



AZIENDA OSPEDALIERA - COSENZA
PRESIDIO OSPEDALIERO DELL'ANNUNZIATA

Laboratorio di Microbiologia e Virologia Clinica e Molecolare
Direttore : Dr. Cristina Giraldi

Prelievo, conservazione ed invio
dei campioni per indagini di
microbiologia
virologia
sieroinmunologia

INDICE

INDICE	1
1 INFORMAZIONI GENERALI	5
1.1 Modalità ed invio dei campioni	5
1.2 Riferimenti bibliografici essenziali	6
1.3 Tempi di refertazione	6
2 RICERCA BATTERI E MICETI	7
2.1 Aspetti generali	7
2.2 Sangue	8
2.2.1 Emocoltura	8
2.2.2 Emocoltura da catetere intravascolare	10
2.3 Basse vie respiratorie	12
2.3.1 Secrezione bronchiale da prelievo non protetto	12
2.3.2 Secrezione bronchiale da prelievo protetto	14
2.4 Orecchio-Naso-Gola-Occhio	15
2.4.1 Essudato faringeo	15
2.4.2 Secrezione auricolare	16
2.4.3 Tampone nasale	17
2.4.4 Secrezione congiuntivale e corneale	18
2.5 Liquidi biologici	19
2.5.1 Liquor cefalorachidiano	19
2.5.2 Altri liquidi biologici	21
2.6 Pus, essudati ed altri materiali	22
2.6.1 Pus da raccolta profonda/ascesso	22
2.6.2 Pus da raccolta superficiale	23
2.6.3 Tampone da exit-site	24
2.6.4 Tampone da scraping cutaneo	25
2.6.5 Secrezione da piaga o ulcera	26
2.6.6 Catetere vascolare	27
2.6.7 Fili da pace maker	28
2.6.8 IUD	29

2.6.9 Biopsia gastrica	30
2.6.10 Biopsia (diverse da biopsia gastrica)	31
2.6.11 Valvola cardiaca	32
2.6.12 HOMOGRAFT	33
2.6.13 Frammento osseo e soluzione ringer di lavaggio	34
2.7 Apparato Gastro-Enterico	35
2.7.1 Feci o tampone rettale	35
2.7.2 Feci, ricerca Antigene H. pylori	37
2.8 Vie urinarie	38
2.9 Apparato genitale	41
2.9.1 Secrezione uretrale	41
2.9.2 Test Stamey	42
2.9.3 Sperma	43
2.9.4 Essudato vaginale	44
2.9.5 Essudato cervicale	45
2.10 Screening neonatale e materno	46
2.10.1 Neonato, ricerca S.agalactiae	46
2.10.2 Madre, ricerca S.agalactiae	47
3 RICERCA MICOBATTERI	48
3.1 Aspetti generali	48
3.2 Sangue	49
3.3 Urine	50
3.4 Secrezioni respiratorie	51
3.5 Altri materiali	52
4 RICERCA PARASSITI	53
4.1 Aspetti generali	53
4.2 Sangue per ricerca malaria e altri parassiti	54
4.3 Urine	55
4.4 Aspirato duodenale	56
4.5 Feci	57

5 INDAGINI SIEROIMMUNOLOGICHE	58
5.1 Aspetti generali	58
5.2 Indagini su siero	59
5.3 Indagini su liquidi biologici.	60
5.4 Indagini sieroimmunologiche	60
6 INDAGINI VIROLOGICHE DIRETTE	63
6.1 Aspetti generali	63
6.2 Indagini virologiche	63
6.3 Ag virali su aspirato naso-faringeo	65
6.4 DNemia Cyomegalovirus	65
6.5 HBV DNA	66
6.6 Ricerca genoma HCV	67
6.7 Ricerca genoma HIV	68
6.8 Ricerca genoma EBV	68
6.9 Ricerca genoma Virus Erpetici	69
6.10 Ricerca genoma virale di altri virus	70
6.11 Ricerca genoma toxoplasma, CMV e rosolia su l. amniotico	71

Revisione del 1 ottobre 2013

1 INFORMAZIONI GENERALI

1.1 MODALITÀ DI INVIO DEI CAMPIONI

L'U.O. di degenza o la struttura che effettua il prelievo, è responsabile della corretta raccolta del campione, della sua identificazione, della compilazione del modulo di richiesta, dell'inoltro tempestivo a M&V o della conservazione con modalità idonee.

RACCOLTA DEL CAMPIONE

Nel Manuale sono indicate, per ciascuna richiesta e/o campione le corrette modalità di raccolta per le indagini più comuni. Per indagini particolari non indicate nel modulo di richiesta, si raccomanda di prendere contatto con M&V prima di procedere alla raccolta.

IDENTIFICAZIONE DEL CAMPIONE

Tutti i contenitori inviati a M&V devono essere identificati con il nome del malato e/o con l'etichetta riportante il relativo codice a barre. Quando si inviino più campioni per uno stesso malato deve essere indicato, su ogni contenitore, anche il materiale e/o l'indagine richiesta.

MODULO DI RICHIESTA

M&V ha predisposto appositi moduli di richiesta o mediante collegamento informatico

INVIO E TRASPORTO

Il campione deve essere inviato a M&V tempestivamente e, comunque, nel rispetto delle indicazioni di conservazione indicate per ciascuna indagine e/o campione. I campioni devono essere posti nelle apposite buste di plastica a due scomparti: una con chiusura a pressione per il contenitore, l'altra aperta per il modulo di richiesta. Il rispetto di questa procedura è indispensabile per garantire la protezione dal rischio biologico degli operatori addetti al trasporto ed alla manipolazione successiva (epatiti, infezione da HIV, tubercolosi,....).

CAMPIONI NON IDONEI.

Il mancato rispetto di quanto riportato in precedenza comporta una "non conformità" della fase preanalitica (prelievo, conservazione ed invio) "controllata" dagli operatori di M&V. M&V provvederà ad inviare alle U.O. comunicazione via fax o telefono di eventuali "non conformità" rilevate, e non procederà all'esame sul campione.

1.2 RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI ESSENZIALI

- Balows A, Hausler WJ Jr, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 5th ed, American Society for Microbiology, Washington, 1991.
- 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.
- Isemberg HD (ed). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 5th ed, American Society for Microbiology, Washington, 1994.
- *Modalità di prelievo, conservazione ed invio dei campioni per ricerche microbiologiche*. Quaderni di Microbiologia Medica. Associazione Microbiologi Clinici Italiani - AMCLI. Biomedica srl, Milano, 1993.
- *Scelta delle indagini microbiologiche in rapporto alla patologia*. Quaderni di Microbiologia Medica. Associazione Microbiologi Clinici Italiani - AMCLI. Biomedica srl, Milano, 1993.
- *Elementi di diagnostica parassitologica*. Quaderni di Microbiologia Medica. Associazione Microbiologi Clinici Italiani - AMCLI. Biomedica srl, Milano, 1993.
- 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.

1.3 TEMPI DI REFERTAZIONE

I tempi indicati hanno solo valore indicativo e sono proposti per informare sull'iter dell'esame che, essendo a step successivi, fornisce indicazioni parziali e preliminari delle indagini (esame microscopico, ricerca antigeni, esame in PCR, esame colturale positivo o negativo, ...).

M&V non assicura il rispetto dei tempi indicati, essendo probabile il verificarsi di condizioni particolari (es. necessità di ripetere esami, presenza di colture miste, test aggiuntivi che si rendessero necessari,...) che possono ritardare i tempi di refertazione.

2 RICERCA BATTERI E MICETI

2.1 ASPETTI GENERALI

La finalità delle indagini batteriologiche e micologiche (comprehensive di indagini dirette e/o colturali) è quella di ricercare, in modo rapido ed accurato, gli agenti responsabili di processi infettivi ad eziologia batterica e fungina, con il duplice scopo di identificarli e, ove indicato, di determinarne la sensibilità agli antibiotici. Di seguito si richiamano alcuni aspetti di ordine generale, il cui mancato rispetto può condizionare i risultati delle indagini microbiologiche, rimandando alle schede specifiche per gli aspetti particolari.

RACCOGLIERE I CAMPIONI BIOLOGICI POSSIBILMENTE PRIMA DELL'INIZIO DELLA TERAPIA CHEMIOANTIBIOTICA.

La ricerca di un microorganismo, effettuata dopo la somministrazione di farmaci atti a neutralizzarlo (chemioantibiotici), può condizionare i risultati delle indagini colturali. Anche nei casi, infatti, in cui la terapia chemioantibiotica non abbia determinato la completa distruzione (o "cidia") dell'agente patogeno è probabile che il farmaco contenuto nel materiale patologico eserciti, nei terreni di coltura utilizzati in laboratorio, una prolungata attività impedendo lo sviluppo - e quindi l'identificazione - dell'eventuale germe in causa. Se il paziente è sottoposto a trattamento antimicrobico, è importante informare M&V, segnalando la terapia in corso sul modulo di richiesta.

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 'facoltativi' o 'opportunisti' che, a differenza dei patogeni 'classici', 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" così il risultato delle indagini microbiologiche (risultati "falsamente positivi"). Il microbiologo non è in grado di distinguere con ragionevole certezza, se non in casi particolari, se i microorganismi isolati sono gli agenti causali del processo patologico ovvero se rappresentano unicamente la popolazione microbica residente, a cui attribuire il ruolo 'di inquinante'.

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.

EFFETTUARE TEMPESTIVAMENTE IL TRASPORTO DEI CAMPIONI A M&V

E' opportuno far pervenire tempestivamente il campione biologico a M&V, 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 a M&V è indispensabile utilizzare adeguati terreni di trasporto o provvedere alla conservazione dei materiali secondo le modalità specificamente richieste al personale di M&V.

2.2 SANGUE

2.2.1 EMOCOLTURA

Indagini microbiologiche

L'emocoltura costituisce l'esame essenziale per porre diagnosi di infezioni gravi, quali la **sepsi e infezioni sistemiche e profonde**. Per assicurarne la massima efficacia è importante:

a) effettuare, quando possibile, l'emocoltura prima dell'inizio della terapia chemioantibiotica o immediatamente prima della somministrazione;

b) 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 15 minuti per tre giorni consecutivi e lontano dalla somministrazione del farmaco.

c) prelevare una corretta quantità di sangue (10 ml). Nei neonati, che presentano batteriemie con carica microbica elevata, è invece sufficiente il prelievo di 2-3 ml;

d) quando possibile, effettuare i prelievi all'inizio del brivido o del rialzo termico.

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

I flaconi sono incubati per 7 giorni a 35°C. Per alcuni quadri clinici (endocardite, brucellosi, AIDS, micosi profonda) l'incubazione viene protratta fino a 21 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 nel modulo di richiesta.

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

Materiali necessari

Impacco Antisettico
Guanti
Set di prelievo monouso per emocoltura e relativo connettore di plastica
Flacone per emocoltura in aerobiosi (tappo bleu)
Flacone per emocoltura in anaerobiosi (tappo arancione)
Flacone per emocoltura in aerobiosi pediatrico (tappo rosa)
Flacone per emocoltura per miceti (tappo verde)

Procedura di prelievo

Durante il prelievo è necessario il rigoroso **rispetto delle norme di asepsi**: emocolture falsamente positive, per contaminazione nella raccolta, possono comportare interpretazioni diagnostiche erranee, con conseguenti terapie non utili e possibili gravi conseguenze per il paziente !

Procedere come segue:

- individuare il sito di prelievo;

- lavare accuratamente le mani con acqua e sapone;

- disinfettare la cute con antisettico a base di clorexidina 0.5 in soluzione alcoolica (Neoxinal alcoolico), 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.

- rimuovere il cappuccio dai flaconi per emocoltura e disinfettarne il tappo di gomma applicandovi, per almeno un minuto, un impacco dello stesso antisettico utilizzato per la disinfezione della cute;

- predisporre il collegamento del set sterile con l'apposito connettore di plastica, da utilizzare in fase di prelievo per entrambi i flaconi;
- rimuovere l'impacco e lasciare asciugare la cute;
- indossare i guanti;
- introdurre l'ago in vena, senza toccare con le dita la cute disinfettata (se necessario, indossare guanti sterili): nel caso risulti difficile reperire l'accesso venoso, è necessario provvedere alla sostituzione dell'ago del set di prelievo, prima di riprendere la manovra di prelievo;
- collegare al set di prelievo dapprima il flacone con brodo di coltura per batteri anaerobi;
- prelevare **10 ml di sangue** (la quantità di sangue è critica: quantitativi superiori o inferiori riducono la sensibilità del test);
- rimuovere prontamente il flacone dall'apposito connettore di plastica;
- collegare al set di prelievo il flacone con brodo di coltura per batteri aerobi;
- prelevare **10 ml di sangue** (la quantità di sangue è critica: quantitativi superiori o inferiori riducono la sensibilità del test);
- rimuovere il secondo flacone dal connettore di prelievo;
- estrarre l'ago dalla vena e scartare il set in un contenitore rigido;
- rimuovere i guanti e gettarli nel contenitore per rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo;
- lavare le mani con acqua e sapone;
- compilare l'etichetta apposta su ciascun flacone con le informazioni relative al paziente: numero di identificazione, cognome e nome, data e ora di prelievo. Fare attenzione a **non sovrapporre l'etichetta con i dati del paziente sul codice a barre del flacone**. Non ricoprire il tappo con cerotti e/o garze.

