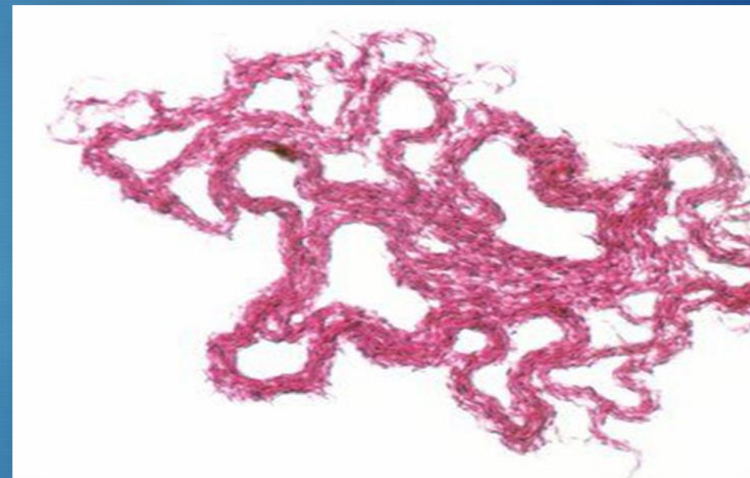
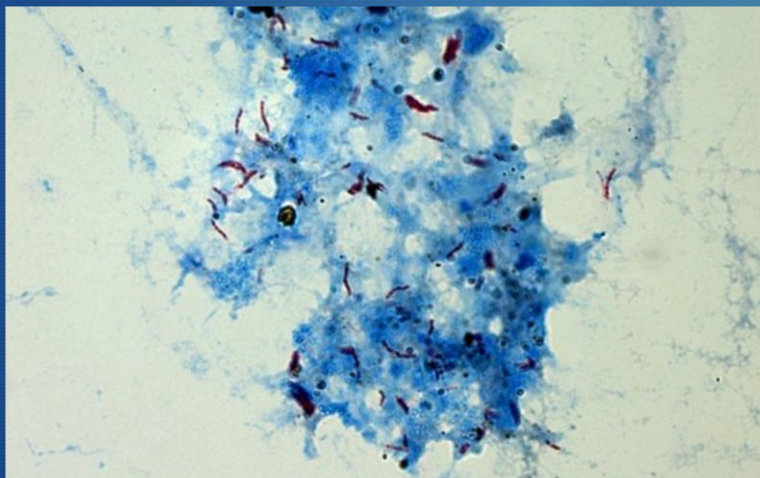


RACCOLTA , CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEI CAMPIONI PER LA DIAGNOSI DELLE INFEZIONI DA MICOBATTERI



RACCOLTA , CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEI CAMPIONI PER LA DIAGNOSI DELLE INFEZIONI DA MICOBATTERI

- ◆ La diagnosi microbiologica di tubercolosi o di micobatteriosi richiede l'isolamento di micobatteri dal campione biologico.
- ◆ La finalità delle indagini micobatterologiche è quella di rilevare, nei campioni inviati dal clinico, la presenza di micobatteri, di identificarli e di determinarne, se opportuno, la sensibilità ai farmaci antimicobatterici.

L'ATTENDIBILITA' DEI RISULTATI DIPENDE DALLE MODALITA' CON CUI IL CAMPIONE E' STATO:

- ◆ RACCOLTO

- ◆ CONSERVATO

- ◆ TRASPORTATO

FASE PRE - ANALITICA NON CORRETTA COMPORTA
UN REFERTO ERRATO, INUTILE E DANNOSO.

RACCOLTA DEI CAMPIONI

💧 GENERALITA':

- ① Tutti i materiali biologici devono essere considerati come potenzialmente infetti.
- ② L'induzione dell'espettorato e le manovre broncoscopiche possono provocare emissione nell'ambiente di materiale infetto; devono quindi essere effettuate in locali idonei e il personale deve usare opportuni dispositivi di protezione individuale quali, ad esempio, maschera, guanti, camice.

RACCOLTA DEI CAMPIONI

• La raccolta del materiale deve essere effettuata:

- Prima dell'inizio della terapia antibiotica; è tuttavia possibile inviare campioni successivi per il follow-up del paziente in terapia;
- In modo sterile, per evitare contaminazioni;
- In quantità adeguata, per evitare falsi negativi;
- In un numero adeguato di campioni, per evitare falsi negativi;
- Evitando, ove possibile, l'uso di tamponi;
- **Utilizzando contenitori monouso sterili, con tappo a vite;**
- Senza l'aggiunta di conservanti o fissativi;
- Facendo attenzione a non contaminare la superficie esterna del contenitore con il materiale biologico;

RACCOLTA DEI CAMPIONI

- ◆ Il contenitore deve essere contrassegnato con:
 - ✓ un'etichetta indicante i dati anagrafici del paziente,
 - ✓ il tipo di materiale e la sede di prelievo,
 - ✓ la data e l'ora di raccolta, ad esso deve essere allegato, separatamente, il modulo di richiesta compilato in ogni sua parte.

