

FASE PRE-ANALITICA

dei CAMPIONI RESPIRATORI

nel contesto di area vasta

*Paola Diamante - SOC Microbiologia e Virologia
Azienda Ospedaliera S.Maria degli Angeli – Pordenone*

*Palazzo Mantica
Pordenone 14 dicembre 2012*

AREA VASTA



LABORATORI SPOKE

LABORATORI HUB

LRTI etiological diagnosis: the real problem

At present there is still a great deficit in the etiologic diagnosis of LRTI.

In most studies more than 50% of cases remain without an etiologic diagnosis.

APPROPRIATEZZA E VALIDAZIONE

Il campione microbiologico non subisce un processo di validazione preanalitica (con l'eccezione dei campioni respiratori).

**Ciò significa che il microbiologo “si fida”:
di ciò che è stato prelevato , di come è stato prelevato,
di come è stato conservato e trasportato.**

APPROPRIATEZZA E VALIDAZIONE

Un test è appropriato ed un referto “valido” quando il risultato è in grado di rispondere correttamente al quesito clinico così da poter prendere una decisione in merito.

APPROPRIATEZZA PRE-ANALITICA



APPROPRIATEZZA DELLA RICHIESTA

APPROPRIATEZZA DEL PRELIEVO

APPROPRIATEZZA DELLA
CONSERVAZIONE/TRASPORTO del CAMPIONE



APPROPRIATEZZA DELLA RICHIESTA

La richiesta è mirata al quesito diagnostico



APPROPRIATEZZA DEL PRELIEVO

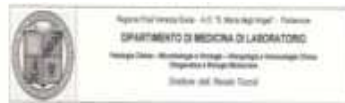
Viene garantita:

- **la situazione in cui l'evento infettivo si esplica (momento del prelievo, sede del prelievo);**
- **le condizioni native del campione (modalità di prelievo e conservazione).**

APPROPRIATEZZA DEL PRELIEVO

CAMPIONE PRELEVATO:

- nel **sito** adeguato.
- Con le **modalità** adeguate.
- Con una **descrizione** codificata del campione il più esaustiva possibile.



Apparecchio medico - A.C. S. Maria Agostina - Padova
DIPARTIMENTO DI MEDICINA DI LABORATORIO
Prestazioni: Microbiologia e Immunità - Citologia e Istologia - Chimica
Biotecnologie e Diagnostica
Direttore: Prof. Paolo Tassi

GUIDA ALL'ESECUZIONE DEGLI ESAMI



**Devono essere eseguiti
seguendo criteri ben precisi,
il cui mancato rispetto può
condizionare i risultati delle
indagini.**

L'ESAME MICROBIOLOGICO E IL PROBLEMA DELL'APPROPRIATEZZA

Lo scopo principale dell'esame microbiologico consiste nel rilevare l'agente eziologico di un'infezione.

- **I germi in sé non hanno grande importanza...**
 - **Ciò che conta è l'ambiente nel quale essi si trovano...**
- Louis Pasteur, 1860



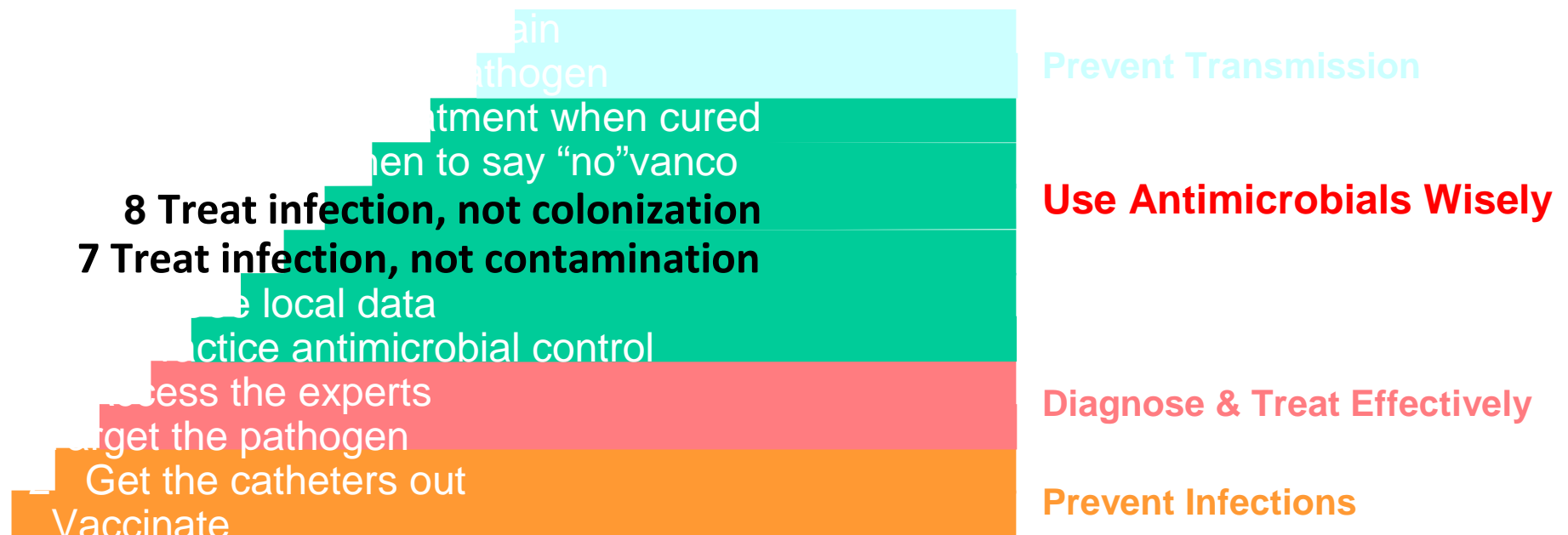
RELAZIONE TRA INDIVIDUAZIONE DELL'AGENTE EZIOLOGICO E APPROPRIATEZZA DELLA TERAPIA

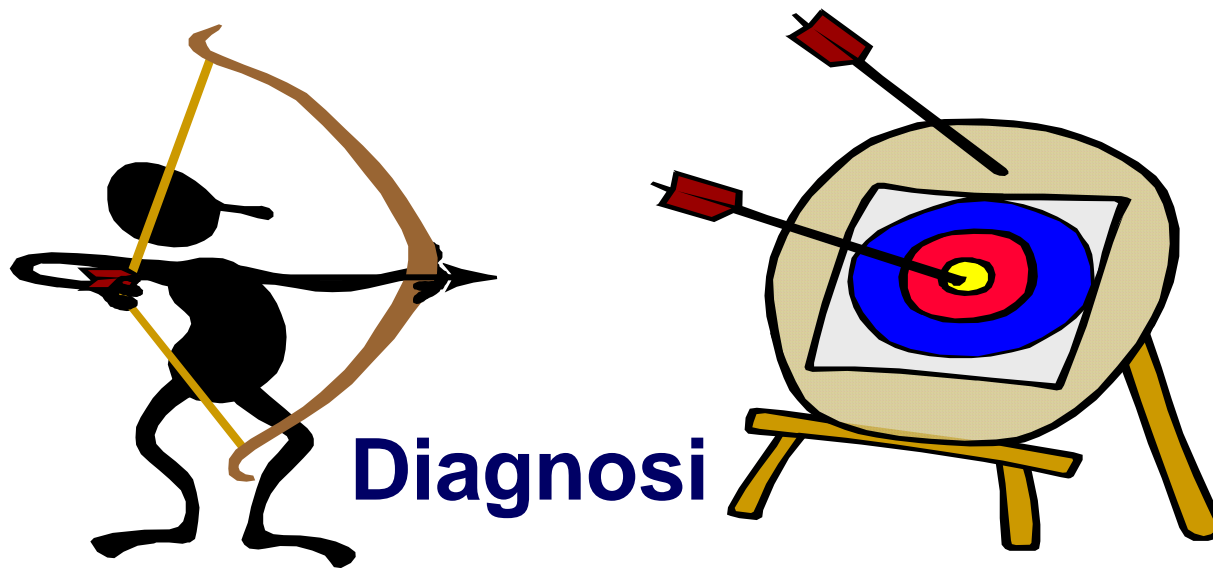
Naming a specific organism in a **situation** where it was **unlikely to be a pathogen** lead to **inappropriate therapy...**

