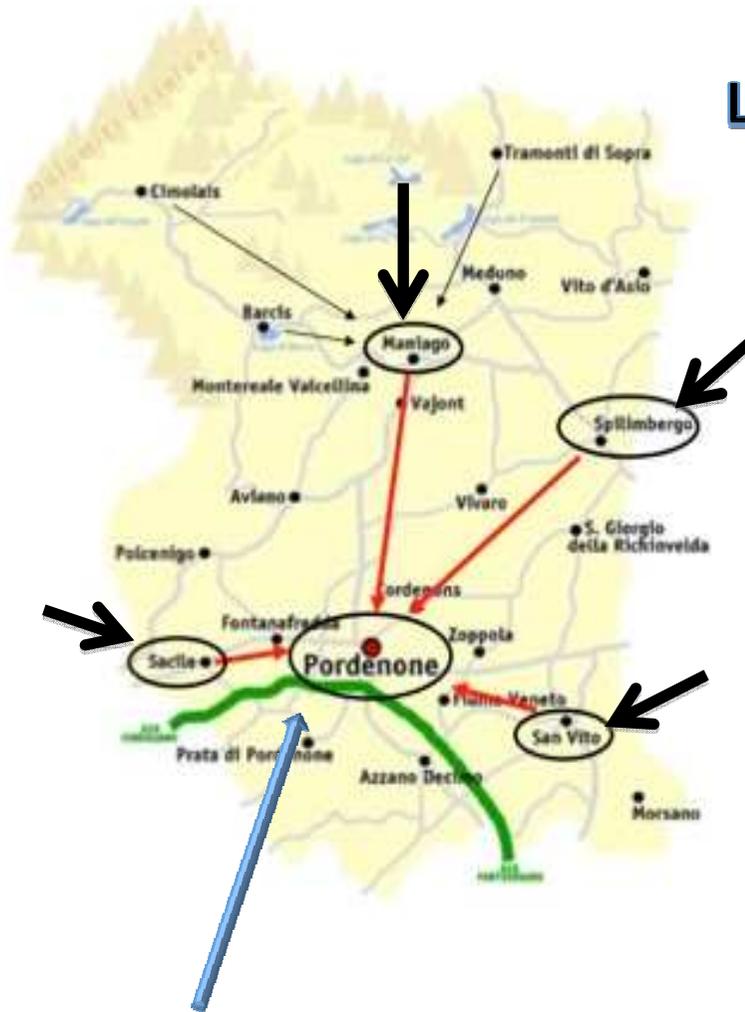


# **FASE PRE-ANALITICA dei CAMPIONI RESPIRATORI nel contesto di area vasta**

*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**

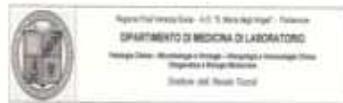
**Viene garantita:**

- **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 Agnese - Padova  
DIPARTIMENTO DI MEDICINA DI LABORATORIO  
Prestazioni: Microbiologia e Immunità - Citologia e Istologia - Chimica  
Biotecnica 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