SELEZIONE DEI CAMPIONI

- ◆ MATERIALI PROVENIENTI DALLE VIE
RESPIRATORIE
- ◆ MATERIALI DI ORIGINE NON RESPIRATORIA

RACCOLTA DEI CAMPIONI

MATERIALI PROVENIENTI DALLE VIE RESPIRATORIE:

I.ESPETTORATO

II.ESPETTORATO INDOTTO

III.BRONCOASPIRATO, LAVAGGIO BRONCO –
ALVEOLARE, ASPIRATO TRANS – TRACHEALE

IV.ASPIRATO GASTRICO E STRING TEST

RACCOLTA DEI CAMPIONI

🟢 ESPETTORATO

1. Fornire al paziente istruzioni al fine di impedire la raccolta di saliva o secrezioni naso-faringee;
2. L'espettorato deve provenire dalle basse vie aeree, espulso con un colpo di tosse;
3. Il campione deve essere raccolto di primo mattino ; l'utilizzo di campioni, raccolti cioè in momenti successivi della giornata, riduce sensibilmente la resa diagnostica;
4. Prima della raccolta occorre rimuovere eventuali protesi dentarie ed effettuare un accurato risciacquo del cavo orale con acqua. L'inserimento, tra guance e gengive, di cilindretti assorbenti può essere utile per bloccare la secrezione salivare;
5. Espettorare in un contenitore a bocca larga sterile e con tappo a vite: con un colpo profondo di tosse espettorare direttamente nel contenitore sterile, tenendolo adeso al labbro inferiore, chiudere bene il contenitore avvitando il tappo.
6. Al fine di ottenere un campione adeguato per qualità e quantità è preferibile che il paziente sia assistito da personale qualificato durante la raccolta, non deve essere inferiore a **5 ml**;
7. La raccolta nello stesso contenitore di escreti prelevati in momenti diversi non è accettabile;
8. E' necessario l'invio in laboratorio di **3 campioni** raccolti in giorni diversi possibilmente consecutivi, alcuni studi volti a quantificare la resa diagnostica di ciascuno dei 3 campioni hanno evidenziato che il terzo campione incide per una quota che oscilla fra il 2% e il 5%;

RACCOLTA DEI CAMPIONI

💧 ESPETTORATO INDOTTO

Da prelevare qualora il paziente abbia difficoltà a produrre espettorato o, comunque, se la raccolta dell'espettorato è problematica;

Si può ricorrere all'induzione facendo inspirare al paziente, lentamente e profondamente per un periodo di 15-20 minuti, un aerosol di soluzione salina ipertonica (5 – 10%), generato sterilmente da un nebulizzatore ultrasonico;

Per evitare rischi di trasmissione nosocomiale, l'induzione aerosolica deve essere eseguita in condizioni di isolamento respiratorio;

La procedura per la raccolta dell'espettorato indotto è ben tollerata da tutti i pazienti, bambini inclusi;

Poiché l'aspetto dell'espettorato indotto è quasi sempre salivare, si raccomanda di segnalare al laboratorio la natura del materiale, per evitare che possa essere considerato non idoneo;

RACCOLTA DEI CAMPIONI

◆ BRONCOASPIRATO, LAVAGGIO BRONCO – ALVEOLARE, ASPIRATO TRANS – TRACHEALE.

I campioni prelevati tramite broncoscopia sono diventati oggi i materiali respiratori più frequentemente utilizzati dopo gli espettorati;

La facilità del prelievo ha portato a un aumento della richiesta di colture per micobatteri su tali campioni anche in pazienti con quadri clinici e radiologici scarsamente compatibili con tale patologia;

La ricerca è giustificata solo in pazienti con lesioni cavitari e infiltrati polmonari e nei soggetti immunodepressi in presenza o in assenza di anomalie radiologiche del polmone, nel caso in cui la ricerca su escreato abbia dato esito negativo;

Il volume del prelievo di broncoaspirato e lavaggio bronco-alveolare non deve essere inferiore a **3 ml**;

RACCOLTA DEI CAMPIONI

◆ ASPIRATO GASTRICO E STRING TEST

Questo tipo di campione, riservato ai casi in cui il paziente non sia in grado di espettorare spontaneamente o dopo induzione aerosolica, è il più comunemente impiegato nei bambini;

La procedura, eseguita in 3 giorni consecutivi, richiede l'ospedalizzazione del paziente e la disponibilità di ambienti idonei all'isolamento respiratorio ed è controindicata in bambini affetti da diatesi emorragiche o con basso numero di piastrine;

Il pH del campione deve essere neutralizzato entro un'ora dal prelievo, aggiungendo all'aspirato 100 mg di carbonato di sodio.