Conservazione ed invio

Inviare tempestivamente i flaconi a M&V. Se il prelievo viene effettuato nelle ore chiusura di M&V, conservare i flaconi a **temperatura ambiente** (non riporre i flaconi né in frigorifero né in termostato).

Tempi di refertazione

Ricerca per:	Campione negativo	Campione positivo*
Protocollo standard	7 giorni	3-10 giorni
Endocardite, Micosi profonda, AIDS, Brucellosi	21 giorni	3-25 giorni

* in caso di positività M&V invia per via telefonica i risultati preliminari dell'esame microscopico e/o colturale e di sensibilità agli antibiotici

2.2.2 EMOCOLTURA DA CATETERE INTRAVASCOLARE

Indagini microbiologiche

L'emocoltura da catetere intravascolare costituisce l'esame essenziale per porre diagnosi di infezioni gravi nei pazienti portatori di cateteri, quali la **sepsi catetere-correlata e non, e l'infezione del catetere**.

Per assicurarne la massima efficacia è importante:

- effettuare, quando possibile, l'emocoltura prima dell'inizio della terapia chemioantibiotica o immediatamente prima della somministrazione;
- prelevare una corretta quantità di sangue (10 ml). Nei neonati, che presentano batteriemie con carica microbica elevata, è invece sufficiente il prelievo di 2-3 ml;
- eseguire il prelievo dal catetere vascolare **sempre** contemporaneamente al prelievo da vena periferica.

La tempistica dei prelievi contemporanei da vena periferica e da catetere va rispettata rigorosamente perché la diagnosi si basa sul metodo del "Differente Tempo di Positività" (DTP) che mette a confronto il tempo di positività per lo stesso germe (stessa specie, stesso antibiogramma) della emocoltura ottenuta prelevando il sangue attraverso il catetere e quella ottenuta prelevando contemporaneamente il sangue venoso periferico. Il DTP è il tempo che intercorre tra la positività della emocoltura ottenuta prelevando il sangue dal CVC e la positività della emocoltura ottenuta prelevando il sangue venoso periferico. Questa metodica, che non prevede la rimozione del catetere, si è rilevata utile nella diagnosi di sepsi catetere-correlata nei pazienti affetti da malattie neoplastiche con cateteri a lungo termine ed è utile nei casi in cui difficilmente può essere riposizionato un nuovo catetere.

Il protocollo standard di indagine microbiologica sulle emocolture da catetere vascolare è indirizzato alla ricerca di germi "non esigenti" (inclusi i lieviti), batteri "esigenti", miceti ed anaerobi.

I flaconi sono incubati per 7 giorni a 35°C.

Materiali necessari

Impacco Antisettico
Guanti
Set di prelievo monouso per emocoltura e relativo connettore di plastica
Flacone per emocoltura in aerobiosi (tappo bleu)
Flacone per emocoltura in anaerobiosi (tappo arancione)
Flacone per emocoltura in aerobiosi pediatrico (tappo rosa)
Flacone per emocoltura per miceti (tappo verde)

Procedura di prelievo

Durante il prelievo è necessario il rigoroso **rispetto delle norme di asepsi**: emocolture falsamente positive, per contaminazione nella raccolta, possono comportare interpretazioni diagnostiche erranee, con conseguenti terapie non utili per il paziente.

Procedere come segue:

- **emocoltura da vena periferica** contro laterale al posizionamento del CVC, procedendo con la stessa tecnica riportata nel protocollo emocoltura, punto 2.2.1:

- **emocoltura da catetere intravascolare:**

Eseguire lavaggio antisettico delle mani

Sospendere tutte le soluzioni infusionali su tutti i lumi del CVC

Posizionare il capo del paziente il più diritto possibile sull'asse testa piedi

Indossare i guanti puliti

Procedere alla disinfezione del hub del lume del CVC come da procedure per emocoltura

Se il CVC ha più lumi, si utilizza quello di calibro maggiore o si esegue il prelievo da tutti i lumi

Effettuare l'emocoltura come da procedura punto 2.2.1

Conservazione ed invio

Inviare tempestivamente i flaconi a M&V. Se il prelievo viene effettuato nelle ore chiusura di M&V, conservare i flaconi a **temperatura ambiente** (non riporre i flaconi né in frigorifero né in termostato).

Tempi di refertazione

Ricerca per:	Campione negativo	Campione positivo*
Protocollo standard	7 giorni	3-10 giorni

* in caso di positività M&V invia per via telefonica i risultati preliminari dell'esame microscopico e/o colturale e di sensibilità agli antibiotici

2.3 BASSE VIE RESPIRATORIE

2.3.1 SECREZIONE BRONCHIALE DA PRELIEVO NON PROTETTO

Indagini microbiologiche

L'indagine microbiologica delle secrezioni delle basse vie respiratorie viene per lo più richiesta per la diagnosi di **bronchite cronica riacutizzata** o di **polmonite**. L'inevitabile 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; l'idoneità del campione è espressa dal "Q score" (il campione è idoneo per valori > 1). Sui campioni idonei si procede all'**esame colturale** ed alla determinazione della carica semiquantitativa di batteri non esigenti ed esigenti (tra cui *Haemophilus spp*).

Ricerche particolari, che richiedono l'utilizzo di terreni supplementari e/o di tecniche particolari, potranno essere effettuate sulla base del sospetto clinico, dopo colloquio con un Dirigente di M&V. Tali ricerche includono, ad esempio:

- *Legionella spp*; (nel sospetto di infezione respiratoria da *Legionella* o *S. pneumoniae* richiedere gli antigeni urinari vedi capitolo 5.3)
- *Nocardia spp*;
- miceti filamentosi,
- indagini per fibrosi cistica (include la ricerca di *B. cepacia*).

Materiali necessari

Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite

Procedura di prelievo

Per consentire la corretta esecuzione delle indagini microbiologiche:

- raccogliere l'espettorato preferibilmente lontano dall'assunzione di cibo;
- rimuovere sempre eventuali protesi dentarie;
- raccogliere almeno 1 ml di materiale;
- non raccogliere in modo cumulativo i campioni respiratori;

Espettorato

- grattare gentilmente, con spazzolino da denti o con tampone umidi, la mucosa interna delle guance, le gengive e la lingua;

- sciacquare il cavo orale con acqua prima della raccolta del campione;

- espettorare in un contenitore a bocca larga sterile e con tappo a vite;

- evitare l'introduzione di materiale salivare o di secrezioni nasali nel contenitore per la raccolta. In caso contrario, ripetere la procedura dall'inizio.

Una miglior raccolta dell'espettorato (specie a fronte di scarsa espettorazione spontanea) si può ottenere con:

- l' **Espettorato indotto**, ottenuto dopo aver sottoposto il malato a manovre di fisioterapia e/o dopo inalazione, con l'ausilio di un nebulizzatore ultrasonico, di 20-30 ml di soluzione al 5% di NaCl 0,9%;

- l' **Espettorato protetto**, ottenuto dopo inserimento tra guance e gengive di cilindretti di cotone sterile per bloccare la secrezione salivare dal dotto di Stenone;

- l' **Espettorato indotto protetto** combinando le due ultime modalità di raccolta.

E' anche possibile la raccolta di secrezioni respiratorie da

- Aspirato o lavaggio tracheo-bronchiale
- Aspirato transcricoideo
- Aspirato da tracheostomia

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

Conservazione ed invio

Inviare tempestivamente il materiale a M&V, non oltre 1 ora dalla raccolta, conservando a temperatura ambiente: il ritardo nella consegna può comportare risultati "falsi negativi" (perdita di vitalità dei patogeni) o "falsi positivi" (sovracrescita di flora contaminante).

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo standard	48 ore	72-96 ore
<i>Nocardia spp</i>	7 giorni	5-10 giorni
<i>Legionella spp.</i>	7 giorni	5-10 giorni
Miceti filamentosi	7 giorni	5-10 giorni

2.3.2 SECREZIONE BRONCHIALE DA PRELIEVO PROTETTO

Indagini microbiologiche

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 la flora responsabile di infezione dalla flora contaminante). 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.*, *Mycoplasma hominis* nel neonato o miceti dimorfi nel sospetto di Istoplasmosi, *Pneumocystis carinii*) potranno essere effettuate sulla base del sospetto clinico, dopo colloquio con un Dirigente di M&V.

Materiali necessari

Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite

Procedura di prelievo

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

- Lavaggio broncoalveolare;

Conservazione ed invio

Inviare tempestivamente il materiale a M&V, possibilmente entro 1 ora dalla raccolta, conservandolo a temperatura ambiente.

Tempi di refertazione*

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo standard	48 ore	3-7 giorni
<i>Nocardia spp</i>	7 giorni	5-10 giorni
<i>Legionella spp.</i>	7 giorni	5-10 giorni
<i>Mycoplasma hominis</i>	2 giorni	10 giorni
Miceti filamentosi	7 giorni	5-10 giorni
Miceti dimorfi	30 giorni	10-45 giorni

* M&V invia via fax o telefono i risultati preliminari dell'esame microscopico.

2.4 ORECCHIO-NASO-GOLA-OCCHIO

2.4.1 ESSUDATO FARINGEO

Indagini microbiologiche

Le indagini microbiologiche su essudato (o tampone) faringeo sono di norma indirizzate alla ricerca di *Streptococcus pyogenes* (*Streptococco* beta-emolitico di gruppo A), streptococchi beta-emolitici di gruppo C e G per diagnosi di faringotonsillite o ricerca di portatori. Tale ricerca, giustificata dalla responsabilità eziologica di *Streptococcus pyogenes* nel determinare la malattia reumatica, 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 l'U.O. Microbiologia e Virologia. E' il caso, ad esempio delle ricerche:

- *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;
 - *Neisseria gonorrhoeae*, in pazienti (o partner sessuali di pazienti) affetti da gonorrea con faringite sintomatica
 - lieviti, nel mugugno o candidosi orofaringea, resistente a terapie antimicotiche mirate;
 - *Borrelia vincentii* e *Fusobacterium* spp. In caso di sospetta angina di Vincent;
 - *Streptococchi di gruppo C e G* oppure *Arcanobacterium haemolyticum* in pazienti con faringotonsillite.
- Per la ricerca di *Streptococcus agalactiae* (streptococco beta-emolitico di gruppo B), riservata ai neonati al momento della nascita, nell'ambito dello screening per escluderne la colonizzazione, si rimanda al 2.10.1.

Materiali necessari

Tampone con terreno di trasporto di Amies

Procedura di prelievo

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.

Conservazione ed invio

- nel caso di ricerca mirata di *Neisseria meningitidis* o *N. gonorrhoeae* è imperativo l'inoltro immediato del campione all'U.O. Microbiologia e Virologia;
- per le altre ricerche i campioni possono essere conservati (massimo dodici ore) a temperatura ambiente.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Streptococchi beta-emolitici di gruppo A, C, G	24 ore	48-96 ore
<i>N. meningitidis</i> e <i>gonorrhoeae</i>	48 ore	72-96 ore
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	48 ore	3-6 giorni
Lieviti	48 ore	72-96 giorni

2.4.2 SECREZIONE AURICOLARE

Indagini microbiologiche

Le indagini microbiologiche consentono l'accertamento eziologico di **otite esterna** (inclusa la cosiddetta 'otite del nuotatore'), **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.), attraverso l'esame colturale.

La ricerca di *Streptococcus agalactiae* (streptococco beta-emolitico di gruppo B) è riservata ai neonati al momento della nascita, per escluderne la colonizzazione. Si rimanda al 2.10.1.

Materiali necessari

Tampone con terreno di trasporto di Amies

Procedura di prelievo

- 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.

Conservazione ed invio

I campioni dovranno essere inoltrati nel più breve tempo possibile (per garantire la vitalità dei batteri esigenti, in particolare di *Haemophilus* spp.). Ove ciò non fosse possibile conservare il tampone (massimo 12 ore) a temperatura ambiente.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Batteri "non esigenti" ed "esigenti"	48 ore	48-96 ore
Miceti filamentosi	7 giorni	3-10 giorni

2.4.3 SECREZIONI NASALI

Indagini microbiologiche

Materiali prelevati a livello delle coane nasali non trovano indicazione per la diagnosi di rinite o sinusite. Non esiste quindi un protocollo di indagini standard. Per la diagnosi eziologica di queste forme può essere opportuno prendere contatto con un Dirigente di M&V.

Le indagini microbiologiche sono di norma eseguite in modo mirato; è prevista la ricerca di:

- *Staphylococcus aureus*, per soggetti candidati al trapianto d'organo oppure sottoposti a trattamenti dialitici;
 - *Aspergillus* spp per screening pre-trapianto o di sorveglianza dopo trapianto d'organo o di midollo.
- Per altre indagini è necessario prendere contatti direttamente con un Dirigente di M&V. E' il caso, ad esempio delle indagini per:
- *Neisseria meningitidis*, in pazienti affetti da sospetta meningite meningococcica o loro conviventi;
 - *Bordetella pertussis*, nel sospetto di pertosse;
 - *Klebsiella ozaenae*, nel sospetto di ozaenae;
 - *Corynebacterium diphtheriae*, in caso di sospetta difterite o per accertare lo stato di portatore.