We have found a significant association between infectious **diagnosis being doubtful** and patients receiving **therapy** that was **inappropriate.**

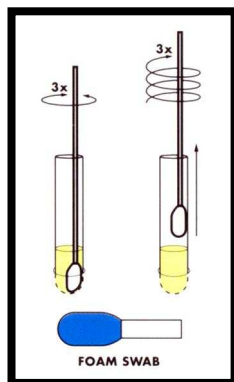


12 Steps to Prevent Antimicrobial Resistance





Prendi correttamente il prelievo



APPROPRIATEZZA PRE-ANALITICA

Appropriatezza per il riscontro e l'isolamento dei microorganismi responsabili di LRTI

- **Ridurre la contaminazione da flora microbica delle vie aeree superiori**
- **Valutare le esigenze dei microorganismi coinvolti e i criteri per garantirne la sopravvivenza**
- **Avere informazioni su trattamenti antibiotici recenti o in corso.**

I MATERIALI RESPIRATORI NELLE LRTI

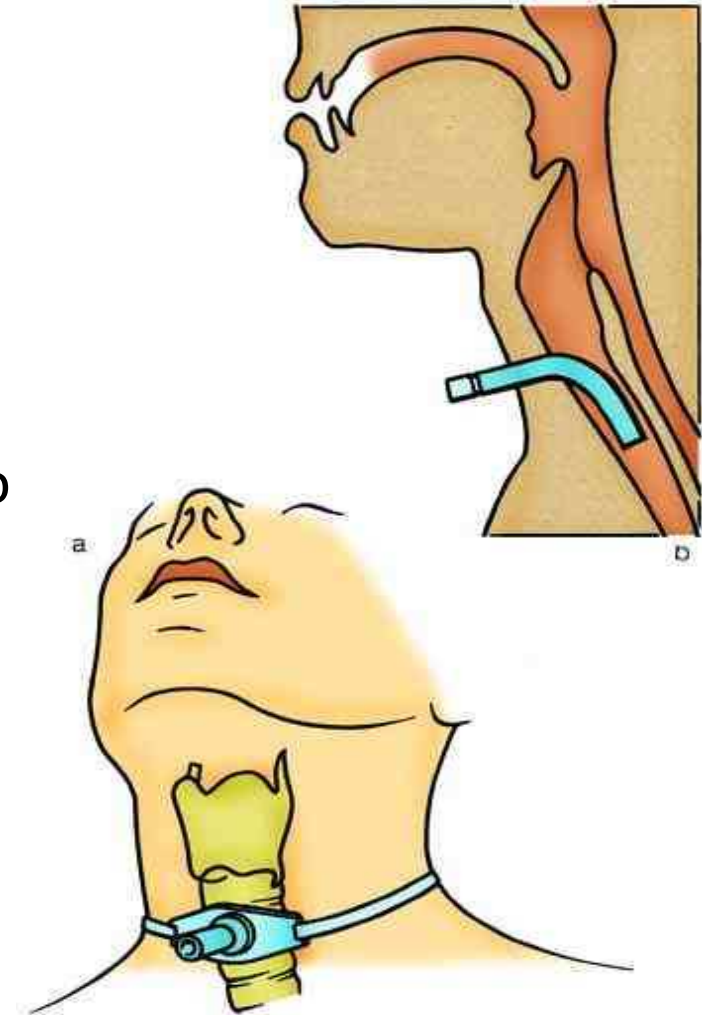
- **Espettorato**: utilità controversa
- **Aspirato transtracheale**: poco idoneo (la trachea è molto colonizzata).
- **Broncoaspirato**: metodo poco sensibile, soprattutto se non protetto
- **Lavaggio broncoalveolare , Brushing e Lavaggio bronco-alveolare mirato con cateterino** :
molto sensibili, permettono la coltura di germi anche se in quantità ridotta ed evitano la contaminazioni orofaringea.
Ideali anche per ricerche molecolari.

Campioni non protetti vs campioni protetti

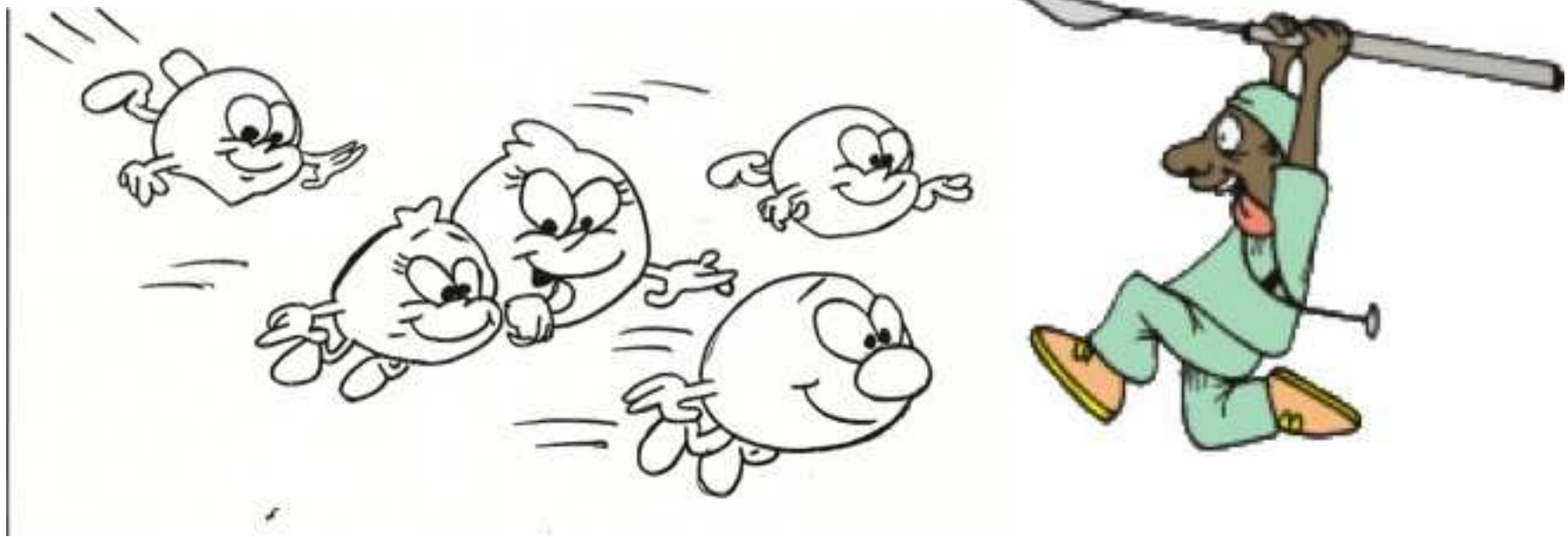
- **Materiali ad alto rischio di **contaminazione** con flora batterica delle alte vie respiratorie/cavo orale**
 - **Espettorato (anche indotto)**
 - **Aspirato endotracheale / bronchiale**

Campioni non protetti

- Passano attraverso il cavo orale:
 - **Espettorato (anche indotto)**
- Raccolti con broncoscopio non protetto o mediante aspirazione:
 - **Aspirato endotracheale / bronchiale**



Come evitare la raccolta dei colonizzanti ?