Lo *string test* consiste nel far inghiottire al paziente una capsula di gel attaccata a un filo di nylon;

Nello stomaco, la capsula di gel viene dissolta dal succo gastrico consentendo al filo posto al suo interno di aderire alle secrezioni gastriche;

Dopo 4 ore il filo viene recuperato e lavato con 1-2 ml di soluzione fisiologica;

Lo *string test*, sviluppato originariamente per la ricerca di batteri enteropatogeni, si è dimostrato più efficace dell'escreato indotto in adulti HIV-positivi con tubercolosi polmonare e in bambini di età superiore ai 4 anni;

RACCOLTA DEI CAMPIONI

- ◆ MATERIALI DI ORIGINE NON RESPIRATORIA
- LIQUIDI CAVITARI : (L.Pleurico, L.Pericardico, L.Sinoviale, L.Ascitico e L.peritoneale);
- LIQUIDO CEFALO – RACHIDIANO
- MATERIALE NECROTICO PURULENTI
- URINE
- FECE
- BIOPSIE E PRELIEVI OPERATORI
- MATERIALI DA LESIONI CUTANEE
- SANGUE E MIDOLLO EMOPOIETICO

RACCOLTA DEI CAMPIONI

- ◆ **LIQUIDI CAVITARI** : (L.Pleurico, L.Pericardico, L.Sinoviale, L.Ascitico e L.peritoneale);
- La raccolta viene effettuata dal medico esperto con tecniche di aspirazione o procedure chirurgiche.
- Per la raccolta devono essere usate provette con anticoagulante, (di solito 3 provette) poiché il liquido prodotto nel corso di una reazione infiammatoria (essudato) può contenere fibrinogeno. Dato che l'EDTA è tossico per i micobatteri e l'eparina può inibire la Taq-polimerasi, l'anticoagulante di riferimento è il **citrato trisodico**. Il volume consigliato è di 15 ml.

RACCOLTA DEI CAMPIONI

LIQUIDO CEFALO – RACHIDIANO

- Occorre prelevare il massimo volume possibile.
- Per un esame adeguato sono necessari non meno di **2-3 ml**.
- Nel caso in cui non si possa disporre della quantità indicata, i *test* debbono essere eseguiti a partire da quello di maggiore sensibilità cioè la coltura su solo terreno liquido.

RACCOLTA DEI CAMPIONI

◆ MATERIALE NECROTICO PURULENTI

- Fatta eccezione per i casi di drenaggio spontaneo, i materiali necrotico-purulenti vengono raccolti tramite agoaspirato transcutaneo.
- La tecnica dell'agoaspirato può essere applicata anche a linfonodi o a masse localizzate in sede mediastinica, endoaddominale e/o retroperitoneale, eseguendo il prelievo in corso di broncoscopia o di endoscopia dell'apparato digerente.

RACCOLTA DEI CAMPIONI

URINE

- Dopo pulizia accurata dei genitali esterni, raccogliere almeno 50 ml di urina includendo anche il primo mitto.
- la modalità di raccolta mediante mitto intermedio è sconsigliata.
- È raccomandato l'invio di **3 campioni** della prima urina del mattino raccolti in giorni consecutivi.
- In alternativa il prelievo può essere effettuato mediante cateterizzazione o con puntura sovrapubica.
- La raccolta delle 24 ore o le urine da sacca non sono utilizzabili a causa della frequenza con cui si verificano contaminazioni.
- Pazienti sottoposti ad antibiotico terapia ad ampio spettro possono eliminare con le urine sostanze capaci di inibire o ritardare la crescita dei micobatteri (in particolare i chinoloni)

RACCOLTA DEI CAMPIONI

FECCI

- Occorre raccogliere una piccola quantità di feci (pari al volume di una noce) e porla in un contenitore sterile, prestando attenzione a non contaminarlo esternamente.
- Non è possibile utilizzare tamponi rettali.

RACCOLTA DEI CAMPIONI

◆ BIOPSIE O PRELIEVI OPERATORI

- I tessuti devono essere posti in contenitori sterili senza conservanti o fissativi.
- In nessun caso i frammenti devono essere avvolti in garza.
- Occorre aggiungere soluzione salina sterile in quantità sufficiente da evitare l'essiccamento dei campioni di piccole dimensioni.
- E' necessario attivarsi per evitare, come spesso accade, che al momento del prelievo anche la parte da inviare alla microbiologia sia posta erroneamente in formalina, come quella destinata all'anatomia patologica.

RACCOLTA DEI CAMPIONI

• MATERIALE DA LESIONI CUTANEE

- Si può utilizzare per la raccolta un tampone solo se non è possibile eseguire biopsia o agoaspirato.
- Nelle ulcere si deve raccogliere il campione alla periferia della lesione.
- I materiali raccolti mediante tamponi con terreno di trasporto non sono idonei.