Materiali necessari

Tampone con terreno di trasporto di Amies

Procedura di prelievo

- inumidire il tampone con soluzione fisiologica, o acqua distillata, sterile;
- inserire e ruotare il tampone sulle pareti delle coane nasali;
- riporre il tampone nel contenitore con l'apposito terreno di trasporto.

Conservazione ed invio

- nel caso di ricerca mirata di *Neisseria meningitidis* è imperativo l'inoltro immediato del campione a M&V.
- Ove ciò non fosse possibile contattare un Dirigente di M&V.
- per le altre ricerche i campioni possono essere conservati (massimo dodici ore) a temperatura ambiente.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
<i>Neisseria meningitidis</i>	48 ore	72-96 ore
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	48 ore	3-6 giorni
<i>Staphylococcus aureus</i>	24- 48 ore	48-72 ore
Miceti filamentosi	7 giorni	3-10 giorni

2.4.4 SECREZIONE CONGIUNTIVALE E CORNEALE

Indagini microbiologiche

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

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. Per altre indagini, che richiedono l'utilizzo di terreni supplementari e/o di tecniche particolari, è necessario prendere contatti direttamente con l'U.O. Microbiologia e Virologia. E' il caso, ad esempio, delle indagini per:

- Miceti filamentosi.

Materiali necessari

Tampone con terreno di trasporto di Amies
Kit per *Chlamydia trachomatis*

Preparazione del paziente

- eseguire il prelievo prima che il paziente si lavi gli occhi;

Procedura di prelievo

- inumidire il tampone in soluzione fisiologica o acqua distillata sterile;
- allontanare la palpebra dal bulbo oculare, traendola delicatamente verso l'operatore;
- raccogliere le secrezioni sfregando col tampone la congiuntiva così da raccogliere la secrezione;
- restrarre il tampone senza toccare le palpebre o le ciglia.
- riporre il tampone nel contenitore con l'apposito terreno di trasporto.

Prelievo per *Chlamydia*

- aprire il kit per *Chlamydia* ed estrarre il vetrino predisposto;
- 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;
- ruotare fermamente il primo lato del tampone sulla metà superiore del pozzetto del vetrino e successivamente il secondo lato del tampone sulla metà inferiore del pozzetto del vetrino;
- lasciare asciugare all'aria per due-tre minuti;
- estrarre dal kit per *Chlamydia* la fialetta di fissativo;
- premere al centro la fialetta - senza aprirla! - fino a fare uscire il fissativo, deponendolo in corrispondenza del pozzetto inoculato;
- lasciare asciugare all'aria per due-cinque minuti;
- richiudere il vetrino nell'apposito astuccio.

Conservazione ed invio

Inviare tempestivamente nel più breve tempo possibile il materiale a M&V. Ove ciò non fosse possibile conservare il tampone (massimo 12 ore) a temperatura ambiente.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo standard	48 ore	48-96 ore
Ricerca <i>Chlamydia</i>	24 ore	24 ore

2.5 LIQUIDI BIOLOGICI

2.5.1 LIQUOR CEFALORACHIDIANO

Materiali inclusi

Il liquor cefalorachidiano può essere prelevato da:

- puntura lombare ;
- derivazione ventricolare esterna o altre derivazioni (derivazione spinale, liquor cefalorachidiano ventricolare da reservoir sotto lo scalpo, liquor cefalorachidiano da puntura sottoccipitale, liquor cefalorachidiano da ventricolo in sede operatoria, ecc.).

La modalità di prelievo deve essere specificata sul modulo di richiesta.

Indagini microbiologiche

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.

L'esame del liquor prevede, accanto alle indagini microbiologiche, lo studio dei parametri chimico fisici. E' un esame eseguito in urgenza. Il protocollo standard dell'indagine microbiologica prevede l'esecuzione immediata dell'esame microscopico e la coltura per la ricerca di batteri "esigenti" e batteri "non esigenti". Per altre indagini, che richiedono l'utilizzo di terreni supplementari e/o di tecniche particolari, è necessario prendere contatti direttamente con un medico di M&V soprattutto delle meningiti a liquor limpido, dove può essere indicata la ricerca di:

- batteri (*Brucella* spp, Micobatteri);
- miceti (*Cryptococcus neoformans*; utile la ricerca dell'antigene su liquor o siero);
- virus (diagnosi sierologica o con biologia molecolare);

Procedura di prelievo

- lavare accuratamente le mani con acqua e sapone e indossare i guanti;
- disinfettare la cute con antisettico a base di clorexidina 0.5 in soluzione alcoolica (Neoxinal alcoolico), 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);
- ritirare il mandrino e raccogliere il liquor in una prima provetta per l'esame completo (almeno 2 ml);
- chiudere la provetta e posizionarne una seconda sterile;
- raccogliere il liquor (almeno 3 ml, il volume ottimale essendo di 10 ml) nella provetta sterile, facendo attenzione che essa non venga a contatto con la cute del paziente;
- chiudere la provetta e sfilare l'ago;
- apporre un impacco di cotone e colloidio 5% o compressa di garza e cerotto sul sito di prelievo;
- rimuovere i guanti e gettarli nel contenitore per rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo; lavare le mani con acqua e sapone.

Liquor cefalorachidiano da derivazione

- rimuovere il tampone che avvolge la punta del deflussore della derivazione;
- lavare accuratamente le mani e indossare i guanti sterili;
- porre in corrispondenza della punta del deflussore una provetta, anche non sterile, e lasciare defluire
- porre in corrispondenza della punta del deflussore una seconda provetta sterile e lasciare defluire il liquor cefalorachidiano (almeno 3 ml, il volume ottimale essendo di 10 ml) facendo attenzione che la

provetta sterile non venga a contatto con la cute del paziente o con la punta del deflussore;

- chiudere la provetta;
- introdurre il deflussore in una nuova flebetta;
- rimuovere i guanti e gettarli nel contenitore per rifiuti sanitari pericolosi a rischio; lavare accuratamente le mani.

Conservazione ed invio

Il campione deve essere recapitato a M&V nel più breve tempo possibile (al massimo quindici minuti).
ove ciò non fosse possibile:

- immettere parte del liquor cefalorachidiano in un flacone per liquidi e conservare a temperatura ambiente fino all'invio a M&V (tale campione è valido esclusivamente per l'allestimento dell'esame colturale);
- conservarne un'aliquota in provetta sterile a temperatura ambiente (tale campione è valido esclusivamente per l'allestimento del preparato microscopico diretto).

Tempi di refertazione*

Ricerche per :	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo <i>standard</i>	5 giorni	3-8 giorni

*in caso di positività all'esame microscopico e/o colturale M&V comunica via telefonica i risultati preliminari.

2.5.2 ALTRI LIQUIDI BIOLOGICI

Ricerche incluse

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;
- liquido da drenaggio;
- linfa;
- umor vitreo / umor acqueo;
- bile (da prelievo intraoperatorio).

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

Indagini microbiologiche

Il protocollo standard è indirizzato alla ricerca di batteri "non esigenti", batteri "esigenti", anaerobi e lieviti. La possibilità di ricercare i microorganismi anaerobi è subordinata alla raccolta del campione nel flacone con terreno di trasporto per anaerobi. Ulteriori ricerche verranno effettuate solo su specifica richiesta clinica (es.: *Mycobacterium* spp. e miceti filamentosi) o in applicazione di protocolli concordati.

Materiali necessari

Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite
in alternativa: provetta in plastica sterile con tappo a vite

Procedura di prelievo

Per i prelievi **da cavità chiuse**:

- disinfettare la cute con antisettico a base di clorexidina 0.5 in soluzione alcoolica (Neoxinal alcoolico), 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.
- prelevare con siringa sterile non meno di 1-2 ml;
- eliminare completamente dalla siringa eventuali bolle d'aria;
- trasferire il contenuto della siringa in un contenitore sterile, o lasciarlo nella siringa.

Una parte del campione deve essere immessa in un flacone di arricchimento per liquidi, fornita da M&V.

Per i prelievi **da drenaggio**: la modalità di prelievo è strettamente legata al tipo di drenaggio e risulta difficile proporre procedure universali.

Una parte del campione deve essere immessa in un flacone di arricchimento per liquidi fornita da M&V

Conservazione ed invio

Inviare tempestivamente il materiale all'U.O Microbiologia e Virologia.

Tempi di refertazione*

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo <i>standard</i>	5 giorni	3-8 giorni

2.6 PUS, ESSUDATI ED ALTRI MATERIALI

2.6.1 PUS DA RACCOLTA PROFONDA (ASCESSO)

Indagini microbiologiche

L'indagine microbiologica è sempre indicata qualora siano presenti raccolte purulente saccate in organi viscerali (intraaddominali, intracerebrali, ecc.). Il protocollo standard per raccolte purulente è indirizzato alla ricerca di germi "non esigenti", batteri "esigenti" ed anaerobi. La possibilità di ricercare i microorganismi anaerobi, spesso in causa nei processi purulenti, è però strettamente subordinata alla conservazione del campione nel flacone con terreno di trasporto per anaerobi. Il modulo di richiesta prevede che sia indicata la sede del prelievo; questa indicazione risulta utile sia per identificare il campione che per l'interpretazione dei risultati. Ulteriori ricerche potranno essere richieste dopo colloquio con un Dirigente Microbiologo, quali:

- *Actinomyces spp.*;
- *Nocardia spp.*;
- miceti filamentosi

Materiali necessari

Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite in alternativa: provetta in plastica sterile con tappo a vite.

Procedura di prelievo

- disinfettare la cute per un minuto, passando dall'interno dell'area oggetto di disinfezione all'esterno;
 - prelevare con siringa sterile il materiale;
 - eliminare completamente dalla siringa eventuali bolle d'aria;
 - trasferire 2-3 ml dalla siringa nel contenitore sterile, o lasciarlo nella siringa.
- Se possibile, una parte del campione deve essere immessa in un flacone di arricchimento per liquidi, fornita da M&V.

Conservazione ed invio

Inviare tempestivamente a M&V.

Tempi di refertazione

Germi ricercati:	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo <i>standard</i>	5 giorni	3-8 giorni

2.6.2 PUS DA RACCOLTA SUPERFICIALE

Ricerche incluse

Le modalità di prelievo, conservazione ed invio di seguito descritte si applicano a:

- tampone da ferita chirurgica o traumatica;
- tampone da fistola;
- tampone da pustola.

Indagini microbiologiche

L'interpretazione dei risultati delle indagini microbiologiche effettuate su secrezioni o pus prelevati con tampone dalla cute o mucose risulta non sempre agevole, per difficoltà a discriminare tra colonizzanti o contaminanti e agenti responsabili del processi 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".

Ulteriori ricerche (ad esempio: *Nocardia* spp. o actinomiceti aerobi) potranno essere effettuate dopo colloquio con un Dirigente di M&V.

Nelle pagine che seguono sono descritte le modalità di raccolta più frequenti di pus da lesioni superficiale.

Materiali necessari

Tampone con terreno di trasporto di Amies.

Procedura di prelievo

- lavare le mani con acqua e sapone;
- indossare guanti, non necessariamente sterili;
- 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, scartarli nel contenitore per rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo;
- lavare le mani con acqua e sapone.

Conservazione ed invio

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

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo <i>standard</i>	48 ore	48-96 ore

2.6.3 TAMPONE DA EXIT SITE

Indagini microbiologiche

Il tampone da exit site trova indicazione quando sia impossibile la rimozione del catetere vascolare, potendo avere valore predittivo dell'eventuale colonizzazione della punta della cannula, o in presenza di secrezione. Il protocollo standard prevede l'esame colturale per la ricerca di germi "non esigenti". Nel sospetto clinico di altri agenti eziologici è necessario prendere contatto con M&V, per concordare le idonee ricerche.

Materiali necessari

Tampone con terreno di trasporto di Amies

Procedura di prelievo

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

Conservazione ed invio

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

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo <i>standard</i>	48 ore	48-96 ore

2.6.4 TAMPONE DA SCRAPING CUTANEO

Indagini microbiologiche

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:

- *Neisseria meningitidis* (meningite o sepsi meningococcica);
- *Fusarium spp.* ed altri miceti filamentosi o lievitifirmi (micosi in neutropenico);
- *Bacillus anthracis* (carbonchio);
- *Pseudomonas aeruginosa*.

Materiali necessari

Tampone con terreno di trasporto di Amies

Procedura di prelievo

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

Conservazione ed invio

- nel caso di ricerca mirata di *Neisseria meningitidis* è imperativo l'inoltro immediato del campione a M&V.
- negli altri casi i campioni possono essere conservati fino a dodici ore, a temperatura ambiente.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48 ore	72-96 ore
<i>Neisseria meningitidis</i>	48 ore	48 ore
Miceti filamentosi	7 giorni	3-10 giorni
<i>Bacillus anthracis</i>	48 ore	3-6 giorni

2.6.5 SECREZIONI DA PIAGA O ULCERA

Indagini microbiologiche

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 di M&V.

Materiali necessari

Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite in alternativa: provetta in plastica sterile con tappo a vite.

Tampone con terreno di trasporto di Amies.

Procedura di prelievo

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 in 4 punti della circonferenza);
- rimuovere con una garza sterile l'eccesso di liquido;
- massaggiare con un tampone di cotone sterile i margini dell'ulcera (lungo tutta la circonferenza);
- ripetere l'irrigazione ed il massaggio de margini con un nuovo tampone;
- raccogliere almeno 0,25 ml di liquido con una siringa ed immetterlo nel contenitore sterile.