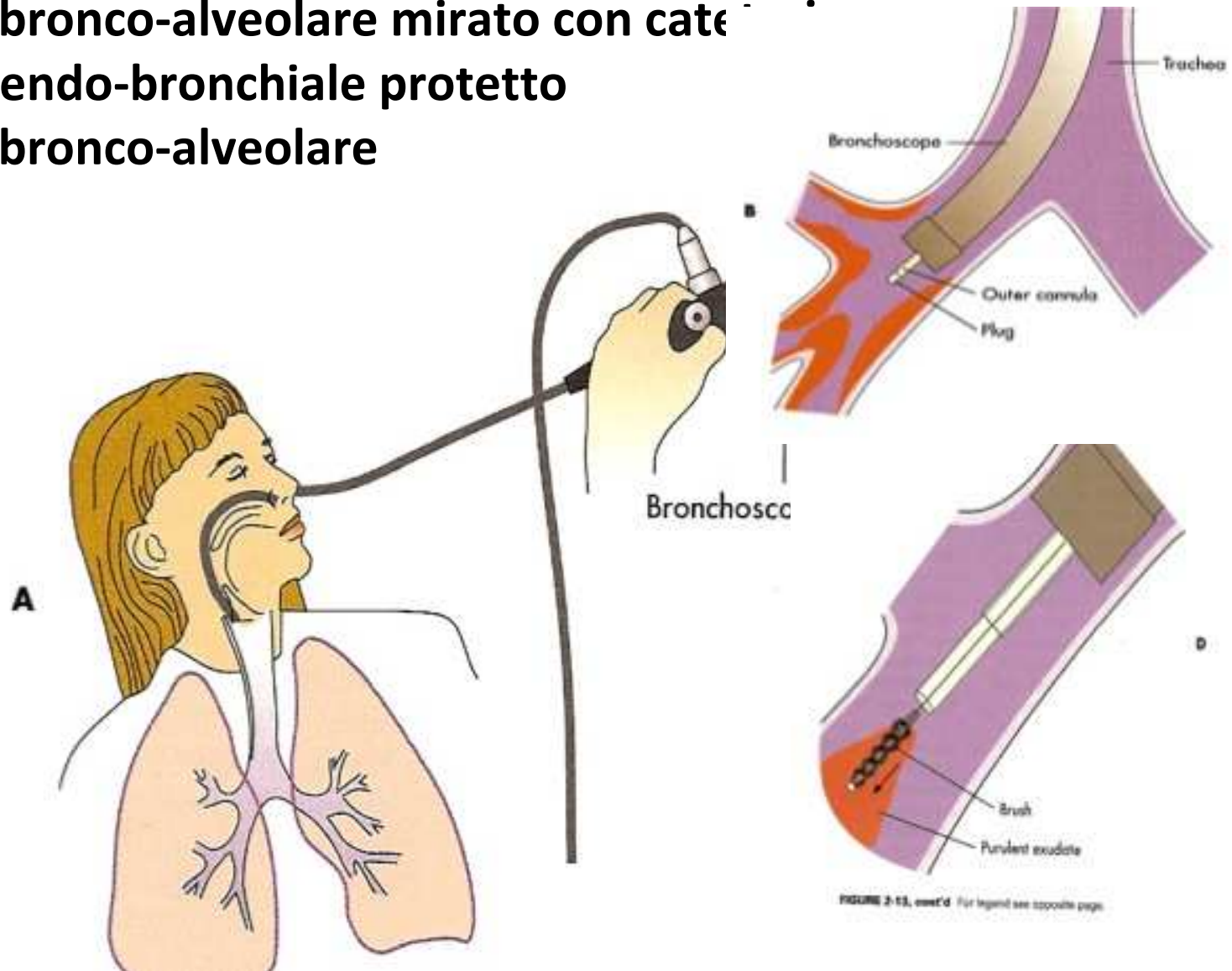


Campioni protetti vs campioni non protetti

- **Materiali raccolti con metodiche **protette**, a bassa contaminazione**
 - **Lavaggio bronco-alveolare (BAL)**
 - **Lavaggio bronco-alveolare mirato con cateterino**
 - **Spazzolatura endobronchiale protetta (PSB)**

Campioni protetti

- Lavaggio bronco-alveolare mirato con catetere
- Brushing endo-bronchiale protetto
- Lavaggio bronco-alveolare



Aspirato endo-tracheale

- Di semplice esecuzione, **non richiede manovre invasive**
- La coltura identifica di solito il patogeno in causa (alta sensibilità), ma insieme ad altri microrganismi non responsabili dell'infezione (bassa specificità)

Lavaggio broncoalveolare

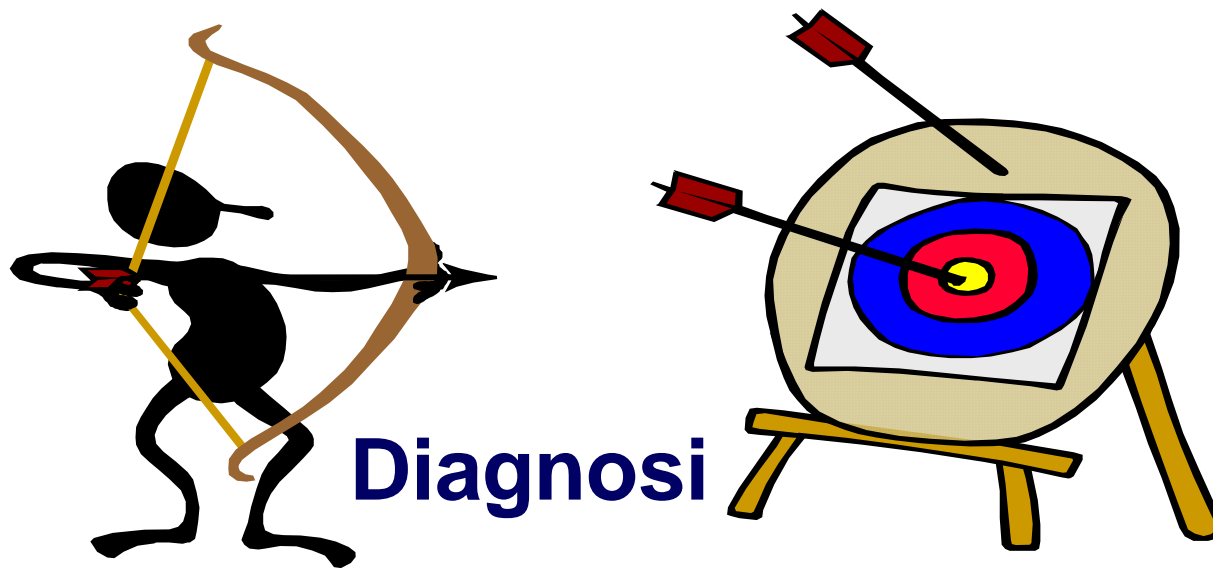
- **Procedura invasiva**
- Fattori che condizionano la "qualità" del BAL
 - competenza dell'esecutore
 - recupero > 10% della soluzione instillata
 - immediato invio alla microbiologia
 - terapia antibiotica in corso

Features and organisms associated with VAP

Organisms shown are those that were isolated at significant concentrations from **quantitative cultures of protected specimen brush samples or bronchoalveolar lavage samples in the invasive management group and from **qualitative cultures of endotracheal aspirates from the clinical management group.****

