Parotite IgM	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti virus Delta IgM	T. Rosso piccola	sangue venoso	5
Anticorpi anti virus Delta totali	T. Rosso piccola	sangue venoso	5
Anticorpi anti virus Epstein Barr IgG	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti virus Epstein Barr IgG (EA)	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti virus Epstein Barr IgG (EBNA)	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti virus Epstein Barr IgM	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti virus Influenza A IgG	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti virus Influenza A IgM	T. Rosso piccola	sangue venoso	3

Descrizione	Contenitore	Campione	Q. min. (mL)
Anticorpi anti virus Influenza B IgG	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti virus Influenza B IgM	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti virus Respiratorio sinciziale IgG	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti virus Respiratorio sinciziale IgM	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi anti virus Rosolia IgG	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti virus Rosolia IgG - determinazione avidità	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti virus Rosolia IgM	T. arancio alta	sangue venoso	3
Anticorpi anti virus TBE IgG	T. Rosso piccola	sangue venoso, liquor	3
Anticorpi anti virus TBE IgM	T. Rosso piccola	sangue venoso, liquor	3
Anticorpi singoli anti antigeni nucleari estraibili	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Anticorpi totali anti antigeni nucleari estraibili	T. Rosso piccola	sangue venoso	3
Antigene Aspergillus	T. Rosso piccola Senza gel	sangue venoso	3
Antigene criptococcico	T. Rosso piccola	sangue venoso, liquor	3
Antigene Helicobacter pylori nelle feci	Contenitore feci	feci	
Antigene plasmodi malarici (lattato deidrogenasi)	T. rosa EDTA	sangue venoso	3
Antigene urinario della Legionella	T. Rosso conica	urina	8
Antigene urinario Streptococco gruppo B	T. Rosso conica.	urina	8
Antigene urinario Streptococcus pneumoniae	T. Rosso conica	urina	8
Antigene virus Delta	T. Rosso piccola	sangue venoso	5
Antigeni protozoi fecali	Contenitore feci	feci	
Antigeni virus respiratori	Tamp. secco sta alluminio	essudato nasale	
Clostridium difficile nelle feci	Contenitore feci	feci	
Colturale delle feci (coprocoltura)	Contenitore feci	feci	
Colturale delle feci per Aeromonas spp	Contenitore feci	feci	
Colturale delle feci per Yersinia	Contenitore feci	feci	
Colturale essudato auricolare per miceti	Tampone tappo rosa.	auricolare esterno, medio	
Colturale essudato faringeo	Tampone tappo rosa.	essudato faringeo	
Colturale essudato faringeo e nasale per ricerca di Candida	Tampone tappo rosa	essudato faringeo, nasale	
Colturale essudato faringeo e nasale per ricerca di N. meningitidis	Tampone tappo rosa	essudato faringeo, nasale	122

Descrizione	Contenitore	Campione	Q. min. (mL)
-------------	-------------	----------	--------------