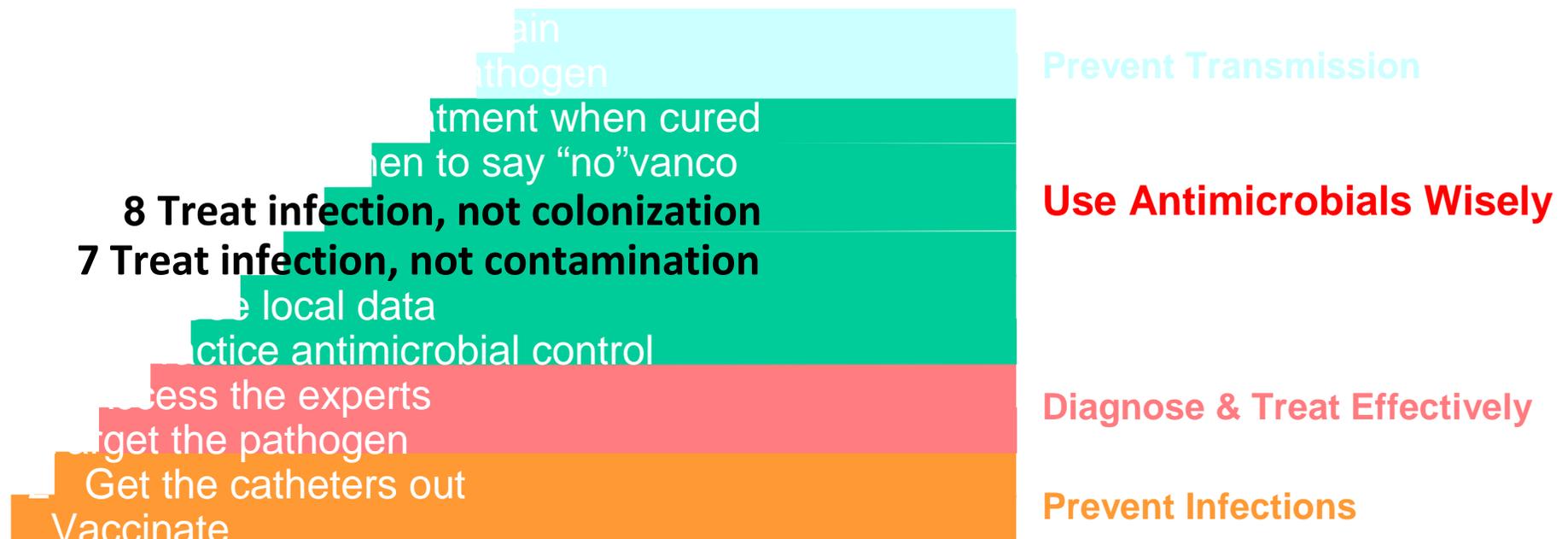
## RELAZIONE TRA INDIVIDUAZIONE DELL'AGENTE EZIOLOGICO E APPROPRIATEZZA DELLA TERAPIA

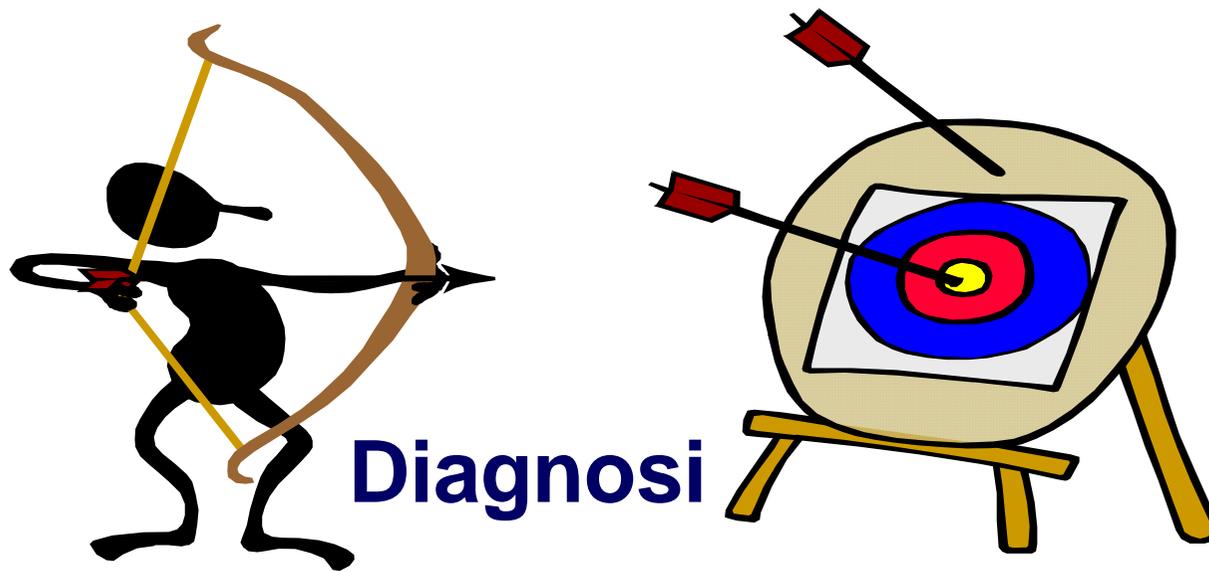
Naming a specific organism in a **situation** where it was **unlikely to be a pathogen** lead to **inappropriate therapy...**