Può essere utile raccogliere un secondo campione dopo $\frac{1}{2}$ ora -2 ore, ripetendo l'intera procedura.

Raccolta del campione mediante tampone:

- inserire il tampone in profondità avendo cura di non toccare le regione esterna della piaga/ulcera;
- strisciare il tampone ruotandolo all'interno della piaga/ulcera;
- riporre il tampone nel contenitore con l'apposito terreno.

Conservazione ed invio

Inviare tempestivamente a M&V.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo <i>standard</i>	5 giorni	3-8 giorni

2.6.6 CATETERE VASCOLARE

Indagini microbiologiche

Le complicanze correlate all'uso di cateteri vascolari comprendono infezioni localizzate al sito di inserzione ed infezioni sistemiche con batteriemie. Per la diagnosi eziologica delle infezioni sistemiche a partenza dal catetere vascolare è opportuno l'invio contestuale di emocolture, prelevate da sede periferica diversa da quella in cui si registra l'inserimento del catetere.

La tecnica di Cleri, da noi utilizzata, evidenzia la presenza di microorganismi sia nel lume vascolare che sulla parete della cannula, consentendo di riconoscere infezioni sia intra- che extraluminari. Tale tecnica consente anche la determinazione della carica batterica (CFU): si considera clinicamente significativo un risultato $> 10^3$ CFU/ml.

Il protocollo standard per la valutazione della contaminazione delle cannule vascolari è rivolto alla ricerca di germi "non esigenti". Ricerche specifiche che richiedono l'utilizzo di terreni supplementari e/o di tecniche particolari verranno eseguite dopo colloquio del Medico curante con un Dirigente di M&V: lieviti lipofili (*Malassezia furfur* e *Trichosporon beigeli*) miceti filamentosi;

Materiali necessari

Provetta sterile per catetere vascolare

Procedura di prelievo

- disinfettare la cute pericateretere applicando un impacco (garza o cotone) con antisettico per un minuto;
- rimuovere il catetere, evitando la contaminazione per contatto con superficie non sterili;
- tagliare la punta con forbici sterili per una lunghezza di 5 centimetri;
- riporre la punta della cannula nella provetta sterile

Conservazione ed invio

- inviare tempestivamente il campione ad M&V ;

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo <i>standard</i>	48 ore	48-96 ore

2.6.7 FILI PACE MAKER

Indagini microbiologiche

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".

Materiali necessari

Provetta sterile, contenente 5 ml di brodo nutritivo, disponibili presso M&V, conservata prima dell'uso a 4°C (in frigorifero)

N.B. controllare periodicamente, e sempre prima dell'uso, la data di scadenza

Procedura di prelievo

- disinfettare la cute circostante il punto di inserzione del filo di pace-maker, applicando un impacco (garza o cotone) con antisettico per un minuto;
- rimuovere il filo di pace-maker, evitando la contaminazione per contatto con superficie non sterili;
- tagliare la punta del filo con forbici sterili per una lunghezza di 5 centimetri;
- riporre la punta nella provetta sterile contenente il brodo nutritivo, o, in alternativa: riporre la punta in una provetta sterile aggiungendo 5 ml di acqua distillata.

Conservazione ed invio

- inviare tempestivamente il campione ad M&V
- nel caso di utilizzo di provetta con brodo di coltura è possibile conservare in frigorifero presso l'U.O. di degenza fino ad un massimo di dodici ore.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo <i>standard</i>	48 ore	48-96 ore

2.6.8 IUD

Indagini microbiologiche

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 un medico di M&V.

Materiali necessari

Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite
Soluzione salina sterile (NaCl 0,9%, pH 7.0)

Procedura di prelievo

- il prelievo è manovra di pertinenza specialistica;
- dopo la rimozione lo IUD deve essere raccolto nel contenitore sterile, eventualmente aggiungendo 3-5 ml di acqua distillata o soluzione fisiologica sterile (NaCl 0,9%, pH 7.0).

Conservazione ed invio

Inviare il materiale a M&V, entro 15 minuti dalla raccolta, conservandolo a temperatura ambiente. Se non fosse possibile contattare M&V.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
<i>Actinomyces</i> spp	7 giorni	7-14 giorni

2.6.9 BIOPSIA GASTRICA

Indagini microbiologiche

L'**esame microscopico** diretto abbinato a quello **colturale** delle mucosa gastrica di malati con ulcera gastroduodenale consente di accertare l'eventuale responsabilità eziologica di *Helicobacter pylori* e valutarne la sensibilità ai chemioantibiotici.

Per protocollo standard si intende la ricerca di: *Helicobacter pylori*.

Materiali necessari

Provetta in plastica sterile con tappo a vite
Soluzione salina sterile (NaCl 0,9%, pH 7.0)

Procedura di prelievo

- procedere, come di consueto, alla gastroscopia;
- prelevare due frammenti di mucosa;
- introdurre i frammenti nella provetta sterile,
- aggiungere 1 ml di soluzione fisiologica sterile (NaCl 0,9%, pH 7.0).

Conservazione ed invio

Inviare il materiale a M&V, entro 15' dalla raccolta, conservandolo a temperatura ambiente. Se non fosse possibile contattare M&V.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
<i>Helicobacter pylori</i>	7 giorni	7-15 giorni

2.6.10 BIOPSIE (diverse da biopsia gastrica)

Indagini microbiologiche

Il protocollo standard prevede l'esame colturale per germi "non esigenti" ed "esigenti".
Ulteriori ricerche potranno essere effettuate dopo colloquio con un Medico dell'U.O. Microbiologia e Virologia, quali:

- miceti filamentosi
- virus
- parassiti

Materiali necessari

Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite o provetta sterile con tappo a vite
Soluzione salina sterile (NaCl 0,9%, pH 7.0)

Procedura di prelievo

- prelevare il/i frustoli;
- trasferire i frustoli nel contenitore sterile,
- aggiungere pochi cc di soluzione fisiologica sterile (attenzione! **non** usare formalina).

Conservazione ed invio

- inviare tempestivamente il materiale all'U.O. Microbiologia e Virologia, o conservare il materiale a temperatura ambiente;
- indicare sempre la sede del prelievo nel modulo di richiesta.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo <i>standard</i>	5 giorni	3-8 giorni

2.6.11 VALVOLA CARDIACA

Indagini microbiologiche

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), la valvola è incubata in brodo per 3 settimane.

Ricerche particolari potranno essere effettuate sulla base del sospetto clinico e dopo colloquio con un Dirigente dell'U.O. Microbiologia e Virologia

Materiali necessari

Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite
Soluzione salina sterile (NaCl 0,9%, pH 7.0)

Procedura di prelievo

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

Conservazione ed invio

- Inviare tempestivamente il materiale a M&V, possibilmente entro quindici minuti dalla raccolta. In caso non fosse possibile conservare il materiale a temperatura ambiente;
- contattare M&V.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo <i>standard</i>	21 giorni	4-24 giorni

2.6.12 HOMOGRAFT

Indagini microbiologiche

Gli omoinnesti sono sostituti valvolari - aortici, polmonari - di origine umana che, prelevati da pazienti sottoposti a trapianto cardiaco, da donatore multiorgano a cuore battente o da cadavere in corso di autopsia, 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, pertanto, 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.

Materiali necessari

Provetta contenente brodo tioglicollato
Provetta contenente brodo Sabouraud
Provetta contenente brodo Cuore-Cervello
N.B. Le provette devono essere conservate prima dell'uso presso la Sala Operatoria, a temperatura ambiente (+ 15 - +20° C); verificare periodicamente, e prima dell'uso, la data di scadenza

Procedura di prelievo

procedere, sterilmente, alla resezione di tre frammenti di omoinnesto, approssimativamente di 2 mm x 10 mm;
riporre un frammento in ciascuna delle tre provette.

Conservazione ed invio

E' preferibile inviare tempestivamente il materiale a M&V. E' comunque possibile conservare il campione fino a 12 ore a temperatura ambiente.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo <i>standard</i>	7 giorni	14 giorni

2.6.13 FRAMMENTO OSSEO E SOLUZIONE RINGER DI LAVAGGIO

Indagini microbiologiche

La procedura è applicabile ai frammenti ossei che devono essere sottoposti ad indagine microbiologica per accertarne la sterilità in vista di un loro impianto dopo crioconservazione diversamente dai frammenti ossei da sottoporre a coltura per sospetta infezione, si rimanda al 2.6.10.

Il protocollo standard per la **valutazione della sterilità** dei frammenti ossei considera la ricerca di germi non esigenti, di batteri esigenti aerobi e di miceti.

Tale campione è spesso associato all'invio di **soluzione di lavaggio dell'osso a base di Ringer lattato**, sulla quale vengono effettuate le ricerche sopra menzionate, associate alla coltura per anaerobi.

Materiali necessari

per il frammento osseo Flacons :	Brodo Thioglicollato N.B. Verificare prima dell'uso, la data di scadenza
per la soluzione di Ringer:	Flacone per emocoltura in aerobiosi (tappo bleu) Flacone per emocoltura in anaerobiosi (tappo arancione).

Procedura di prelievo

Frammento osseo

- il prelievo è di competenza strettamente specialistica.;
- il frammento prelevato deve essere riposto nel flacone castaneda dopo apertura del tappo di gomma, che va successivamente riposizionato.

Soluzione di Ringer da lavaggio osseo

- prelevare la soluzione dall'apparecchiatura di trattamento dell'osso e immetterne 10ml in ciascun flacone del set di emocoltura, senza immettere aria.

Conservazione ed invio

- è preferibile inviare tempestivamente il materiale a M&V.
- è comunque possibile conservare il campione fino a dodici ore, a temperatura ambiente.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo <i>standard</i>	21 giorni	4-25 giorni

2.7 APPARATO GASTROENTERICO

2.7.1 FECI O TAMPONE RETTALE

Indagini microbiologiche

L'esame colturale delle feci (coprocultura) è effettuato di routine per:

- enterite in adulto (ricerca di *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Campylobacter spp*);
- enterite in bambino (< 2 anni): esame colturale per ricerca di *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Campylobacter spp*, e ricerca, con metodi immunologici, di *Rotavirus e Adenovirus*;
- enterite pseudomembranosa (in paziente ospedalizzato in terapia chemioantibiotica): ricerca dell'antigene e della tossina di *Clostridium difficile* e di *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Campylobacter spp*;
- enterite emorragica: esame colturale per ricerca di *Escherichia coli* O157 (VTEC) e *Escherichia coli* enteropatogeni, di *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Campylobacter spp*;
- ricerca di portatori di *Salmonella spp* e *Shigella spp*: per screening o per controllo di pregressa infezione o in caso di contatto con malati o portatori;
- ricerca miceti (lieviti), in soggetti trapiantati.

Si rimanda alle relative schede per la ricerca di altri patogeni, quali:

- *Helicobacter pylori*, ricerca Antigene si rimanda al 7.2.;
- *Streptococcus agalactiae* (Streptococco β -emolitico di gruppo B) in neonati e donne gravide, si rimanda al 2.10.1. e 2.10.
- Parassiti, si rimanda al 4.

Altre ricerche possono essere eseguite dopo colloquio con un Medico di M&V, quali:

- *Yersinia spp*, a fronte di sintomatologia tipo appendicite;
- *Aeromonas spp* o *Plesiomonas spp*, nel caso di episodi epidemici ospedalieri;
- *Vibrio spp*, in soggetti di ritorno da soggiorni in aree endemiche.

Le indagini microbiologiche su campioni di feci sono sempre "mirate"; la decisione di quali microrganismi cercare è guidata dal quadro clinico o da motivazioni epidemiologiche. 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.

Materiali necessari

Tampone con terreno di trasporto.
Barattolo per feci

Procedura di prelievo

Le modalità di raccolta si differenziano in base all'indagine richiesta, per garantire la vitalità dei microrganismi ricercati:

Enterite in Adulto	tampone rettale
Enterite in Bambino <2a.	feci + tampone rettale
Enterite Pseudomembranosa	feci
Enterite Emorragica	feci
ric. <i>Salmonella</i> / <i>Shigella</i>	tampone rettale
ric. Miceti	tampone rettale

Raccolta delle feci in barattolo

- raccogliere le feci su una "padella" pulita;
- trasferire nel barattolo una quantità di feci pari ad un cucchiaino;

Raccolta delle feci con tampone:

- raccogliere le feci su una "padella" pulita;
- togliere il tappo del contenitore con terreno di trasporto e gettarlo;
- intingere il tampone (incluso nella confezione, separatamente dal contenitore con la gelatina sul fondo) nelle feci;
- inserire nel contenitore con terreno di trasporto il tampone precedentemente sporcato con le feci.

Conservazione ed invio

La possibilità e modalità di conservazione si differenziano in base al tipo di raccolta:

- feci **in barattolo**: è importante consegnare tempestivamente il campione per garantire la vitalità dei microrganismi. Se ciò non fosse possibile i campioni potranno essere conservati in frigorifero (non in congelatore), al massimo per due ore;
- feci **in tampone**: I campioni potranno essere conservati in frigorifero (non in congelatore) fino a dodici ore.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo *
<i>Salmonella</i> spp	48-72 ore	2-5 giorni
<i>Shigella</i> spp	48-72 ore	2-5 giorni
<i>Campylobacter</i> spp	48-72 ore	4-5 giorni
Rotavirus / Adenovirus	24 ore	24 ore
<i>Escherichia coli</i> entero-emorragici(VTEC)	48-72 ore	2-5 giorni
<i>Clostridium difficile</i> (tossina)	24 ore	24 ore

*in caso di positività l'U.O Microbiologia e Virologia provvede a comunicare via fax o telefono il sospetto di *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Campylobacter* spp.