Colturale essudato faringeo per ricerca di C. diphtheriae	Tampone tappo rosa.	essudato faringeo	
Colturale essudato nasale	Tampone tappo rosa.	essudato nasale	
Colturale essudato nasale per ricerca di Candida	Tampone tappo rosa.	essudato nasale	
Colturale essudato nasale per ricerca di N. meningitidis	Tampone tappo rosa.	essudato nasale	
Colturale latte materno	Contenitore sterile	latte materno	
Colturale liquido cefalo-rachidiano	Provetta sterile conica T.Rosso	liquido cefalo-rachidiano	
Colturale materiale da cavità orale per batteri e miceti	Tampone tappo rosa.	materiale cavità orale	
Colturale miceti su espettorato	Contenitore sterile	espettorato	
Colturale micoplasmi nell'urina	Contenitore sterile	urina	
Colturale nutrizione parenterale	Flacone terreno liquido	sacca nutrizione parenterale	
Colturale per Legionella	Contenitore sterile	materiali vari	
Colturale per micoplasmi cervice uterina	Tampone tappo azzurro ENAT	essudato cervicale	
Colturale per micoplasmi nel secreto uretrale femminile	Tampone tappo azzurro ENAT	essudato uretrale femminile	
Colturale streptococco gruppo B nell'introito vagino-rettale	Tampone tappo azzurro LIM broth	introito vagino-rettale	
Colturale urina da mitto intermedio in adulto	Provetta urine tappo beige	urina mitto intermedio	
Colturale urina nella prima infanzia	Sacchetto sterile	urina sacchetto pediatrico	
Cryptosporidium sulle feci	Contenitore feci	feci	
DNA Citomegalovirus	T.perla EDTA	sangue venoso	3
Emocoltura da catetere vena centrale	Flacone terreno liquido	sangue vena centrale	
Emocoltura da vena periferica, vena centrale	Flacone terreno liquido	sangue v. periferica, centrale	
Emocoltura per pazienti pediatrici	Flacone terreno liquido	sangue vena periferica	
Escherichia coli verocitotossico nelle feci	Contenitore feci	feci	
HAV-Anticorpi IgG anti virus HAV	T. arancio alta	sangue venoso	5
HAV-Anticorpi IgM anti virus HAV	T. arancio alta	sangue venoso	5
HBV-Anticorpi "e" virus Epatite B	T. arancio alta	sangue venoso	5
HBV-Anticorpi di superficie virus Epatite B	T. arancio alta	sangue venoso	5
HBV-Anticorpi IgM anti core virus Epatite B	T. arancio alta	sangue venoso	5
HBV-Anticorpi totali anti core virus Epatite B	T. arancio alta	sangue venoso	5
HBV-Antigene "e" virus Epatite B	T. arancio alta	sangue venoso	5
HBV-Antigene di superficie virus Epatite B	T. arancio alta	sangue venoso	5 123

Descrizione	Contenitore	Campione	Q. min. (mL)
-------------	-------------	----------	--------------

HBV-DNA virus Epatite B	T. perla alta	sangue venoso	3
HCV - RNA quantitativo	T. perla alta	sangue venoso	5
HCV - Tipizzazione genoma	T. perla alta	sangue venoso	5
HCV-Anticorpi anti virus HCV	T. arancio alta	sangue venoso	3
Liquido cefalo rachidiano	Provetta sterile Liquor	liquido cefalo-rachidiano	
Liquido seminale	Cont. sterile bocca larga	liquido seminale	
Micobatteri: Microscopico e colt. batteri alcool-acido resistenti	Contenitore sterile	materiali vari	40, 2
Micobatteri: Microscopico e colt. batteri alcool-acido resistenti	Contenitore sterile	materiali vari	40, 2
Microscopico e colturale del cavo orale	Tampone tappo rosa.	materiale cavità orale	
Microscopico e colturale del liquido articolare	Contenitore sterile	liquido articolare	
Microscopico e colturale dell'espettorato	Contenitore sterile	espettorato	
Microscopico e colturale dell'essudato congiuntivale	Tampone tappo rosa	essudato congiuntivale	
Microscopico e colturale dell'essudato orecchio esterno	Tampone tappo rosa.	auricolare esterno	
Microscopico e colturale dell'essudato orecchio medio	Tampone tappo rosa.	auricolare medio	
Microscopico e colturale dell'urina (test di Meares-Stamey)	Contenitore sterile	urina primo getto	
Microscopico e colturale essudato vulvare	Tampone tappo rosa.	essudato vulvare	
Microscopico e colturale liquido ascitico	Contenitore sterile	liquido ascitico	
Microscopico e colturale materiali vari	Contenitore sterile	materiali vari	
Microscopico e colturale per dermatofiti e lieviti in squame ungueali	Piastre per semina	squame ungueali	
Mycobacterium tuberculosis complex: amplificazione DNA	Contenitore sterile	materiali vari	
Parassiti intestinali (nelle feci)	Contenitore feci	feci	
Ricerca altri parassiti ematici	T.rosa EDTA	sangue venoso	3
Ricerca Chlamydia nel secreto cervicale	Tampone tappo azzurro ENAT	essudato cervicale	
Ricerca Chlamydia nel secreto uretrale femminile	Tampone tappo azzurro ENAT	ess. uretrale femminile	
Ricerca Chlamydia trachomatis in urina	Contenitore sterile	urina	
Ricerca colturale per gonococco	Tampone tappo rosa.	essudato faringeo	
Ricerca del parassita malarico e altri parassiti ematici	T.rosa EDTA	sangue venoso	3
Ricerca della Chlamydia trachomatis	Tampone tappo azzurro ENAT	ess. congiuntivale	