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

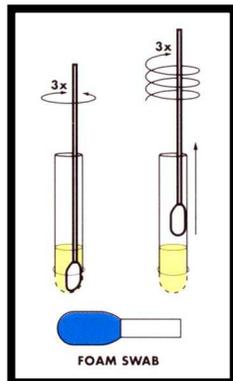


# 12 Steps to Prevent Antimicrobial Resistance





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

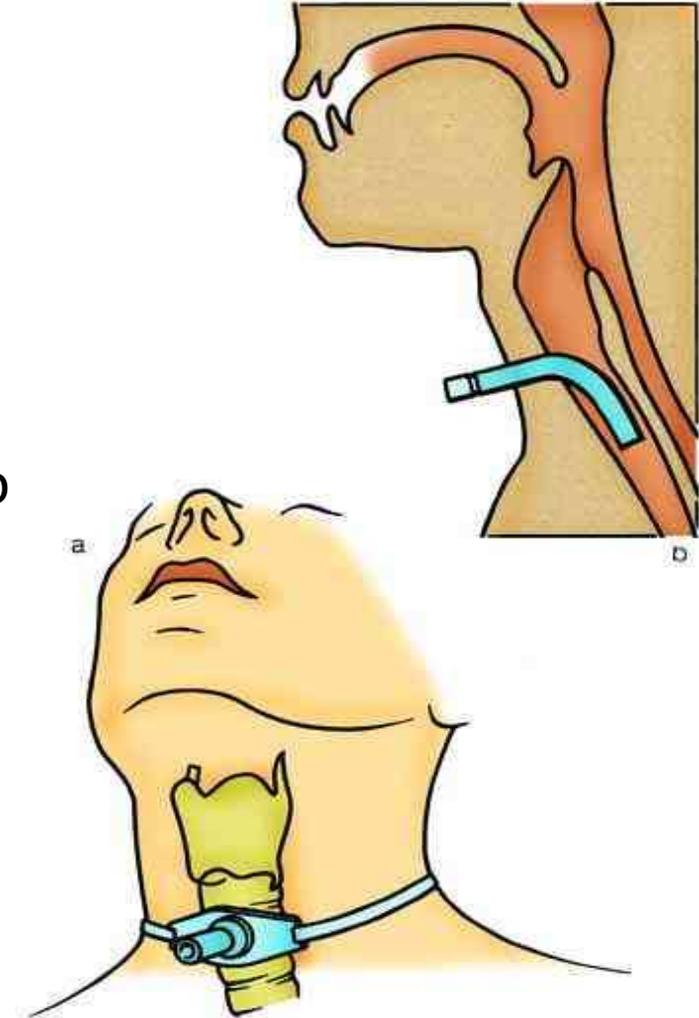
- **Espettorato**: utilità controversa
- **Aspirato transtracheale**: poco idoneo (la trachea è molto colonizzata).
- **Broncoaspirato**: metodo poco sensibile, soprattutto se non protetto
- **Lavaggio broncoalveolare , Brushing e Lavaggio bronco-alveolare mirato con cateterino** :  
molto sensibili, 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