Feature or Organism	Patients Who Received Invasive Management (n = 204)	Patients Who Received Clinical Management (n = 209)
Negative culture, n (%)	114 (55.9)	30 (14.4)
Monomicrobial pneumonia, n (%)	65 (31.9)	84 (40.2)
Polymicrobial pneumonia, n (%)	25 (12.3)	95 (45.5)
Total number of pathogens, n	121	312
Bacilli, n (%)		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27 (22.3)	57 (18.3)
<i>Haemophilus influenzae</i>	9 (7.4)	12 (3.8)
<i>Escherichia coli</i>	6 (5.0)	23 (7.4)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	6 (5.0)	11 (3.5)
<i>Enterobacter</i> species	4 (3.3)	12 (3.8)
<i>Proteus</i> species	3 (2.5)	14 (4.5)
<i>Serratia marcescens</i>	3 (2.5)	7 (2.2)
<i>Klebsiella</i> species	2 (1.7)	11 (3.5)
<i>Citrobacter</i> species	1 (0.8)	7 (2.2)
<i>Morganella morganii</i>	1 (0.8)	3 (1.0)
<i>Moraxella</i> species	1 (0.8)	1 (0.3)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0	4 (1.3)
<i>Corynebacterium</i>	0	4 (1.3)
<i>Alcaligenes xylosoxidans</i>	0	1 (0.3)
Cocci, n (%)		
<i>Staphylococcus aureus</i>	20 (16.5)	40 (12.8)
<i>Streptococcus</i> species	19 (15.7)	28 (9.0)
<i>Neisseria</i> species	7 (5.8)	6 (1.9)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3 (2.5)	10 (3.2)
Coagulase-negative staphylococci	3 (2.5)	17 (5.4)
<i>Enterococcus</i> species	1 (0.8)	6 (1.9)
Fungi, n (%)	5 (4.1)	38 (12.2)

Feature or Organism	Patients Who Received Invasive Management (n = 204)	Patients Who Received Clinical Management (n = 209)
Negative culture, n (%)	114 (55.9)	30 (14.4)
Monomicrobial pneumonia, n (%)	65 (31.9)	84 (40.2)
Polymicrobial pneumonia, n (%)	25 (12.3)	95 (45.5)
Total number of pathogens, n	121	312
Bacilli, n (%)		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27 (22.3)	57 (18.3)
<i>Haemophilus influenzae</i>	9 (7.4)	12 (3.8)
<i>Escherichia coli</i>	6 (5.0)	23 (7.4)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	6 (5.0)	11 (3.5)
<i>Enterobacter</i> species	4 (3.3)	12 (3.8)
<i>Proteus</i> species	3 (2.5)	14 (4.5)
<i>Serratia marcescens</i>	3 (2.5)	7 (2.2)
<i>Klebsiella</i> species	2 (1.7)	11 (3.5)
<i>Citrobacter</i> species	1 (0.8)	7 (2.2)
<i>Morganella morganii</i>	1 (0.8)	3 (1.0)
<i>Moraxella</i> species	1 (0.8)	1 (0.3)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0	4 (1.3)
<i>Corynebacterium</i>	0	4 (1.3)
<i>Alcaligenes xylosoxidans</i>	0	1 (0.3)
Cocci, n (%)		
<i>Staphylococcus aureus</i>	20 (16.5)	40 (12.8)
<i>Streptococcus</i> species	19 (15.7)	28 (9.0)
<i>Neisseria</i> species	7 (5.8)	6 (1.9)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3 (2.5)	10 (3.2)
Coagulase-negative staphylococci	3 (2.5)	17 (5.4)
<i>Enterococcus</i> species	1 (0.8)	6 (1.9)
Fungi, n (%)	5 (4.1)	38 (12.2)



**Conserva e trasporta correttamente
il prelievo**



APPROPRIATEZZA PRE-ANALITICA

TRASPORTO DEL CAMPIONE

In questi ultimi anni la necessità di disporre di sistemi di trasporto è aumentata a causa di un maggior ricorso alle attività ambulatoriali e alla progressiva centralizzazione dei laboratori dovuta a nuovi assetti organizzativi.



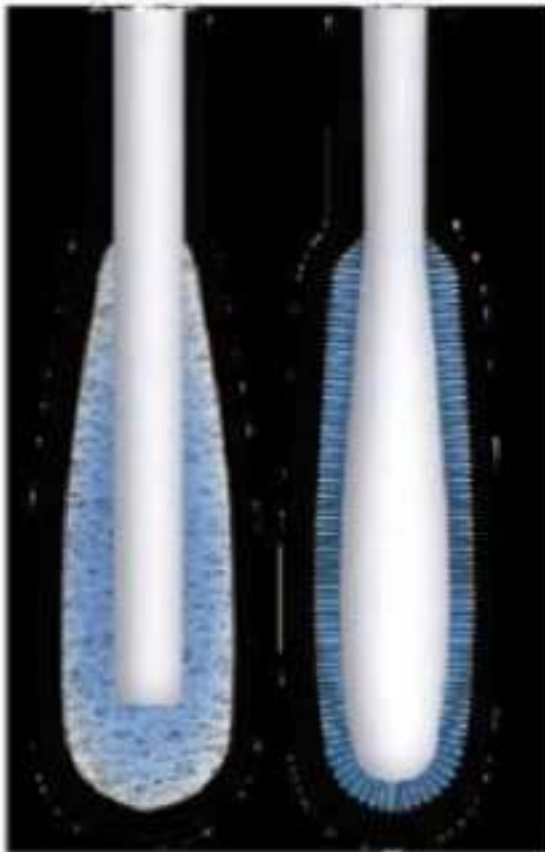
Il corretto trasporto dei campioni clinici è uno dei più importanti fattori che possono influire sull'efficacia della diagnostica microbiologica.

TRASPORTO

Proper transport of clinical specimens for culturing infectious agents may be the most important factor affecting the successful evaluation of these specimens.

Because many samples are submitted from **sites distant from clinical microbiology laboratories**, it is essential that viability of the organism be maintained.

Dispositivi con sonde floccate per conservazione e trasporto



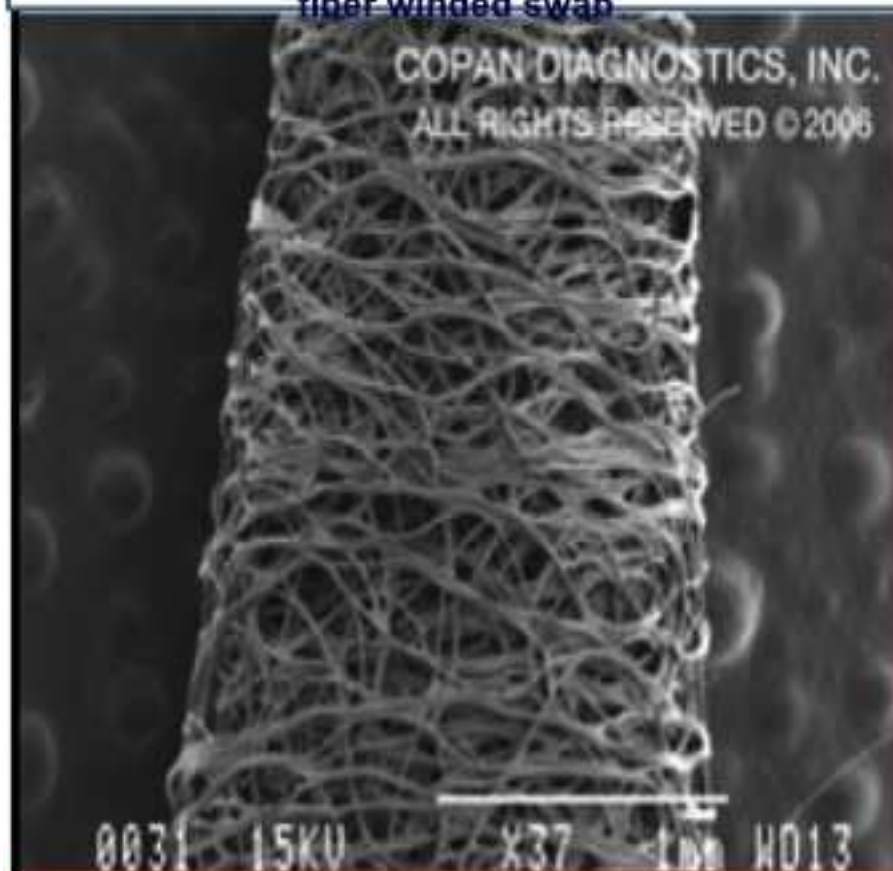
La peculiarità di questo nuovo dispositivo è la **capacità di rilasciare in modo istantaneo e quasi completo il campione prelevato (sino al 95% del prelievo): il rilascio del campione avviene all'immediato inserimento del tampone nel terreno di trasporto contenuto nella provetta.**