Descrizione	Contenitore	Campione	Q. min. (mL)
-------------	-------------	----------	--------------

Ricerca della Chlamydia trachomatis essudato congiuntivale dx	Tampone tappo azzurro ENAT	ess. congiuntivale destro	
Ricerca dello Schistosoma urinario	Contenitore sterile	urina	
Ricerca di Trichomonas vaginalis	Tampone tappo azzurro ENAT	essudato vaginale	
Ricerca microscopica e colturale del Liquido Seminale	Contenitore sterile	liquido seminale	
Ricerca microscopica e colturale dermatofiti e lieviti	Scraping	squame cuoio capelluto	
Ricerca microscopica e colturale germi comuni secreto cervicale	Tampone tappo rosa.	essudato cervicale	
Ricerca microscopica e colturale gonococco nel secreto cervicale	Tampone tappo rosa.	essudato cervicale	
Ricerca microscopica e colturale secreto uretrale femminile	Tampone tappo rosa	essudato uretrale femminile	
Ricerca microscopica e colturale secreto uretrale maschile	Tampone tappo rosa	essudato uretrale maschile	
Ricerca parassita malarico (microscopico su goccia spessa)	T.rosa EDTA	sangue venoso	
Ricerca Stafilococco aureo nasale	Tampone tappo rosa.	essudato nasale	
Ricerca Trichomonas vaginalis in urina	Contenitore sterile	urina	
Rotavirus nelle feci	Contenitore feci	feci	
Scotch test	Vetrino scotch	Vetrino scotch	
Spazzolato esofageo	Vetrino	spazzolato esofageo	
Test di Meares-Stamey	Contenitore sterile	secreto prostatico	
Vibrioni fecali (esame colturale)	Contenitore feci	feci	
Widal Wright (Reazione di)	T.Rosso piccola	sangue venoso	4

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. **Balows A, Hausler WJ Jr, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ (eds).** Manual of Clinical Microbiology. 5th ed, American Society for Microbiology, Washington, 1991.
2. **Bouza E., Guemble M. et al.** Are central venous catheter tip cultures reliable after 6-day refrigeration? *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 2009
3. **Braga A, Goglio A, Marchiaro G, Moro ML (eds).** Sorveglianza e controllo delle infezioni ospedaliere. Edizioni Istituto Superiore di Sanità ISS - Associazione Microbiologi Clinici Italiani AMCLI, Biomedica srl, Milano, 1990.
4. **Brun-Buisson C, Abrouk F, Legrand; P, Huet Y, Larabi S, Rapin M.** Diagnosis of Central Venous Catheter-Related Sepsis: Critical Level of Quantitative Tip Cultures *Arch Intern Med*, May 1987; **147: 873 - 877**
5. **Goglio A, Farina C., Signorini A., Passerini Tosi C.** Prelievo, conservazione ed invio dei campioni per indagini microbiologiche. Associazione Microbiologi Clinici Italiani AMCLI, Biomedica srl, Milano, 1990.
6. **Isenberg HD (ed).** Clinical Microbiology Procedures Handbook. 5th ed, American Society for Microbiology, Washington, 1994.
7. Modalità di prelievo, conservazione ed invio dei campioni per ricerche microbiologiche. Quaderni di Microbiologia Medica. Associazione Microbiologi Clinici Italiani - AMCLI. Biomedica srl, Milano, 1993.
8. Scelta delle indagini microbiologiche in rapporto alla patologia. Quaderni di Microbiologia Medica. Associazione Microbiologi Clinici Italiani - AMCLI. Biomedica srl, Milano, 1993.
9. Elementi di diagnostica parassitologica. Quaderni di Microbiologia Medica. Associazione Microbiologi Clinici Italiani - AMCLI. Biomedica srl, Milano, 1993.
10. **Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. (eds).** Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th Edition, Churchill Livingstone, New York, 1995.
11. **Miller JM.** A guide to Specimen management in clinical microbiology 19-96
12. **Murray PR, Baron EG, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA.** Manual of Clinical Microbiology. 9th ed, American Society for Microbiology, Washington, 2007.