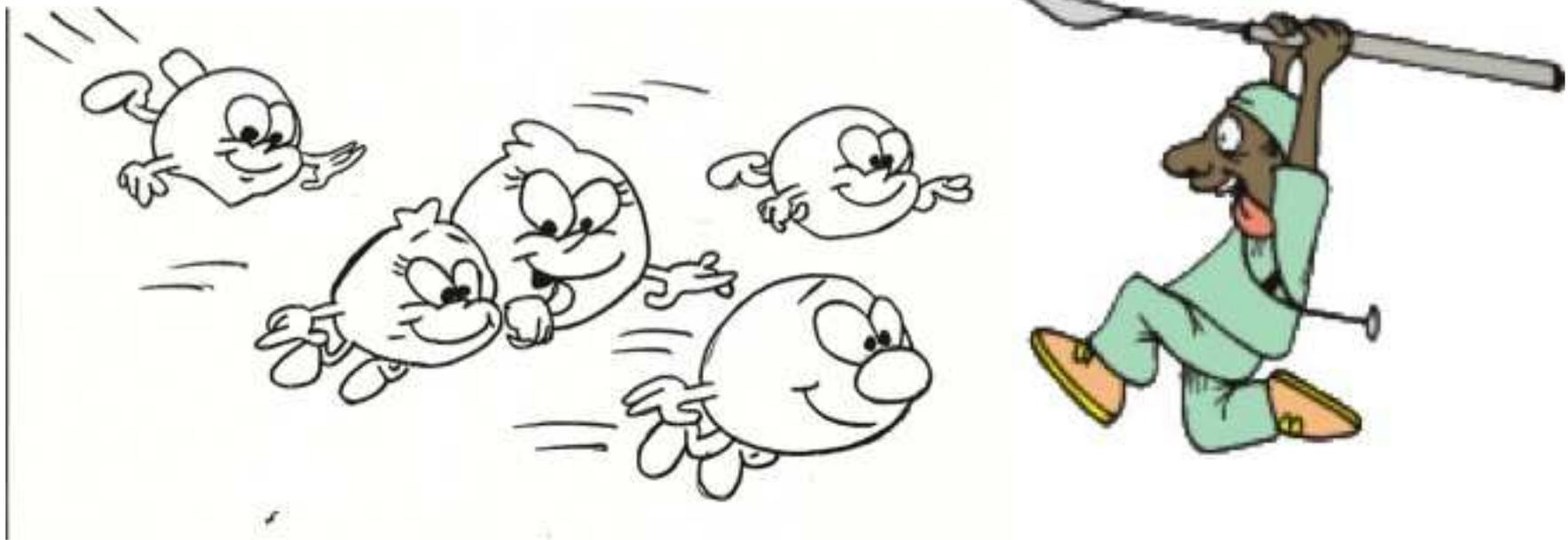
- **Materiali ad alto rischio di **contaminazione** con flora batterica delle alte vie respiratorie/cavo orale**
  - **Espettorato (anche indotto)**
  - **Aspirato endotracheale / bronchiale**

# 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

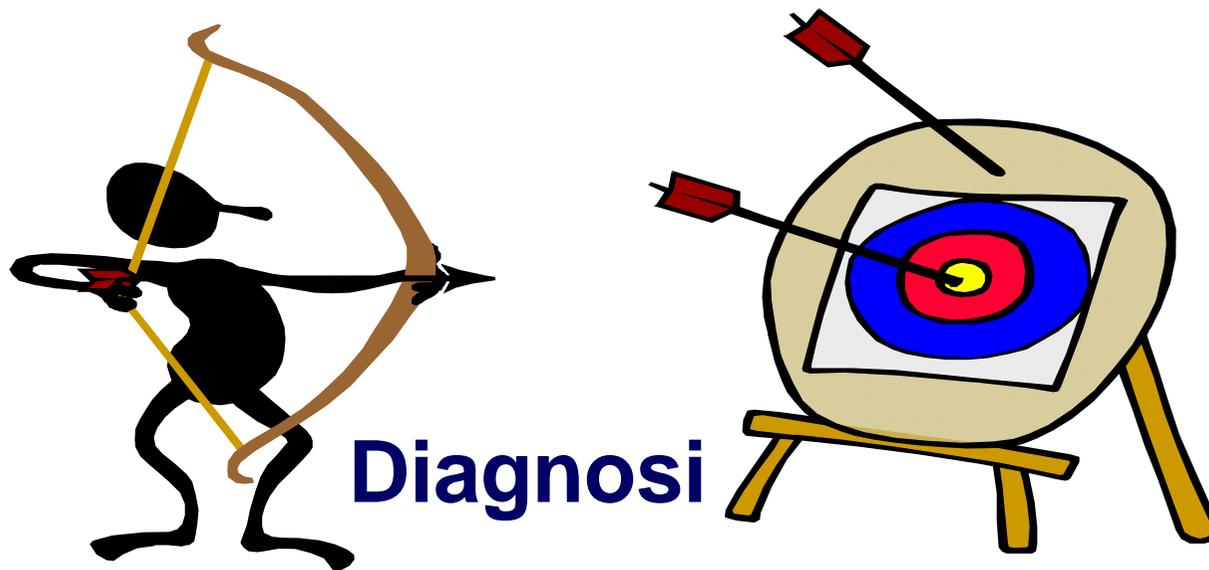
- **Procedura invasiva**
- Fattori che condizionano la "qualità" del BAL
  - competenza dell'esecutore
  - recupero > 10% della soluzione instillata
  - immediato invio alla microbiologia
  - terapia antibiotica in corso