STRUTTURA DEI TAMPONI

TAMPONE STANDARD

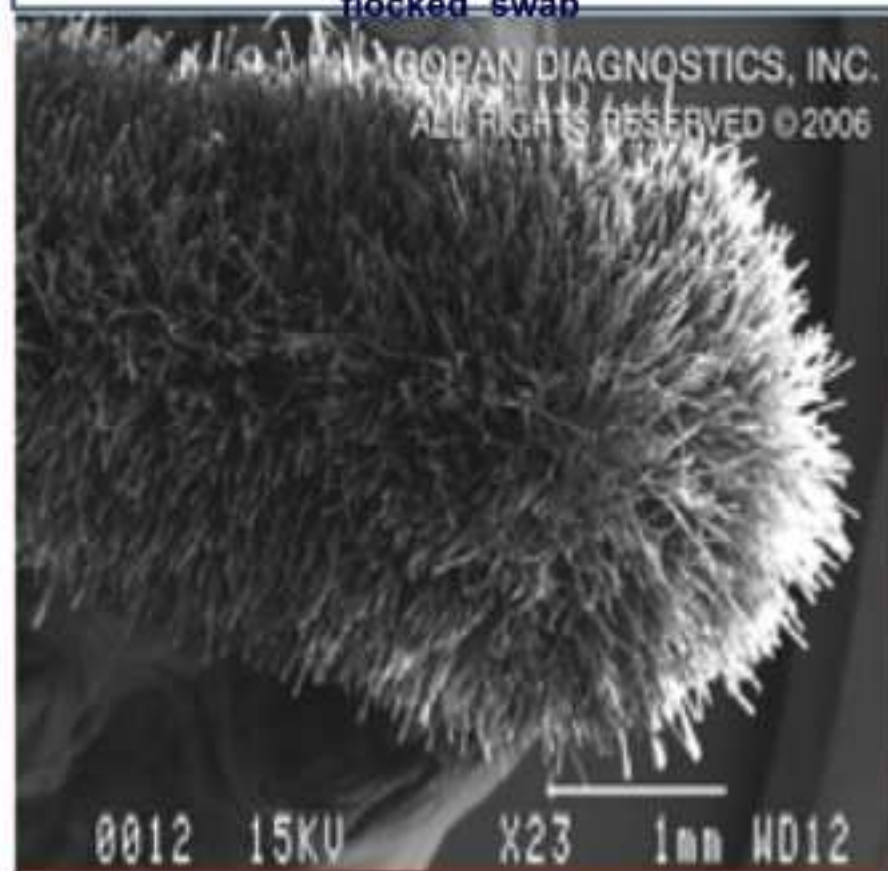
Electron Microscope photograph of traditional
fiber-winded swab



**Matrice di fibra caotica e
irregolare
Fino a 2 Km di microfibra**

TAMPONE FLOCCATO

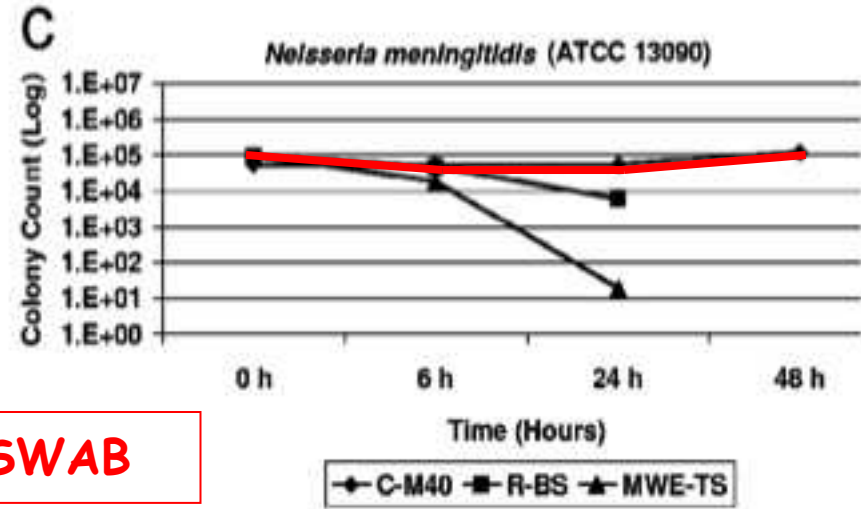
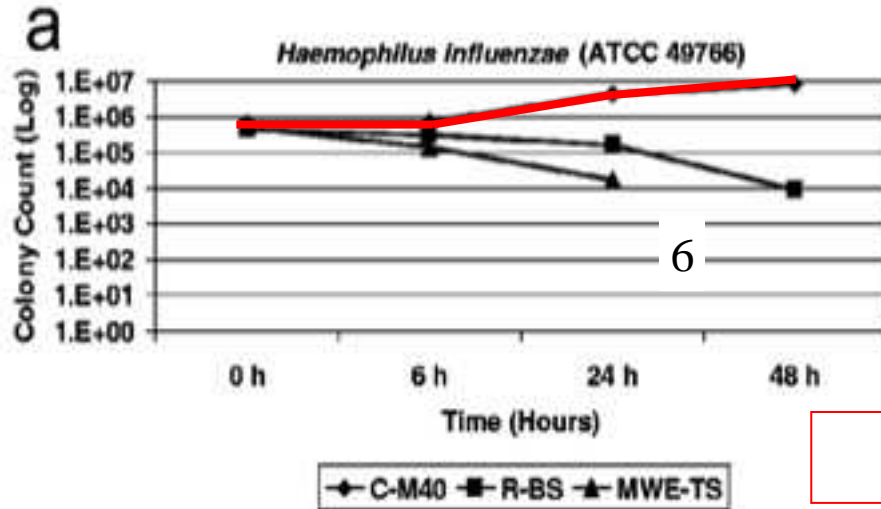
Electron Microscope photograph of a nylon
flocked swab