2.7.2 FECI PER RICERCA HELICOBACTER PYLORI

Indagini microbiologiche

Helicobacter pylori è causa di molte patologie gastrointestinali: dalla gastrite cronica, al linfoma gastrico, all'adenocarcinoma. La ricerca degli antigeni di *Helicobacter pylori* nelle feci consente l'accertamento dell'infezione o dell'avvenuta eradicazione dopo terapia (in questo secondo caso è preferibile eseguire il test per il controllo dell'avvenuta eradicazione di *H. pylori* almeno quattro settimane dopo la sospensione della terapia.).

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

Materiali necessari

Barattolo per feci

Procedura di prelievo

- raccogliere le feci su una "padella" pulita;
- trasferire nel barattolo una quantità di feci pari ad un cucchiaino.

Conservazione ed invio

Consegnare tempestivamente il campione a M&V.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
<i>Helicobacter pylori</i>	48-72 ore	48-72 ore

2.8 VIE URINARIE

2.8.1 URINE

Indagini microbiologiche

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, e si considerano significative cariche $> 10^5$ CFU/ml. E' utile associare l'urinocoltura all'esame urine: la presenza di globuli bianchi nel sedimento, indice di infezione, può aiutare il medico nell'interpretazione del risultato dell'urinocoltura. 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 singolo, riservato a pazienti per i quali non è possibile la raccolta del campione da mitto intermedio o, raramente (tale manovra, invasiva, può essere di per sé causa di infezione) per conferma di risultati dubbi nel prelievo da mitto intermedio.

Urine da catetere permanente, da pazienti portatori di un catetere a permanenza. In assenza di sintomi clinici una positività depone per una colonizzazione vescicale più che per un'infezione delle vie urinarie.

Urine da ...

Con tale dizione 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, se inviati ad M&V, non saranno esaminati.

In casi clinici particolari è opportuno contattare direttamente l'U.O. Microbiologia e Virologia per concordare le modalità di raccolta e le possibili ricerche:

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

Materiali necessari

Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite

Procedura di prelievo

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

Urine da mitto intermedio

Informare il malato 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!), poi asciugare con una salviettina pulita:
- per pazienti di sesso maschile: retrarre il prepuzio; poi lavare l'orifizio uretrale e la zona circostante, quindi sciacquare e asciugare;
- per pazienti di sesso femminile: lavare e risciacquare passando per tre volte dall'avanti all'indietro, l'orifizio uretrale e la zona perineale, poi asciugare con una salviettina pulita;
- aprire il contenitore sterile evitando di toccarne l'interno e/o il coperchio, appoggiando sia il contenitore che il coperchio (rivolto all'insù) su una superficie piana;
- proseguire come di seguito indicato a seconda del sesso del paziente;
- urinare (la donna, divaricando con le dita le grandi labbra della vulva; i maschi, tenendo represso il glande), scartare nella tazza del W.C. la prima parte delle urine emesse (se fosse richiesto anche l'esame completo delle urine: raccogliere il primo mitto urinario in un diverso contenitore, pulito ma non sterile);
- 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 toccarne l'interno.

Urine da sacchetto

- 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 barattolo non sterile (è preferibile non travasare le urine dal sacchetto in altro contenitore, al fine di ridurre la possibilità di contaminazione);
- chiudere il barattolo con cura.

Urine da catetere singolo

- 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 e asciugare;
- introdurre sterilmente il catetere dopo avere indossato guanti sterili;
- lasciare defluire la prima parte delle urine, eliminandola in un contenitore destinato allo scarto. Se fosse richiesto anche l'esame completo delle urine, raccogliere la prima parte delle urine nell'apposito contenitore, pulito ma non sterile);
- procedere alla raccolta delle urine successive in un contenitore sterile.

Urine da catetere permanente

Effettuare il prelievo come di seguito indicato; 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 dispositivo del catetere predisposto per il prelievo;
- raccordare sterilmente alla siringa sterile monouso da 5 ml l'ago sottile (23-25 G);
- inserire l'ago nell'apposito dispositivo ed aspirare delicatamente 2-3 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 clamp.

Conservazione ed invio

- accertarsi che il contenitore sia ermeticamente chiuso in modo che l'urina non fuoriesca durante il trasporto;
- inviare il materiale all'U.O Microbiologia e Virologia entro un'ora dalla raccolta, conservandolo a temperatura ambiente; alternativamente conservare le urine in frigorifero + 4° C (non in congelatore!) per un massimo di dodici ore.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo <i>standard</i>	24 ore	48-96 ore

*Dopo 18-24 ore M&V referta i risultati negativi e una risposta preliminare per gli esami positivi, con indicazione dell'identificazione microbica presuntiva e della relativa carica

2.9 APPARATO GENITALE

2.9.1 SECREZIONE URETRALE

Indagini microbiologiche

Le indagini microbiologiche si effettuano sulle urine da primo mitto e sono indirizzate:

- per l'accertamento eziologico delle **uretriti** alla ricerca di *Neisseria gonorrhoeae* (esame colturale), *Trichomonas vaginalis* (esame microscopico e colturale) e *Chlamydia trachomatis* (ricerca diretta mediante test molecolare). Le ricerche comprendono anche *Haemophilus spp*, recentemente descritto quale possibile agente di uretriti acute.

- per lo **studio dell'infertilità** alla ricerca di *Neisseria gonorrhoeae* (esame colturale e ricerca diretta mediante ibridazione) e *Trichomonas vaginalis* (esame microscopico) e *Chlamydia trachomatis* (ricerca diretta mediante test molecolare), *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis*.

In casi clinici particolari (es. balanopostiti) è opportuno contattare direttamente M&V per concordare le modalità di raccolta e le possibili ricerche.

Materiali necessari

Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite

Procedura di prelievo

La raccolta delle urine da primo mitto è effettuata dal malato, che deve essere quindi accuratamente istruito sulle corrette modalità di raccolta dei campioni.

- i campioni debbono essere prelevati preferibilmente al mattino prima di aver urinato o almeno tre ore dopo l'ultima minzione.

- lavare con cura le mani con acqua e sapone (non usare antisettici!), risciacquare e asciugare;

- lavare con cura i genitali esterni, con acqua e sapone (non usare antisettici!);

- nella donna: lavare e risciacquare passando per tre volte dall'avanti all'indietro, l'orifizio uretrale e la zona perineale,

- nel maschio retrarre il prepuzio; poi lavare l'orifizio uretrale e la zona circostante, quindi sciacquare e asciugare;

- asciugare con una salviettina pulita;

- aprire il contenitore sterile evitando di toccarne l'interno e/o il coperchio, appoggiando sia il contenitore che il coperchio (rivolto all'insù) su una superficie piana;

- raccogliere direttamente (nella donna, divaricando con le dita le grandi labbra della vulva; nei maschi, tenendo retratto il glande) nel recipiente sterile la prima parte delle urine emesse, per una altezza di due dita (3-4 cm);

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

Modalità di invio

- inviare tempestivamente il materiale a M&V, per consentire la vitalità di *Neisseria gonorrhoeae* e *Trichomonas vaginalis*.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo di "uretrite"	3-4 giorni	3-4 giorni
Protocollo di "infertilità"	3-4 giorni	3-4 giorni

2.9.2 TEST DI STAMEY

Indagini microbiologiche

Le infezioni delle prostata (acute e, soprattutto, croniche) sono condizioni cliniche di difficile precisazione eziologica. L'accertamento diagnostico si avvale del test di Stamey, basato sulla valutazione comparativa dei risultati delle colture di:

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

Il test consente la diagnosi eziologica e di localizzazione dell'infezione, rispettivamente di uretrite, cistite o prostatite.

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

Materiali necessari

n. 4 contenitori sterili aerati, con tappo a vite

Procedura di prelievo

- i campioni debbono essere raccolti almeno tre ore dopo l'ultima minzione.
- raccogliere il primo mitto urinario, con le modalità precedentemente specificate (punto "B 8.a.");
- raccogliere le urine da mitto intermedio, con le modalità specificate nel punto "B 7.";
- porre il paziente in posizione genupettorale;
- effettuare il massaggio prostatico;
- raccogliere il secreto prostatico e le prime urine emesse dopo il massaggio prostatico;
- chiudere immediatamente i contenitori, avvitando con cura i tappi ed evitando di toccarne l'interno.

Conservazione ed invio

Tutti i prelievi vengono raccolti nell'ambulatorio di M&V, previo appuntamento, preferibilmente la mattina, non urinando da almeno 3 ore.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo "prostatite"	48 ore	3-7 giorni

2.9.3 SPERMA

Indagini microbiologiche

La spermocoltura è indicata per porre diagnosi eziologica di infezione genitale (prostatite, orchiepididimite) e per l'accertamento di cause infettive di infertilità. L'esame si effettua con la coltura dello sperma. Il test è indirizzato alla ricerca dei batteri classicamente venerei (*Neisseria gonorrhoeae*), di quelli abitualmente residenti a livello uretrale (Enterobatteri, Bacilli Gram negativi non fermentanti il glucosio, cocci Gram positivi, bacilli Gram positivi), *Mycoplasma hominis e genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*.

Materiali necessari

n° 1 contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite

Procedura di prelievo

Istruire accuratamente i pazienti circa la corretta modalità di raccolta dei campioni;

- lavare con cura le mani con acqua e sapone, risciacquare e asciugare con telo pulito;
- procurarsi un contenitore sterile in plastica con tappo a vite;
- lavare con cura i genitali esterni, con acqua e sapone (non usare antisettici!), poi asciugare una salviettina pulita;
- aprire il contenitore senza toccarne le pareti interne;
- raccogliere lo sperma nel contenitore;
- accertarsi che il contenitore sia ermeticamente chiuso in modo che l'urina non fuoriesca durante il trasporto.

Conservazione ed invio

- inviare tempestivamente il materiale a M&V, per consentire la vitalità di *Neisseria gonorrhoeae*.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo <i>standard</i>	48 ore	3-4 giorni

2.9.4 ESSUDATO VAGINALE

Indagini microbiologiche

La diagnosi si avvale di criteri clinici:

- presenza di secrezioni malodoranti e lattiginose nel caso di vaginosi,
- cremose 'a ricotta' nelle infezioni da lieviti,
- profuse gialloverdastre nelle infezioni da *Trichomonas vaginalis*,
- verdastre nelle vulvo-vaginiti da *Haemophilus spp.*;
- nel caso di infezioni da *Streptococcus pyogenes* è presente arrossamento vulvare e dei risultati delle indagini microbiologiche.

Il protocollo standard per 'vaginosi-vaginite' in età adulta è finalizzato alla valutazione di:

- pH vaginale (determinato al momento del prelievo);
- cellularità (globuli bianchi, cellule di sfaldamento, cellule parabasali),
- presenza di lattobacilli e di clue cells (*Gardnerella vaginalis*) e di *Mobiluncus spp.*;
- ricerca di *Trichomonas vaginalis* e lieviti (esame microscopico e/o colturale).

Rivestono un ruolo diagnostico importante, il riscontro del pH vaginale superiore a 4.5, la presenza di globuli bianchi, l'assenza di lattobacilli, il riscontro di elementi microbici patognomonici (ife fungine, clue cells).

Il protocollo standard per 'vulvo-vaginite' in età pediatrica (< 12 anni) è finalizzato alle indagini sopra riferite, oltre alla ricerca di *Streptococcus pyogenes* ed *Haemophilus spp.* Per la ricerca di *Streptococcus agalactiae* (streptococco beta-emolitico di gruppo B) si rimanda al 2.10.2.

Le secrezioni dai fornicci vaginali non sono idonee per la ricerca di *Neisseria gonorrhoeae*, di *Chlamydia trachomatis* e di micoplasmi, per le quali è necessario il prelievo di essudato cervicale.

Materiali necessari

Materiale	Ricerche effettuabili
Tampone con terreno di trasporto Amies	Miceti (Lieviti), <i>Streptococcus piogenes</i> ed <i>Haemophilus spp</i>

Preparazione del paziente

- effettuare il prelievo non nel periodo mestruale per evitare risultati falsamente negativi
- evitare, dalla sera precedente l'esame, il bagno in vasca; potranno, invece, essere effettuati lavaggi esterni;
- evitare, dalla sera precedente l'esame, l'introduzione in vagina di prodotti per l'igiene intima;
- sospendere da almeno tre-quattro giorni l'applicazione di farmaci locali o eventuali terapie generali effettuate per infezioni vaginali;
- astenersi, nelle 24 ore che precedono il prelievo, da rapporti sessuali.