# 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 species</i>	4 (3.3)	12 (3.8)
<i>Proteus species</i>	3 (2.5)	14 (4.5)
<i>Serratia marcescens</i>	3 (2.5)	7 (2.2)
<i>Klebsiella species</i>	2 (1.7)	11 (3.5)
<i>Citrobacter species</i>	1 (0.8)	7 (2.2)
<i>Morganella morganii</i>	1 (0.8)	3 (1.0)
<i>Moraxella species</i>	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 species</i>	19 (15.7)	28 (9.0)
<i>Neisseria species</i>	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 species</i>	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 species</i>	4 (3.3)	12 (3.8)
<i>Proteus species</i>	3 (2.5)	14 (4.5)
<i>Serratia marcescens</i>	3 (2.5)	7 (2.2)
<i>Klebsiella species</i>	2 (1.7)	11 (3.5)
<i>Citrobacter species</i>	1 (0.8)	7 (2.2)
<i>Morganella morganii</i>	1 (0.8)	3 (1.0)
<i>Moraxella species</i>	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 species</i>	19 (15.7)	28 (9.0)
<i>Neisseria species</i>	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 species</i>	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.



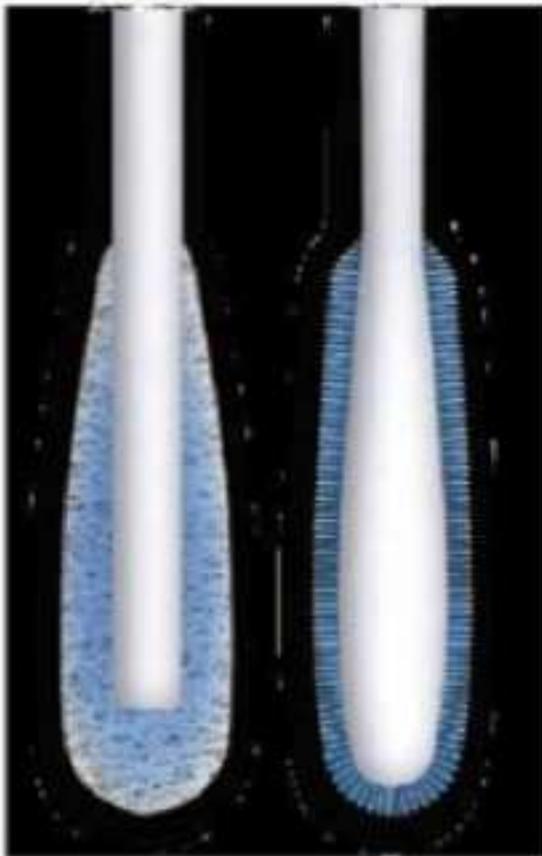
**Il corretto trasporto dei campioni** clinici è uno dei più importanti fattori che possono influire sull'efficacia della diagnostica microbiologica.