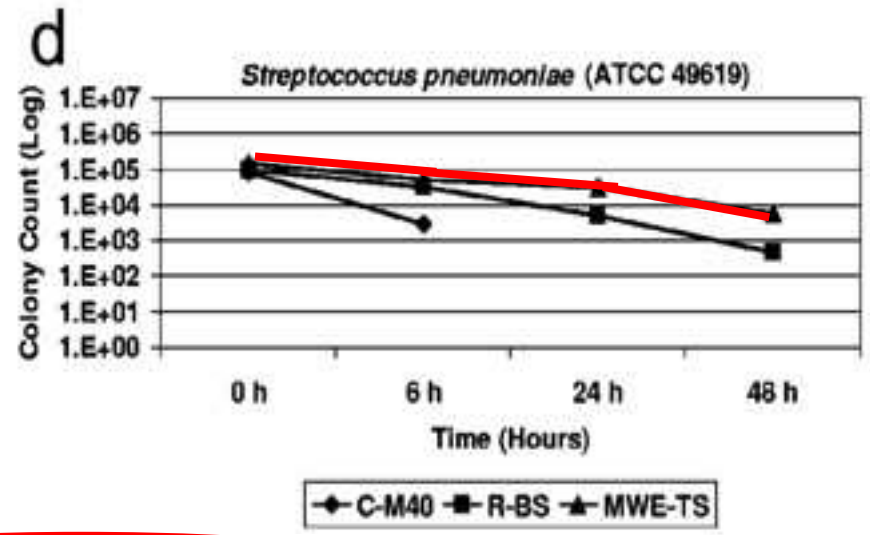
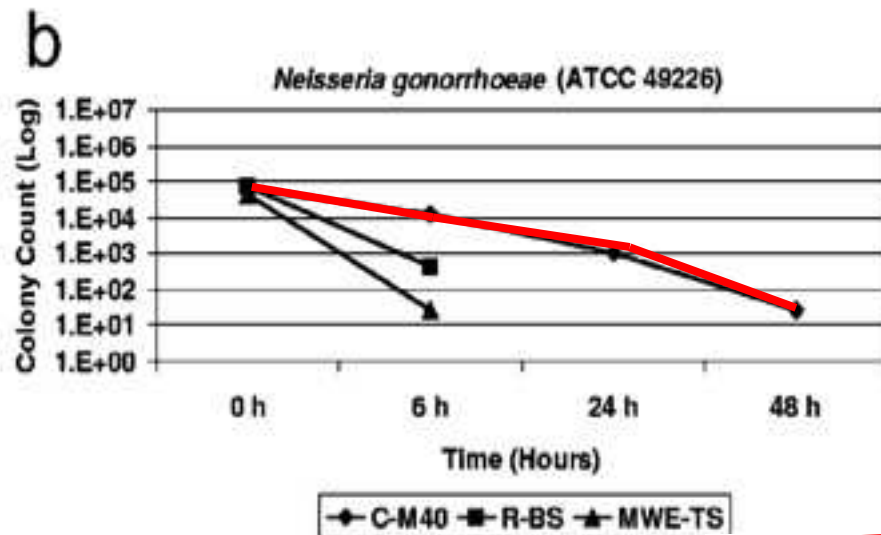
**Fibra regolare, incollata in modo
perpendicolare
Meno di 6 m di fibra**

Survival of Fastidious and Nonfastidious Aerobic Bacteria in Three Bacterial Transport Swab Systems

Rishmawi N., et al. J Clin Microbiol 2007 Apr;45(4):1278-83



ESWAB



at room temperature

Comparison of the eSwab collection and transportation system to an amies gel transystem for Gram stain of clinical specimens

Fontana C., et al. BMC Research Notes 2009 Dec 10;2:244.

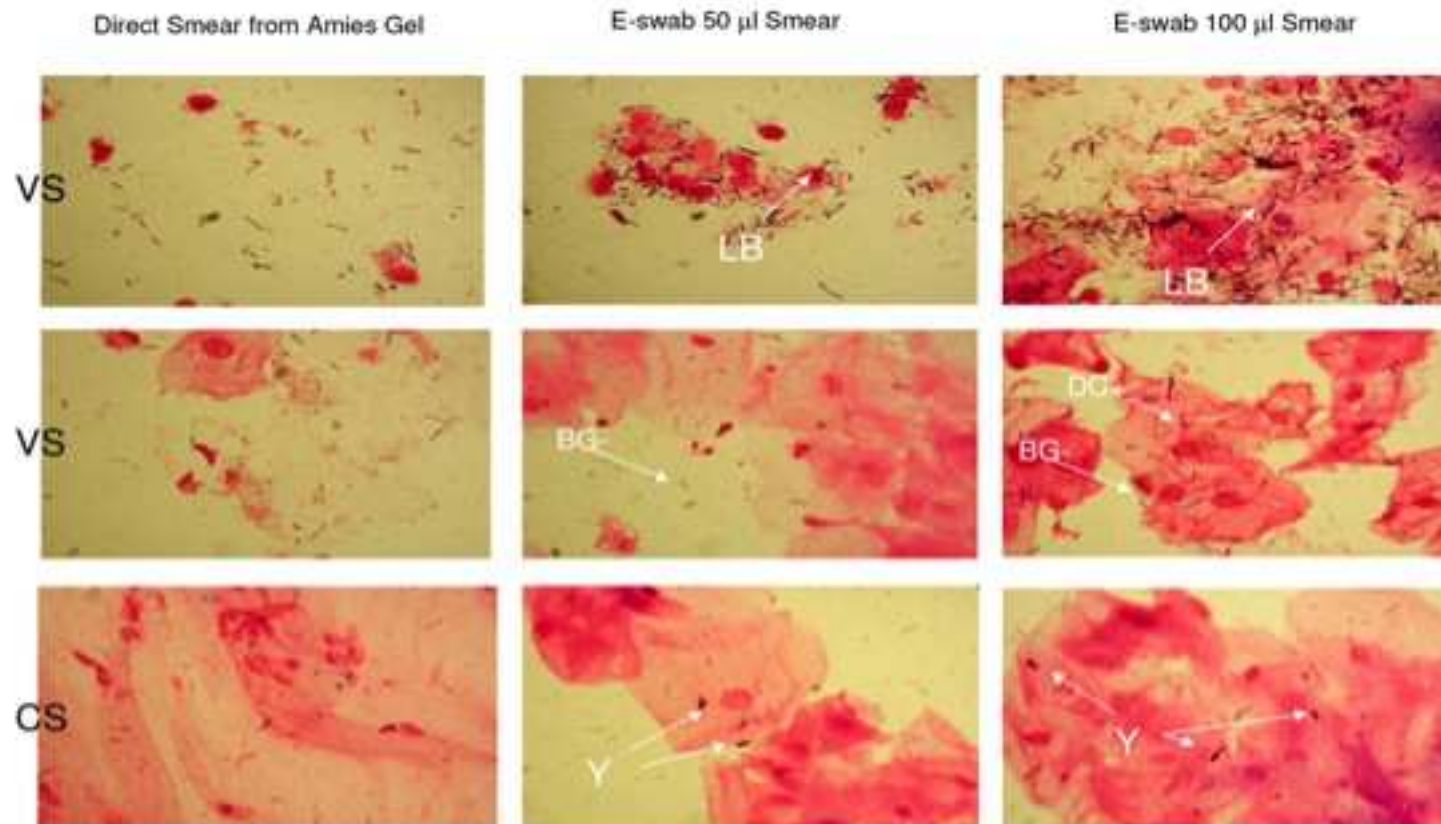


Figure 2
Comparison of some microscopic observations. LB = Lactobacilli; BG-: Gram-negative bacilli; DC+: Gram-positive diplococci; Y: yeast cell; VS: Vaginal Swab; CS: Cervical swab.

Conclusion: Microscopic examination performed using ESwab, especially when preparing the slides with 100 μ l, shows superior results to those obtained using the Amies gel Transystem.