Procedura di prelievo

Per la ricerca completa occorre associare le modalità sopra descritte, come di seguito indicato:

- porre la donna in posizione ginecologica;
- assicurare una sorgente appropriata di illuminazione, per visualizzare la sede ove operare il prelievo;
- nella donna, non nella bambina, posizionare lo speculum, eventualmente lubrificato con acqua corrente tiepida (l'uso dello speculum è necessario solo se vi è la contestuale richiesta di tampone cervicale);
- con tampone in dacron asportare dalla vagina le eventuali secrezioni.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Età adulta	48 ore	48-96 ore
Età pediatrica	48 ore	48-96 ore

2.9.5 ESSUDATO CERVICALE

Indagini microbiologiche

Le ricerche sono indirizzate alla diagnosi di **cervicite o di infertilità**:

- esame colturale per *Neisseria gonorrhoeae*
- test molecolare per *Chlamydia trachomatis*;
- esame colturale per *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis*

Materiali necessari

Speculum

3 tamponi in dacron o cotone

Tampone con terreno di trasporto di Amies

Kit per il prelievo di per *Chlamydia trachomatis*;

Kit per il prelievo di *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis*

Preparazione del paziente

- effettuare il prelievo al di fuori del periodo mestruale;
- informare la paziente che per la corretta esecuzione dell'esame dovrà:
- evitare, dalla sera precedente l'esame, il bagno in vasca; potranno, invece, essere effettuati lavaggi esterni;
- evitare, dalla sera precedente l'esame, l'introduzione in vagina di prodotti per l'igiene intima;
- sospendere, almeno nei 3-4 giorni precedenti il prelievo l'applicazione di farmaci locali o eventuali terapie generali effettuate per infezioni vaginali;
- astenersi, nelle 24 ore che precedono il prelievo, da rapporti sessuali;

Procedura di prelievo

- porre la paziente in posizione ginecologica;
- rivolgere la paziente verso una sorgente appropriata di illuminazione, per visualizzare la sede ove operare il prelievo;
- posizionare lo speculum, eventualmente lubrificato con acqua corrente tiepida;
- con tampone in dacron o in cotone asportare dalla esocervice uterina eventuali secrezioni fino a visualizzare in modo pulito la cervice stessa
- con tampone asportare dalla eso-endocervice uterina le secrezioni ed inserire il tampone nella provetta del kit per *Chlamydia trachomatis*;
- ripetere l'operazione per la coltura standard e per il *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis*

Conservazione ed invio

il prelievo viene eseguito presso l'ambulatorio di M&V

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo standard 'cervicite'	3-4 giorni	3-4 giorni
Protocollo standard 'infertilità'	3-4 giorni	3-4 giorni

2.10 SCREENING NEONATALE E MATERNO

2.10.1 NEONATO, RICERCA *S. AGALACTIAE*

Indagini microbiologiche

Streptococcus agalactiae (Streptococco -emolitico di gruppo B) è l'agente eziologico più frequentemente in causa quale responsabile di gravi infezioni neonatali (sepsi, meningiti, polmoniti).
Le indagini microbiologiche sono mirate a tale microrganismo e si effettuano in genere su:

- tampone faringeo
- tampone auricolare
- tampone rettale
- aspirato gastrico

Materiali necessari

Tampone con terreno di trasporto di Amies

Flacone per emocoltura in aerobiosi (tappo rosa)

Procedura di prelievo

- per i materiali raccolti con tampone si procede come indicato nei relativi materiali.(essudato faringeo 2.4.1., secrezione auricolare 2.4.2, tampone rettale 2.7.1.);
- l'aspirato gastrico, se raccolto con sondino, viene immesso in un flacone per emocolture.

Conservazione ed invio

Tempi di invio non critici. Il campione può essere conservato a temperatura ambiente fino a 12 ore.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo standard	18-48 ore	48-72 ore

2.10.2 MADRE, RICERCA *S. AGALACTIAE*

Indagini microbiologiche

Streptococcus agalactiae (Streptococco - 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 vaginale e rettale alla 35-37° settimana o, nel caso non sia stato possibile, al momento del parto.

Materiali necessari

Tampone con terreno di trasporto di Amies

Procedura di prelievo

Per i materiali raccolti con tampone si procede come indicato nei relativi materiali (si rimanda al 2.7.1. e 2.9.4.).

Conservazione ed invio

Tempi di invio non critici. Il campione può essere conservato a temperatura ambiente fino a 12 ore.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo <i>Standard</i>	18-48 ore	48-72 ore

3 RICERCA MICOBATTERI

3.1 ASPETTI GENERALI

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

- 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 del processo patologico. 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.

3.2 SANGUE

Indagini microbiologiche

L'emocoltura per micobatteri trova indicazione nei soggetti immunocompromessi, in particolare in quelli affetti da AIDS, per la diagnosi microbiologica delle micobatteriosi disseminate. M&V effettua l'esame colturale con metodo radiometrico.

Materiali necessari

Flacone per emocoltura micobatteri (tappo rosso)

Procedura di prelievo

E' consigliabile procedere all'esecuzione di tre emocolture, effettuando i **tre prelievi** a distanza di trenta minuti l'uno dall'altro

Modalità di prelievo

- individuare il sito di prelievo;
- lavare accuratamente le mani con acqua e sapone;
- disinfettare la cute con antisettico a base di clorexidina 0.5 in soluzione alcoolica (Neoxinal alcoolico), 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;
- rimuovere il cappuccio dai flaconi per emocoltura e disinfettarne il tappo di gomma applicandovi, per almeno un minuto, un impacco dello stesso antisettico utilizzato per la disinfezione della cute;
- predisporre il collegamento del set sterile con l'apposito connettore di plastica, da utilizzare in fase di prelievo per entrambi i flaconi;
- rimuovere l'impacco e lasciare asciugare di cute;
- indossare guanti non sterili;
- introdurre l'ago in vena, senza toccare con le dita la cute disinfettata (se necessario, indossare guanti sterili): nel caso risulti difficile reperire l'accesso venoso, è necessario provvedere alla sostituzione dell'ago del set di prelievo, prima di riprendere la manovra di prelievo;
- collegare al set di prelievo il flacone;
- prelevare **10 ml di sangue**;
- rimuovere prontamente il flacone dall'apposito connettore di plastica estrarre l'ago dalla vena e scartare il set in un contenitore rigido;
- rimuovere i guanti e gettarli nel contenitore per rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo;
- lavare le mani con acqua e sapone;
- compilare l'etichetta apposta su ciascun flacone con le informazioni relative al paziente: numero di identificazione, cognome e nome, data e ora di prelievo.

Fare attenzione a non sovrapporre l'etichetta con il codice R.I. sul codice a barre del flacone. Non ricoprire il tappo con cerotti e/o garze

Conservazione ed invio

- inviare tempestivamente il materiale all'U.O. Microbiologia e Virologia, non oltre le 24 ore conservandolo a temperatura ambiente;

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Micobatteri	6 settimane	2-8 settimane

3.3 URINE

Indagini microbiologiche

L'indagine consiste nell'esame microscopico (ricerca di bacilli alcool-acido resistenti) e nell'esame colturale. Si procede alla esecuzione dei test di sensibilità nel caso di isolamento di *Mycobacterium TB complex*. Se richiesto si può procedere alla ricerca diretta mediante test di rilevazione del di *Mycobacterium tuberculosis complex*.

Materiali necessari

Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite

Procedura di prelievo

- raccogliere campioni in tre giorni diversi;
- prelevare almeno 50 ml di urine;
- valgono le indicazioni segnalate per la raccolta delle urine da mitto intermedio per indagini di Batteriologia/Micologia (2.8.1.).

Conservazione ed invio

Valgono le indicazioni segnalate per la raccolta delle urine da mitto intermedio per indagini di Batteriologia/Micologia 2.8.1.).

Tempi di refertazione

Germi ricercati: Micobatteri	Campione negativo	Campione positivo
Es.microscopico (ric.bacilli acido alcool resistenti)	24 ore	24 ore
Es.colturale	6 settimane	2-10 settimane
PCR	2-4 giorni	2-4 ore

3.4 SECREZIONI RESPIRATORIE

Indagini microbiologiche

La ricerca di micobatteri si può effettuare su tutti i campioni di secrezioni respiratorie e 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 TB complex*. Se richiesto si può procedere alla ricerca diretta mediante test di rilevazione del di *Mycobacterium tuberculosis complex*.

Materiali necessari

Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite

Procedura di prelievo

- se espettorato, raccogliere campioni in tre giorni diversi;
- valgono le indicazioni segnalate per la raccolta di secrezioni respiratorie per indagini di Batteriologia/Micologia (2.3.).

Conservazione ed invio

Valgono le indicazioni segnalate per la raccolta di secrezioni respiratorie per indagini di Batteriologia/Micologia (2.3)

Tempi di refertazione

Germi ricercati: Micobatteri	Campione negativo	Campione positivo
Es.microscopico (ric.bacilli acido alcool resistenti)	24 ore	24 ore
Es.colturale	6 settimane	2-10 settimane
PCR	2-4 giorni	2-4 ore

3.5 ALTRI MATERIALI

Indagini microbiologiche

La ricerca di Micobatteri può essere effettuata su numerosi materiali, diversi da quelli esposti nelle schede precedenti:

- aspirato gastrico (utile nel bambino e in caso di mancata o scarsa espettorazione);
- liquor cefalo rachidiano (i micobatteri sono responsabili di meningiti a liquor limpido);
- liquido pleurico (in caso di versamento concomitante a localizzazione polmonare dell'infezione);
- raccolte purulente;
- biopsie;
- feci.

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 TB complex*. Se richiesto si può procedere alla ricerca diretta mediante test di rilevazione del di *Mycobacterium tuberculosis complex*.

Materiali necessari

Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite

Conservazione ed invio

- il succo gastrico deve essere inviato immediatamente a M&V;
- gli altri campioni possono essere conservati a + 4C per 48 ore.

Tempi di refertazione

Germi ricercati: Micobatteri	Campione negativo	Campione positivo
Es.microscopico (ric.bacilli acido alcool resistenti)	24 ore	24 ore
Es.colturale	6 settimane	2-10 settimane
PCR	2-4 giorni	2-4 ore

4 RICERCA PARASSITI

4.1 ASPETTI GENERALI

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;
 - contatti stretti con individui affetti da parassitosi trasmissibili per via orofecale o da ectoparassiti (pidocchi);
 - immunodepressi per patologia o terapia;
 - 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, effettuato presso centri di riferimento.

Di seguito sono riportate indicazioni per le ricerche più frequenti. Per altre ricerche (quali scraping cutaneo per leishmaniasi cutanea, lesioni oculari da *Acanthamoeba* spp, liquor per Tripanosomiasi) si prega di contattare un Dirigente di M&V.

Di *Trichomonas vaginalis*, infine, si parla nella scheda sull'essudato vaginale si rimanda al 2.9.4.

4.2 SANGUE PER RICERCA MALARIA ED ALTRI PARASSITI

Indagini microbiologiche

Il sangue periferico (o talora il sangue midollare) costituisce il materiale di elezione per la diagnosi eziologica di parassitosi di importazione:

- **malaria** (*Plasmodium spp*)
- **tripanosomiasi**
- **filariosi**

Il sangue midollare lo è invece per porre diagnosi di **leishmaniosi**.

L'indagine microbiologica si basa sulla lettura dello striscio di sangue dopo colorazione; per la malaria si eseguono di routine anche la ricerca su goccia spessa. Le indagini sono sempre mirate e trovano indicazione in pazienti che abbiano soggiornato in zone endemiche e presentino sintomatologia compatibile. Altre ricerche (es. microfilarie di *Wuchereria bancrofti* e di *Oncocerca volvulus*) saranno effettuate dopo contatto con M&V.

Materiali necessari

Provetta con EDTA per emocromo, vacutainer, tappo violetto

Tempo del prelievo

Il tempo del prelievo può essere critico, in relazione al ciclo biologico dei parassiti.

Per la diagnosi di **malaria** il prelievo dovrebbe essere eseguito durante la puntata febbrile. E' possibile effettuare la ricerca anche in assenza di febbre: se negativa, deve però essere ripetuta al primo rialzo termico. Anche per la ricerca di altri parassiti il tempo del prelievo può essere critico, in relazione al ciclo biologico dei parassiti: è opportuno prendere accordi con un Dirigente di M&V prima di procedere al prelievo.

Modalità

- individuare il sito di prelievo;
- lavare accuratamente le mani e indossare i guanti non sterili;
- disinfettare la cute.
- introdurre l'ago in vena, senza toccare con le dita la cute disinfettata;
- collegare al set di prelievo la provetta per emocromo addizionata con EDTA;
- prelevare non più di 3 ml di sangue;
- estrarre l'ago dalla vena;
- rimuovere i guanti e gettarli nel contenitore per rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo

Conservazione ed invio

Inviare tempestivamente il materiale all'U.O. Microbiologia e Virologia; ove non fosse possibile, conservare a temperatura ambiente fino ad un massimo di tre ore. Per gli esami in urgenza è sempre reperibile un Dirigente di M&V.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Parassita malarico	48 ore	2-48 ore
Altri parassiti	48 ore	2-48 ore

*I risultati saranno refertati via fax o telefono, cui farà seguito il referto definitivo

4.3 URINE

Indagini microbiologiche

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

Materiali necessari

Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite

Preparazione del paziente

- 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.

Procedura di prelievo

Raccogliere nello stesso contenitore le prime urine emesse (pochi cc), parte del mitto intermedio (pochi cc) e le ultime urine emesse (pochi cc).