# 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



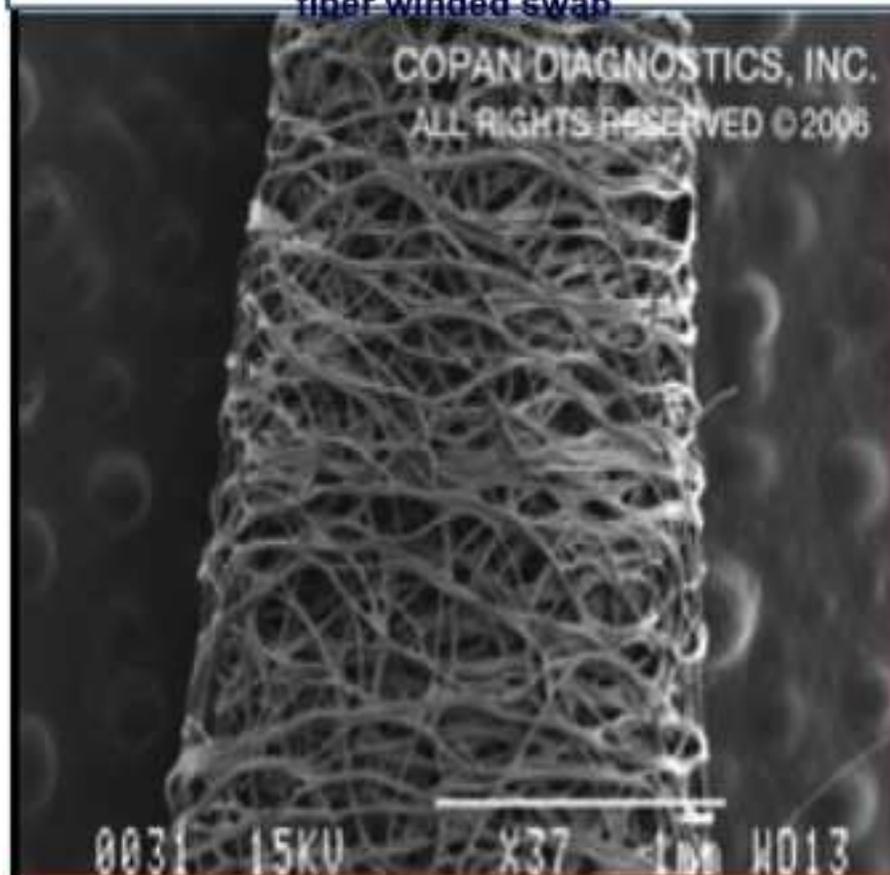
La peculiarità di questo nuovo dispositivo è la **capacità di rilasciare in modo istantaneo e quasi completo il campione prelevato (sino al 95% del prelievo): il rilascio del campione avviene all'immediato inserimento del tampone nel terreno di trasporto contenuto nella provetta.**