Prelievo appropriato
(la significatività del campione aumenta la sensibilità della diagnosi)

- (Espettorato)
- BAL protetto
- Brushing protetto
- Aspirato endotracheale
- Broncoaspirato

Lab Spoke



Garantisce:

- La verifica di idoneità del campione dove richiesta
- L'allestimento del campione per il trasporto al Lab Hub
- La verifica delle corrette condizioni (tempi e metodi) di trasporto

Garantisce la disponibilità di diagnostiche tradizionali e di nuove tecnologie per la ricerca di batteri, virus, parassiti, funghi, adeguata al contesto clinico al quale si riferisce

PAT/TECH ORIENTED

Lab HUB

Screening?
Sì, ma solo se campione appropriato



Campionamento liquido:

- Migliora la conservazione dei microrganismi
- Non necessita di temperatura controllata
- Consente la ricerca di antigeni e DNA
- Riduce gli spazi di trasporto
- Migliora il sorting
- Consente l'automazione dei processi preanalitici
- Consente l'utilizzo di sistemi di screening
- Consente la gestione di più diagnostiche su uno stesso campione

AUTOMAZIONE



SCREENING



BIOLOGIA MOLECOLARE





Regione Friuli Venezia Giulia - A.O. "S. Maria degli Angeli" - Pordenone

DIPARTIMENTO DI MEDICINA DI LABORATORIO

Patologia Clinica – Microbiologia e Virologia
Allergologia e Immunologia Clinica – Citogenetica e Biologia Molecolare

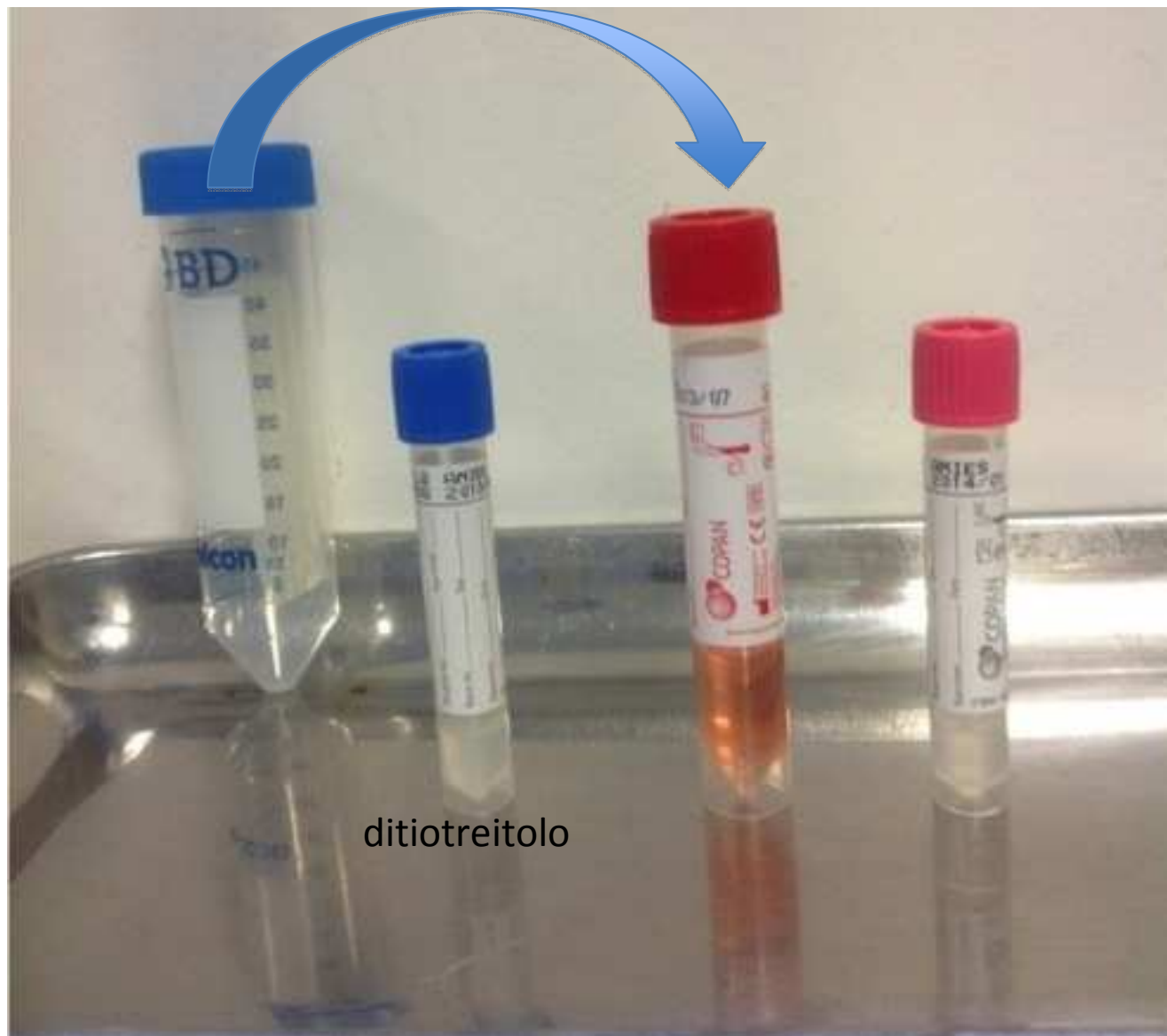
Direttore: dott. Renato Tozzoli

Microbiologia e Virologia

IO 318 MV Campionamenti Microbiologia Virologia per Laboratorio

Esame	Sigla TDSynergy	Contenitore	N. campioni	Note
Espettorato, tracheoaspirato (esame colturale per batteri e miceti) - Es. colt escreato - Es. colt. Tracheoasp.	<ul style="list-style-type: none">COLESCOLTR	Copan SL solution 1 ml (tappo blu) COD 091CE.A	1	<ul style="list-style-type: none">Il laboratorio periferico esegue la verifica di idoneità microscopica preanalitica, ed invia al laboratorio centrale SOLO i campioni idonei microscopicamente; per i campioni inviati <u>inserisce il risultato in TDSynergy</u>I campioni idonei vengono trasferiti in una provetta Copan SL solution 1 ml con ditiotreitolo