Conservazione ed invio

Inviare tempestivamente il materiale all'U.O. Microbiologia e Virologia, entro quindici minuti dalla raccolta, conservandolo a temperatura ambiente. Ove non fosse possibile contattare M&V.

Tempi di refertazione

<i>Germi ricercati</i>	<i>Campione negativo</i>	<i>Campione positivo</i>
<i>Schistosoma</i> spp.	24 ore	24 ore

4.4 ASPIRATO DUODENALE

Indagini microbiologiche

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

- *Strongyloides stercoralis*
- *Giardia lamblia*
- *Criptosporidium parvum*

La ricerca è sempre mirata e su richiesta specifica.

Preparazione del paziente

Effettuare il prelievo a digiuno

Procedura di prelievo

Il campione può essere raccolto:

- con aspirato duodenale, immettendo parte dell'aspirato nel contenitore sterile, senza additivi;

Conservazione ed invio

Inviare tempestivamente il materiale all'U.O. Microbiologia e Virologia, entro quindici minuti dalla raccolta, conservandolo a temperatura ambiente. Ove non fosse possibile contattare M&V.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Protocollo <i>standard</i>	24 ore	24 ore

4.5 FECCI

Indagini microbiologiche

L'esame parassitologico delle feci, per ricerca parassiti e loro uova, viene effettuato su campione 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, quali *Giardia intestinalis*, coccidi (*Cryptosporidium parvum*, *Isospora belli*, *Cyclospora cayetanensis*) 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 (v. sotto).

E' opportuno contattare M&V per altre ricerche quali:

- *Entamoeba histolitica* (diarrea mucoematica, in soggetti che abbiano soggiornato in zone endemiche, rarissima nel nostro Paese);
- *Dientamoeba fragilis* (disturbi dell'alvo senza altra causa);
- microsporidi (*Microsporidium spp*) (diarrea acquosa in immunodepressi);
- vermi adulti o parti di esso.

Materiali necessari

Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite
Scotch.
Abbassalingua.
Vetrino.

Procedura di prelievo

Ricerca *Cryptosporidium spp.* o esame coproparassitologico

- raccogliere le feci su una superficie pulita;
- trasferire nel barattolo una quantità di feci pari a circa 2 gr. o 2 ml includendo le porzioni con muco e/o sangue.

Ricerca *Enterobius vermicularis* con scotch test

- disporre del nastro adesivo trasparente (5-6 cm) su un abbassalingua con la parte adesiva all'esterno, tenendo le due estremità tra pollice e indice;
- appoggiare l'abbassalingua con lo scotch all'orifizio anale;
- far aderire lo scotch alle pareti della mucosa anale per raccogliere le eventuali uova di ossiuri presenti;
- far aderire la parte adesiva dello scotch su un vetrino.

Conservazione ed invio

Inviare tempestivamente il materiale all'U.O. Microbiologia e Virologia, entro quindici minuti dalla raccolta, conservandolo a temperatura ambiente. Ove non fosse possibile contattare M&V.

Tempi di refertazione

Germi ricercati	Campione negativo	Campione positivo
Elminti e <i>Giardia intestinalis</i>	24-96 ore	24-96 ore
<i>Cryptosporidium spp</i>	24-96 ore	24-96 ore
<i>Enterobius vermicularis</i>	24-96 ore	24-96 ore

5.1 ASPETTI GENERALI

Le indagini siero-immunologiche permettono la diagnosi di infezioni pregresse o in atto, determinando la presenza e la quantità di anticorpi circolanti, prodotti dal paziente verso il microrganismo responsabile dell'infezione. La risposta anticorpale diventa rilevabile dopo un periodo che si aggira attorno ai 7-14 giorni a seconda del microrganismo infettante. I primi anticorpi che compaiono appartengono alla classe IgM: il loro titolo aumenta fino ad un certo livello per poi decrescere in tempi diversi, in genere dopo 3 mesi circa. Contemporaneamente si rileva la comparsa degli anticorpi della classe IgG, che - dopo un iniziale incremento - si stabilizzano su livelli costanti nel tempo (mesi, anni e - in alcuni casi - tutta la vita) a testimonianza che l'organismo è venuto a contatto con il germe specifico (memoria immunologica).

Gli anticorpi di classe IgG, infatti, intervengono rapidamente nella risposta immunitaria secondaria, proteggendo il nostro organismo dall'azione patogena del germe.

La ricerca e la quantificazione degli anticorpi nel siero viene effettuata per:

- **valutare lo stato immunitario del paziente.**

E' il caso, ad esempio, dello screening pre-gravidanza per la rosolia e la toxoplasmosi, la cui finalità è quella di accertare - valutando la presenza di anticorpi - la "protezione" verso questi agenti. Diversamente, per evitare che la prima esposizione nel periodo gestazionale a tali microrganismi possa determinare gravi danni al feto, sarà possibile sottoporre la paziente alla vaccinazione, per la rosolia o adottare specifiche norme igieniche, nel caso della toxoplasmosi.

- **porre diagnosi di infezione in atto.**

Ciò è possibile:

- dimostrando l'incremento anticorpale in due campioni di siero prelevati rispettivamente in fase acuta di malattia e in fase di convalescenza (in genere a distanza di 10-20 giorni tra loro);
- rilevando la presenza di IgM specifiche in un solo campione, se il metodo lo consente;
- rilevando la presenza degli antigeni, se circolanti.

Le indagini siero-immunologiche vengono eseguite su campioni di siero, pertanto il sangue deve essere raccolto in provette senza anticoagulante.

E' preferibile effettuare il prelievo a paziente digiuno, per evitare sieri lipemici.

5.2 INDAGINI SU SIERO

Indagini sieroimmunologiche

Le indagini sieroimmunologiche 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
- marcatori tumorali
- allergologia

L'elenco delle indagini è riportato nelle pagine successive

Materiali necessari

Indagini su siero: provetta vacutainer tappo rosso, da 10 ml.

Modalità di prelievo

- effettuare il prelievo preferibilmente a digiuno;
- 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 10 ml di sangue;
- estrarre l'ago dalla vena;
- rimuovere i guanti e gettarli nel contenitore per rifiuti speciali.

Conservazione ed invio

I campioni di sangue devono essere raccolti in provette tipo vacutainer senza anticoagulante ,inviate in laboratorio a temperatura ambiente(per evitare l'emolisi). In campione deve essere processato subito oppure conservare il siero per 24-48 ore in frigo o a $-20^{\circ}\text{C}/-80^{\circ}\text{C}$ per periodi più lunghi.

Tempi di refertazione

La periodicità di esecuzione delle sedute analitiche è indicata nel tabulato analitico delle prestazioni sieroimmunologiche effettuate dall'U.O. Microbiologia e Virologia (vedi punto 6.4)

5.3 INDAGINI SU LIQUIDI BIOLOGICI

Indagini sieroimmunologiche

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

- liquor cefalorachidiano (Sierologia per lue, Ricerca antigene criptococcico);
- urine (Antigene di Legionella, Pneumococco)
- feci (Antigene e tossina *Clostridium difficile*).

5.4 INDAGINI SIEROIMMUNOLOGICHE (elenco)

INDAGINI SIEROIMMUNOLOGICHE
ADENOVIRUS ANTICORPI IgA, IgM
AMEBA ANTICORPI IG
ASPERGILLUS FUMIGATUS ANTICORPI IgA, IgM, IgG
BABESIA ANTICORPI IgG, IgM
BARTONELLA HENSEALE ANTICORPI IgM, IgG
BORDETELLA PERTUSSIS ANTICORPI IgM, IgG
BORRELIA AFZELI E GARINII ANTICORPI IgM, IgG IMMUNOBLOTTING
BORRELIA ANTICORPI IgM, IgG
BRUCELLA ANTICORPI IgM, IgG
CAMPILOBACTER ANTICORPI IgA, IgM, IgG
CANDIDA ANTICORPI IgA, IgM, IgG
CHIKUNGUNIA VIRUS ANTICORPI Ig TOTALI
CHLAMYDIA PNEUMONIAE ANTICORPI IgM, IgG
CHLAMYDIA PSITTACI ANTICORPI IgM, IgG
CHLAMYDIA TRACHOMATIS ANTICORPI IgM, IgG
CISTICERCOSI ANTICORPI Ig TOTALI IMMUNOBLOTTING
CITOMEGALOVIRUS ANTICORPI IgM, IgG
CITOMEGALOVIRUS AVIDITA' IGG
COXIELLA B ANTICORPI Ig FASE 1
COXIELLA B ANTICORPI IgFASE 2
COXSACHIE VIRUS A Ig TOTALI (fissazione del complemento)
COXSACHIE VIRUS B Ig TOTALI (fissazione del complemento)
DENGUE ANTICORPI Ig TOTALI
DIFTERITE ANTICORPI IgG ANTI TOSSINA
ECHINOCOCCUS GRANULOSUS ANTICORPI Ig Totali (IHA)
ECHINOCOCCUS GRANULOSUS ANTICORPI Ig Totali (immunoblotting)
ECHO VIRUS NEUROTROPI (fissazione del complemento)
ECHO VIRUS PNEUMOTROPI (fissazione del complemento)
EHRlichia ANTICORPI IgM, IgG
EPATITE A (HAV) ANTICORPI IGG
EPATITE A (HAV) ANTICORPI IGM
EPATITE B c-HBV IGM ANTICORPI
EPATITE B c-HBV IGM ANTICORPI in UI/PEI quantitativo
EPATITE B s-HBV ANTIGENE
EPATITE B s-HBV ANTIGENE QUANTITATIVO

EPATITE B c-HBV Anticorpi
EPATITE B e-HBV ANTICORPI
EPATITE B e-HBV ANTIGENE
EPATITE B s-HBV ANTICORPI
EPATITE C (HCV) ANTICORPI
EPATITE C (HCV) TEST DI CONFERMA
EPATITE DELTA (HDV) ANTICORPI IgM, IgG
EPATITE E ANTICORPI Ig TOTALI
EPSTEIN BARR VIRUS EBNA ANTICORPI IgG
EPSTEIN BARR VIRUS EA ANTICORPI IgG
EPSTEIN BARR VIRUS VCA ANTICORPI IgG
EPSTEIN BARR VIRUS VCA ANTICORPI IgM
FASCIOLA EPATICA ANTICORPI IgG IMMUNOBLOTTING
HANTAVIRUS ANTICORPI IgM, IgG
HELICOBACTER PYLORI ANTICORPI IgG
HELICOBACTER PYLORI Cag-A IgA
HERPES SIMPLEX VIRUS 1-2 ANTICORPI IgM, IgG
HERPES SIMPLEX VIRUS 2 ANTICORPI IgG
HERPES VIRUS 6 ANTICORPI I IgM, IgG
HERPES VIRUS 8 LATENTE ANTICORPI IgG
HERPES VIRUS 8 LITICO ANTICORPI IgG
HIV TEST DI CONFERMA
HIV ANTICORPI
HTLV 1/2 Ig TOTALI
INFLUENZA A ANTICORPI IgA, IgM
INFLUENZA B ANTICORPI IgA, IgM
LEGIONELLA ANTICORPI IgM, IgG
LEISHMANIA ANTICORPI IGG
LEISHMANIA ANTICORPI IgG (IMMUNOBLOTTING)
LEPTOSPIRA ANTICORPI Ig TOTALI
LISTERIA ANTICORPI Ig TOTALI
MICOPLASMA ANTICORPI IgM, IgG
MORBILLO ANTICORPI IgM, IgG
PARAINFLUENZA ANTICORPI IgA, IgM
PAROTITE ANTICORPI IgM, IgG
PAROTITE ANTICORPI IGM
PARVOVIRUS B19 ANTICORPI IgM, IgG
PLASMODIUM FALCIPARUM ANTICORPI IgG
POLIO VIRUS ANTICORPI Ig TOTALI
RESPIRATORIO SINCIZIALE VIRUS ANTICORPI IgA, IgM
RICKETTSIA RICKETTSII ANTICORPI IgM, IgG
RICKETTSIA TYPHI ANTICORPI IgM, IgG
ROSOLIA AVIDITA' IGG
ROSOLIA ANTICORPI IgM, IgG
SALMONELLA ENTERITIDIS ANTICORPI Ig TOTALI
SCHISTOSOMA ANTICORPI IgG IMMUNOBLOTTING
STREPTOLISINICO ANTICORPI TITOLAZIONE (TAS)

TBE ANTICORPI I IgM, IgG
TETANO ANTICORPI IgG ANTI TOSSINA
TOSCANA VIRUS ANTICORPI IgM, IgG
TOXOCARA ANTICORPI IgG IMMUNOBLOTTING
TOXOPLASMA ANTICORPI IgM, IgG, IgA
TOXOPLASMA AVIDITA' IgG
TREPONEMA PALLIDUM ANTICORPI IgG (SCREENING)
TREPONEMA PALLIDUM ANTICORPI IgM, IgG IMMUNOBLOTTING
TREPONEMA PALLIDUM VDRL
TRICHINELLA SPIRALIS ANTICORPI IgG IMMUNOBLOTTING
TRIPANOSOMA ANTICORPI IgG IMMUNOBLOTTING
VARICELLA ZOSTER ANTICORPI IgM, IgG
WEIL FELIX
WEST NILE VIRUS ANTICORPI IgM, IgG
WIDAL - WRIGHT
YERSINIA ANTICORPI IgA, IgG

6. INDAGINI VIROLOGICHE DIRETTE

6.1 ASPETTI GENERALI

Le indagini virologiche dirette sono indirizzate alla ricerca dei microorganismi attraverso la ricerca di antigeni o del loro genoma.