## STRUTTURA DEI TAMPONI

### TAMPONE STANDARD

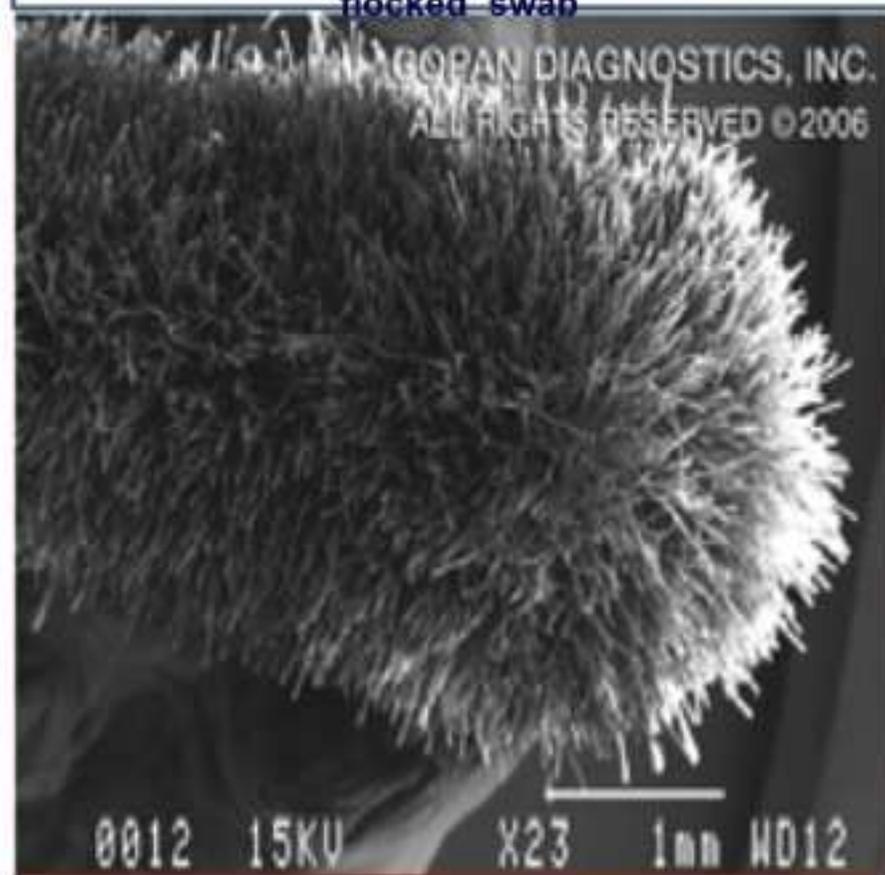
Electron Microscope photograph of traditional  
fiber-winded swab



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

### TAMPONE FLOCCATO

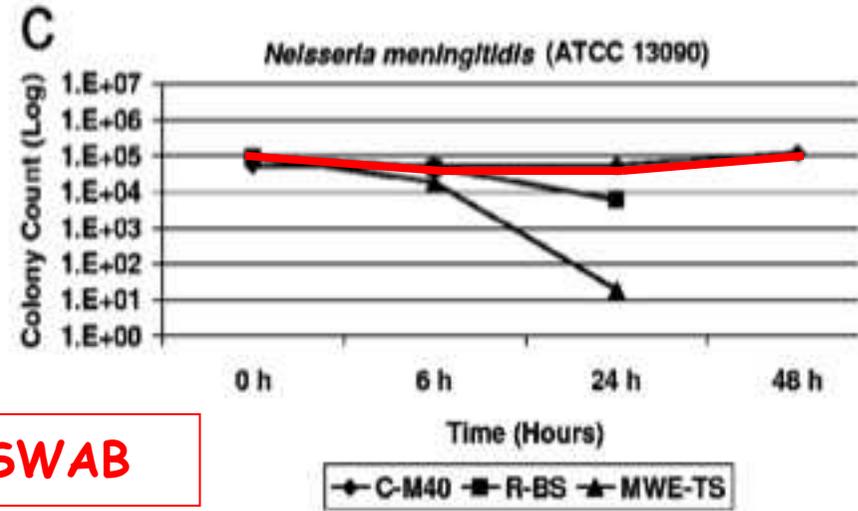
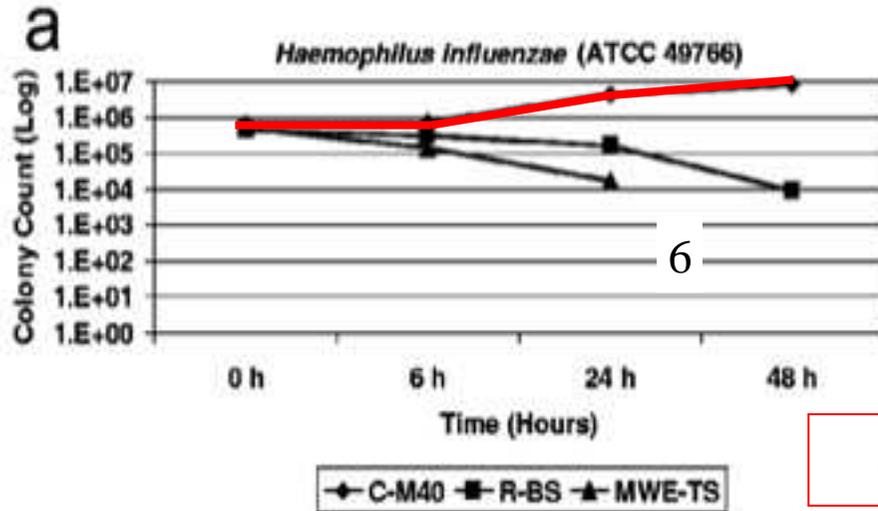
Electron Microscope photograph of a nylon  
flocked swab