RACCOLTA e TRASPORTO



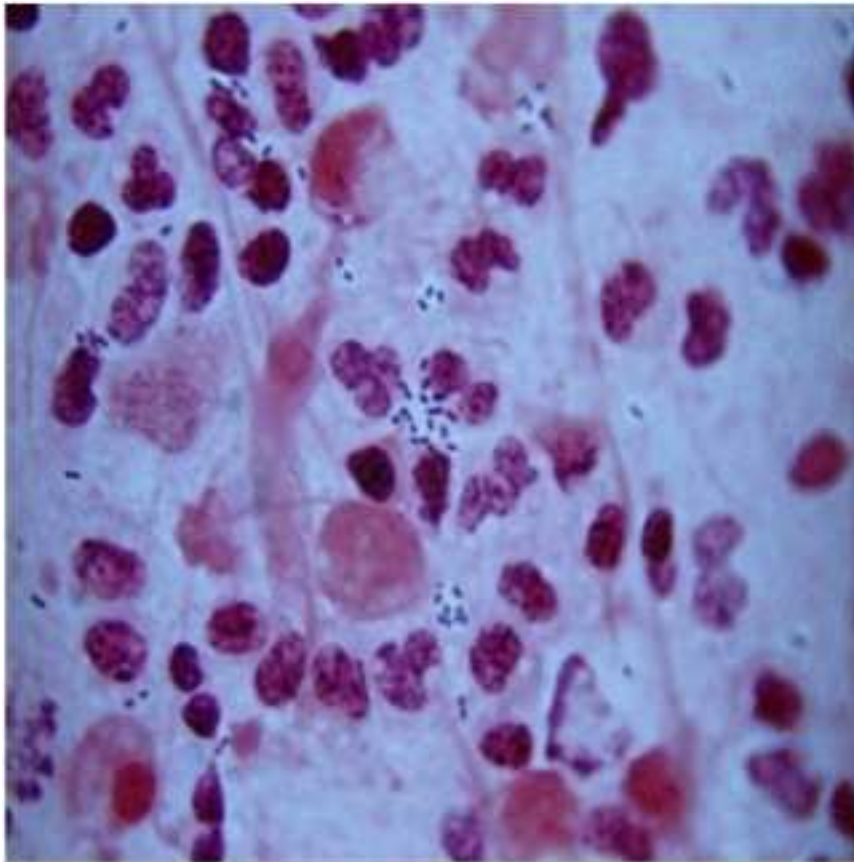
DISTRETTI NON STERILI

Criterio di idoneità

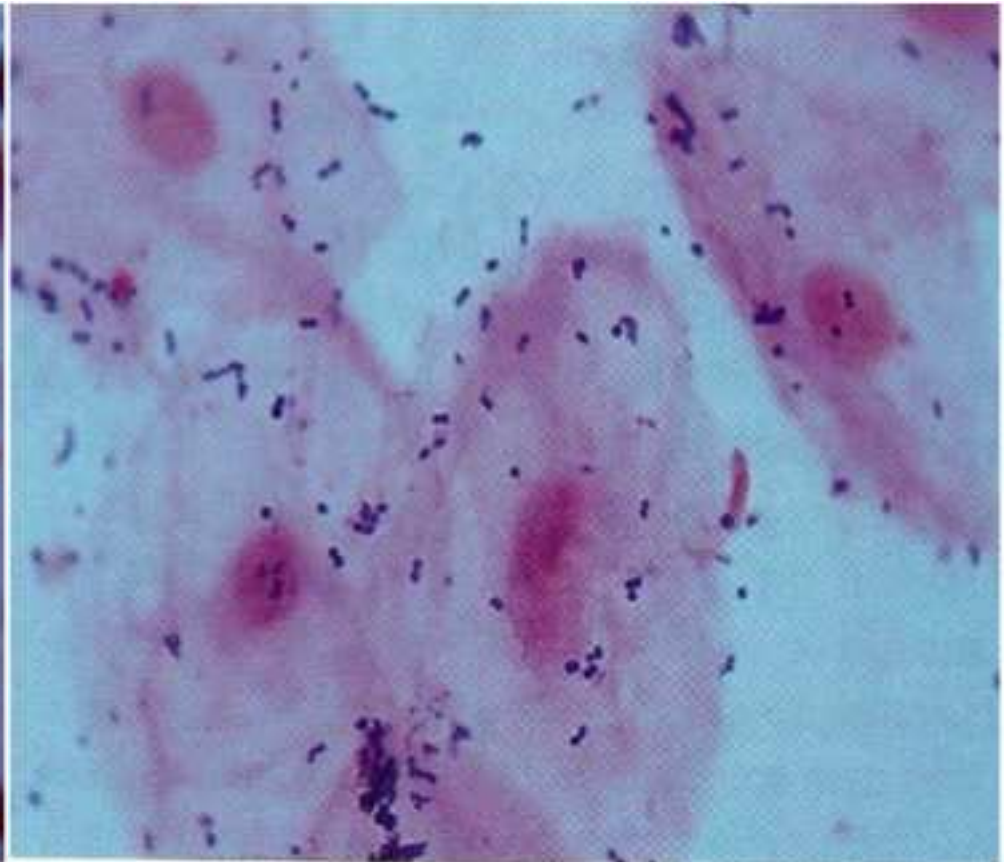
Esame microscopico:

CRITERI DI BARTLETT

Tipi cellulari e numero per campo microscopico (obiettivo 10x)	Punteggio
Neutrofil	
<10	0
10-25	+1
>25	+2
Presenza di muco	+1
Cellule epiteliali	
10-25	-1.

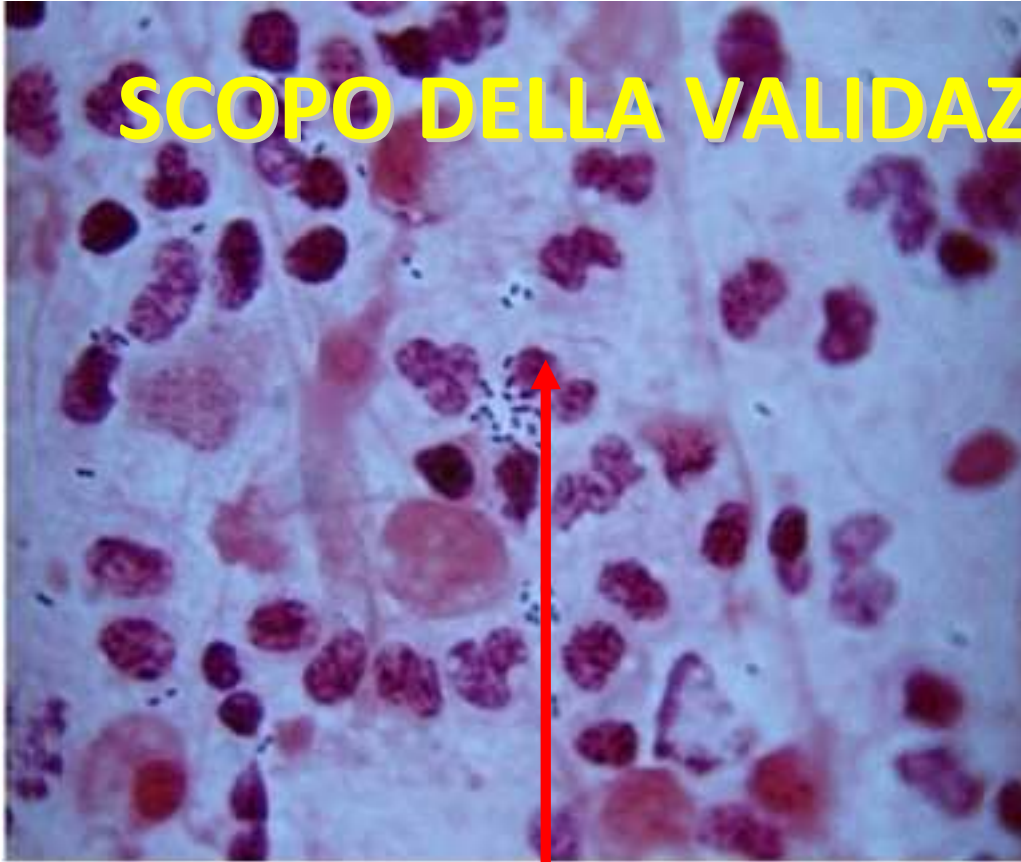


Idoneo



Non idoneo

SCOPO DELLA VALIDAZIONE PREANALITICA



Trattare il patogeno, non il colonizzante

..... per concludere

L'**appropriatezza** del campionamento (prelievo, trasporto) consente di migliorare l'outcome clinico della risposta.



La **razionalizzazione** del campionamento è **in grado** di influenzare l'organizzazione e la gestione della fase preanalitica/analitica; dal sorting dei materiali , all'implementazione dell'automazione, fino alla diversificazione dei metodi di analisi.



***GRAZIE PER
L'ATTENZIONE***