Ricerca antigeni virali su aspirato naso-faringeo:

- Virus respiratorio sinciziale (RSV)
- Adenovirus

Ricerca genoma virale/batterico/parassitologico

di seguito l'elenco delle indagini molecolari eseguibili e il tipo di campione dove ricercare i rispettivi microorganismi per patologia

6.2 INDAGINI VIROLOGICHE

Elenco microorganismi ricercati mediate tecniche molecolari	Tipo di campione
ADENOVIRUS DNA	SECRETO CONGIUNTIVALE, CAMPIONI RESPIRATORI, SANGUE INTERO
ASPERGILLUS DNA	CAMPIONI RESPIRATORI
CHLAMYDIA TRACHOMATIS DNA	ESSUDATO CERVICALE, SECRETO URETRALE, SPERMA, SECRETO PROSTATICO, URINA 1° MITTO
CITOMEGALOVIRUS DNA	PLASMA, LATTE MATERNO, SANGUE INTERO, URINA, LIQUIDO AMNIOTICO, FECI, CAMPIONI RESPIRATORI
CLAMIDIA PNEUMONIAE DNA	CAMPIONI RESPIRATORI
ENTEROVIRUS " 5' UTR " RNA	LIQUIDO CEFALORACHIDIANO, FECI
EPATITE B HBV DNA TEST QUALI/QUANTITATIVO	SIERO O PLASMA
EPATITE B HBV GENE POLYMERASE " YMDD" RESISTENZA Totale	SIERO O PLASMA
EPATITE C HCV RNA GENOTIPIZZAZIONE	SIERO O PLASMA
EPATITE C HCV RNA TEST QUALI/QUANTITATIVO Totale	SIERO O PLASMA
EPATITE DELTA HDV RNA QUANTITATIVO	SIERO O PLASMA
EPSTEIN BARR " BAMHI - W " DNA	SANGUE INTERO, LINFOCITI, PLASMA
HERPES SIMPLEX VIRUS 1 DNA	VESCICOLE CUTANEE O MUCOSE, LIQUIDO CEFALORACHIDIANO, CAMPIONI GENITALI: CERVICIALE, VULVA, BALANO PREPUZIALI, SECRETO URETRALE
HERPES SIMPLEX VIRUS 2 DNA	VESCICOLE CUTANEE O MUCOSE, LIQUIDO CEFALORACHIDIANO, CAMPIONI GENITALI: CERVICIALE, VULVA, BALANO PREPUZIALI, SECRETO URETRALE
HIV - RNA TEST QUANTITATIVO	SIERO O PLASMA
HIV 1 GENE POL, REGIONE PROTEASE/ TRASCRIPTASE totale	SIERO O PLASMA
HUMAN HERPES VIRUS 6 DNA	SANGUE INTERO, LIQUIDO CEFALORACHIDIANO, PLASMA
HUMAN HERPES VIRUS 8 DNA	SANGUE INTERO, SALIVA, SIERO O PLASMA
INFLUENZA A H1N1v RNA	CAMPIONI RESPIRATORI
INFLUENZA A RNA	CAMPIONI RESPIRATORI
INFLUENZA B RNA	CAMPIONI RESPIRATORI, PLASMA
JC VIRUS DNA	URINA, SANGUE INTERO, SIERO, LIQUIDO CEFALORACHIDIANO
BK VIRUS DNA	URINA, PLASMA, LCR

LEGIONELLA DNA	CAMPIONI RESPIRATORI
LEISHMANIA DNA	SANGUE INTERO
METAPNEUMOVIRUS RNA	CAMPIONI RESPIRATORI
MICOPLASMA GENITALIUM DNA	CAMPIONI GENITOURINARI
MICOPLASMA PNEUMONIAE DNA	CAMPIONI RESPIRATORI
PAPILLOMA VIRUS DNA CON GENOTIPIZZAZIONE	CAMPIONI GENITALI: CERVICE, VULVA, BALANO PREPUZIALI, , URINA, SECRETO URETRALE, TAMPONE ORALE
PARVOVIRUS B19 " NUCLEOCAPSIDE " DNA	SIERO O PLASMA, MIDOLLO OSSEO
RESPIRATORIO SINCIZIALE VIRUS RNA	CAMPIONI RESPIRATORI
ROSOLIA " CAPSIDE E1 "RNA	LIQUIDO AMNIOTICO, SANGUE INTERO E URINA (NEONATO)
TOSCANA VIRUS RNA	LIQUIDO CEFALORACHIDIANO
TOXOPLASMA GONDII " REGIONE RE " DNA	LIQUIDO AMNIOTICO, SANGUE INTERO
VARICELLA ZOSTER" MAJOR DNA BINDING PROTEIN " DNA	LIQUIDO CEFALO RACHIDIANO, VESCICOLE CUTANEE O MUCOSE, SANGUE INTERO, SALIVA, PLASMA, CAMPIONI RESPIRATORI

6.3 Ag VIRALI SU ASPIRATO NASO-FARINGEO

Indagini microbiologiche

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;
- Adenovirus, responsabili di infezioni acute delle alte e basse vie respiratorie con quadri sintomatologici similinfluenzali.

Materiali necessari

Tubicino per aspirazione naso-faringea
Contenitore sterile a bocca larga con tappo a vite

Modalità di prelievo

- inserire il tubicino nel naso-faringeo;
- applicare l'aspirazione;
- immettere 2-3 ml di fisiologica attraverso il tubicino;
- riaspirare e trasferire il campione nel contenitore sterile (almeno 500 μ l di secrezioni naso-faringee).

Conservazione ed invio

Il contenitore con il campione biologico deve essere consegnato immediatamente in Microbiologia

Tempi di refertazione

24-48 ore

6.4 DNAEMIA CYTOMEGALOVIRUS

Indagini microbiologiche

La ricerca si effettua con un test molecolare su sangue intero. L'indagine trova indicazione per la diagnosi di infezione CMV in soggetti immunodepressi (in particolare AIDS e trapiantati), per il monitoraggio di soggetti trapiantati di organi solidi e di midollo per predire l'infezione sintomatica e per il follow up della terapia.

Materiali necessari

Provetta con eparina, vacutainer tappo viola

Modalità di prelievo

La provetta deve essere inviata a M&V immediatamente dopo il prelievo e deve pervenire ad M&V

Tempi di refertazione

2 giorni

6.5 HBV-DNA

Indagini microbiologiche

La ricerca quali-quantitativa del genoma virale di HBV viene eseguita mediante Real Time PCR, per l'identificazione precoce e per stadiare l'infezione, nel monitoraggio terapeutico

Materiali necessari

Provetta vacutainer con tappo rosso

Conservazione ed invio

I campioni di sangue devono essere raccolti in provette tipo vacutainer senza anticoagulante, inviate in laboratorio a temperatura ambiente(per evitare l'emolisi). Il campione deve essere processato subito oppure conservare il siero per 24-48 ore in frigo

Tempi di refertazione

L'indagine viene effettuata una volta la settimana.

6.6 RICERCA GENOMA HCV

Indagini microbiologiche

La ricerca del genoma virale di HCV è eseguita mediante dosaggio quali-quantitativo di HCVRNA con Real Time PCR nella diagnosi di infezione di epatite C e nel monitoraggio della terapia antivirale .
La ricerca del genotipo HCV è utile per una valutazione prognostica e per studi epidemiologici;

Materiali necessari

Provetta vacutainer con tappo rosso

Modalità di prelievo

Valgono le indicazioni segnalate per le indagini di sieroinmunologia

Conservazione ed invio

Il campione di sangue deve essere raccolto in provetta tipo vacutainer senza anticoagulante ed inviato in laboratorio a temperatura ambiente (per evitare l'emolisi). In campione deve essere processato subito oppure conservare il siero per 24-48 ore in frigo .

Tempi di refertazione

La periodicità di esecuzione delle sedute analitiche è la seguente:

- HCV quali-quantitativo: una seduta la settimana;
- Genotipo: una seduta la settimana.

6.7 RICERCA GENOMA HIV

Indagini microbiologiche

Le ricerche sono effettuate su pazienti con sierologia positiva per HIV (test di screening) o con comportamenti a rischio ed è utile nella diagnosi precoce, per stadare l'infezione e per monitorare l'efficacia terapeutica, insieme al dosaggio dei CD4 e CD8;

Mediante sequenziamento si valuta il genotipo HIV e la farmaco resistenza, sempre finalizzato alla scelta della terapia antivirale.

Materiali necessari

Provetta vacutainer tappo viola

Modalità di prelievo

Valgono le indicazioni segnalate per le indagini di sieroimmunologia

Conservazione ed invio

I campioni di sangue devono essere raccolti in provette tipo vacutainer con anticoagulante, inviate in laboratorio a temperatura ambiente (per evitare l'emolisi). Il campione deve essere processato subito.

Tempi di refertazione

La periodicità di esecuzione delle sedute analitiche è la seguente:

- HIV quantitativo: una seduta a settimana;
- Genotipo e farmaco resistenza : una seduta al mese.

6.8 RICERCA GENOMA EBV

Indagini microbiologiche

La quantificazione di EBV-DNA mediante Real Time PCR viene utilizzata nei pazienti trapiantati di organi solidi e di midollo come marker preclinico per lo sviluppo di patologie linfoproliferative (PTLD)

Materiali necessari

EBV-DNA Provetta vacutainer (Tappo viola)

Modalità di prelievo

Valgono le indicazioni segnalate per le indagini di sieroimmunologia

Conservazione ed invio

- i campioni per la ricerca di EBV-DNA devono pervenire a M&V entro le ore 9.00

Tempi di refertazione

L'indagine viene effettuata 2 volta a settimana

6.9 RICERCA GENOMA VIRUS ERPETICI

Indagini microbiologiche

Vengono ricercati i 3 virus erpetici considerati i principali agenti eziologici di infezione del sistema nervoso centrale(HVS1-HVS2-VZV). La ricerca del DNA virale del liquor mediante Rt PCR è considerata metodica di riferimento.

Per la ricerca di virus erpetici da altri materiali biologici (sangue, siero plasma, urine) contattare un medico di M&V.

Materiali necessari

Ricerche su liquor (Herpes simplex virus 1-2, VZV,) : Contenitore sterile per Liquor (1 ml)

Ricerche su siero (Ab) : Provetta vacutainer (Tappo rosso per sierologia)

Modalità di prelievo

- per il liquor valgono le indicazioni segnalate per la raccolta per indagini di Batteriologia/Micologia. Raccogliere almeno 2 ml di liquor.

- per sangue e siero valgono le indicazioni segnalate per indagini sieroinmunologia.

Conservazione ed invio

- dopo la raccolta i campioni devono essere inviati immediatamente in Microbiologia. Ove ciò non fosse possibile contattare M&V prima di procedere al prelievo.

Tempi di refertazione

L'indagine viene effettuata due volte alla settimana.

6.10 RICERCA GENOMA VIRALE DI ALTRI VIRUS

Indagini microbiologiche

La ricerca del genoma virale di altri virus si effettua per lo più per:

- la diagnosi eziologica di meningo-encefaliti virali (JCV, Enterovirus, CMV, EBV);
- la ricerca di genoma di HHV8 (quantitativo) (S.Kaposi)
- la ricerca di genoma Parvovirus B19, BK, Rosolia (qualitativo)
- ricerca del genoma di JCV e BK su urine

Materiali necessari

Ricerche su liquor (JCV, Enterovirus Varicella, CMV, EBV) : Contenitore sterile per liquor (1 ml)

Ricerca su sangue di genoma di HHV8 (qualitativo) : Provetta Vacutainer tappo viola

Ricerca su saliva di genoma HHV8 quantitativo : Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite

Ricerca di genoma Parvovirus B19, JCV, BK : Provetta Vacutainer tappo rosso

Ricerca su urine JCV, BK : Contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite

Procedura di prelievo

- Per il liquor valgono le indicazioni segnalate per la raccolta per indagini di Batteriologia/Micologia. Raccogliere almeno 1 ml di liquor.

Conservazione ed invio

- dopo la raccolta i campioni devono essere inviati immediatamente in Microbiologia. Ove ciò non fosse possibile contattare M&V prima di procedere al prelievo;

Tempi di refertazione

2 volte a settimana per CMV e EBV enterovirus

1 volta a settimana per B19, VZV e altro

6.11 RICERCA GENOMA TOXOPLASMA, ROSOLIA, CMV su liquido amniotico

Indagini microbiologiche

La ricerca del genoma virale di Toxoplasma, Rosolia, CMV su liquido amniotico, si effettua per porre diagnosi di infezione congenita.

Materiali necessari

Ricerche su liquido amniotico (almeno 1 ml): Contenitore sterile per liquido amniotico (1 ml)

Procedura di prelievo

Il prelievo deve essere eseguito dopo 6-8 settimane dall'infezione materna tra la 18°-22° settimana gestazionale

Conservazione ed invio

- dopo la raccolta i campioni devono essere inviati immediatamente in Microbiologia. Ove ciò non fosse possibile contattare M&V prima di procedere al prelievo;

Tempi di refertazione

Esecuzione entro 3 giorni dal prelievo