RACCOLTA DEI CAMPIONI

• SANGUE E MIDOLLO EMOPOIETICO

- Sangue e midollo osseo costituiscono i materiali d'elezione per la diagnosi delle forme disseminate.
- Si devono inviare in laboratorio non meno di due e non più di tre campioni raccolti a distanza di mezz'ora l'uno dall'altro, indipendentemente dall'andamento febbrile.
- Per il prelievo di sangue periferico occorre disinfettare la cute con le stesse modalità delle emocolture tradizionali.
- È possibile effettuare il prelievo direttamente nel flacone di coltura nel caso in cui si impieghino sistemi che prevedono flaconi specifici (BacT/ALERT MB, bioMérieux; BACTEC Myco/F *Lytic*, Becton Dickinson).
- Non possono essere utilizzate provette con EDTA dato che può inibire la crescita dei micobatteri.

Tabella 1. SPECIFICHE PER LA RACCOLTA DI CAMPIONI BIOLOGICI PER LA RICERCA DI MICOBATTERI (23)

TIPO DI CAMPIONE	REQUISITI	ISTRUZIONI SPECIFICHE	NON IDONEI
Aspirato gastrico	□5-10 mL raccolto al mattino dopo almeno 8 ore di digiuno, per 3 giorni consecutivi	Neutralizzazione con carbonato di sodio	Campioni non neutralizzati
Broncoaspirato, lavaggio bronco-alveolare, aspirato trans tracheale	□3 mL	Disinfezione accurata del broncoscopio	
Espettorato	5-10 mL raccolto al mattino da espettorazione profonda, per 3 giorni consecutivi	Istruire il paziente su come espettorare	Saliva, pool di campioni
Espettorato indotto	5-10 mL raccolto al mattino, per 3 giorni consecutivi	Specificare che si tratta di espettorato indotto	
Feci	□1 g in contenitore senza conservanti	Per la diagnosi di TBC intestinale ricorrere alla biopsia	
Linfonodo	Linfonodo, o porzione di esso, in contenitore senza fissativo o conservante	Aggiungere una piccola quantità di fisiologica sterile	Campioni in formalina o altri fissativi, campioni inclusi in paraffina
Liquidi cavitari: pleurico, pericardico, peritoneale	10-15 mL in provetta sterile con citrato trisodico	Per la diagnosi di pleurite tubercolare sono più indicati biopsia pleurica e espettorato indotto	
Liquor	□2 mL		
Materiale da lesione cutanea	La quantità massima possibile	Se non è possibile eseguire il prelievo con siringa o biopsia utilizzare tamponi senza terreno di trasporto	Tampone con terreno di trasporto
Materiale necrotico-ascessuale	La quantità massima possibile in siringa con copriago	Se non è possibile eseguire il prelievo con siringa o biopsia utilizzare tamponi senza terreno di trasporto e inserirli in contenitori con una piccola quantità di fisiologica sterile	

Midollo emopoietico	La quantità massima possibile direttamente nel flacone da emocoltura, o in provetta con eparina, o in provetta Isolator		Campione coagulato o raccolto con EDTA
Tessuto o biopsia	□ 1 g in contenitore senza fissativo o conservante	Aggiungere una piccola quantità di fisiologica sterile	Campioni in formalina o altri fissativi, campioni inclusi in paraffina
Sangue mestruale	Alcuni mL raccolti in provetta con eparina al 2°-3° giorno del flusso mestruale	Preferibilmente eseguire curettage dell'endometrio	Campione coagulato
Sangue periferico	Direttamente nel flacone da emocoltura, o in provetta con eparina, o in provetta Isolator	2 o 3 capioni prelevati a distanza di 30 min indipendentemente dall'andamento febbrile	Campione coagulato o raccolto con EDTA
Urina	Prima urina del mattino (almeno 50 mL), ottenuta anche mediante catetere, per 3 giorni consecutivi	Il mitto intermedio è sconsigliato	Urina delle 24 h, urina da sacca, volumi inferiori a 50 mL

CONSERVAZIONE E TRASPORTO

- ◆ Il trasporto dei campioni deve rispettare tempi e condizioni che permettano di non alterare le caratteristiche microbiologiche del materiale biologico.
- ◆ L'invio in laboratorio deve essere effettuato il più presto possibile, e se l'attesa si protrae oltre un'ora il campione deve essere conservato a 4 ° C.
- ◆ Fanno eccezione le emocolture che devono essere tenute a temperatura ambiente.
- ◆ Deve essere evitato il congelamento dei campioni perché può diminuire la carica dei micobatteri vitali.
- ◆ Per la spedizione si devono applicare le modalità previste dalla Circolare del Ministero della Sanità [N. 16 del 20/07/1994](#).