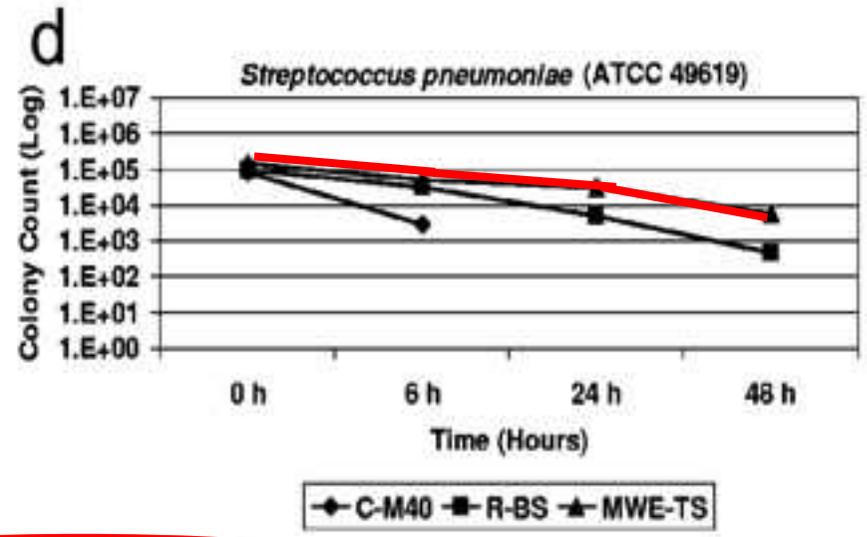
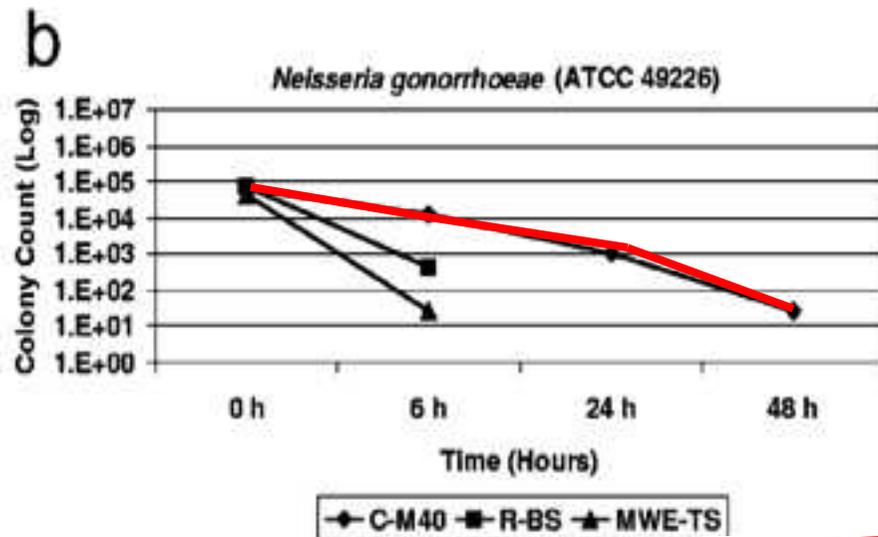
**Fibra regolare, incollata in modo  
perpendicolare  
Meno di 6 m di fibra**

# 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



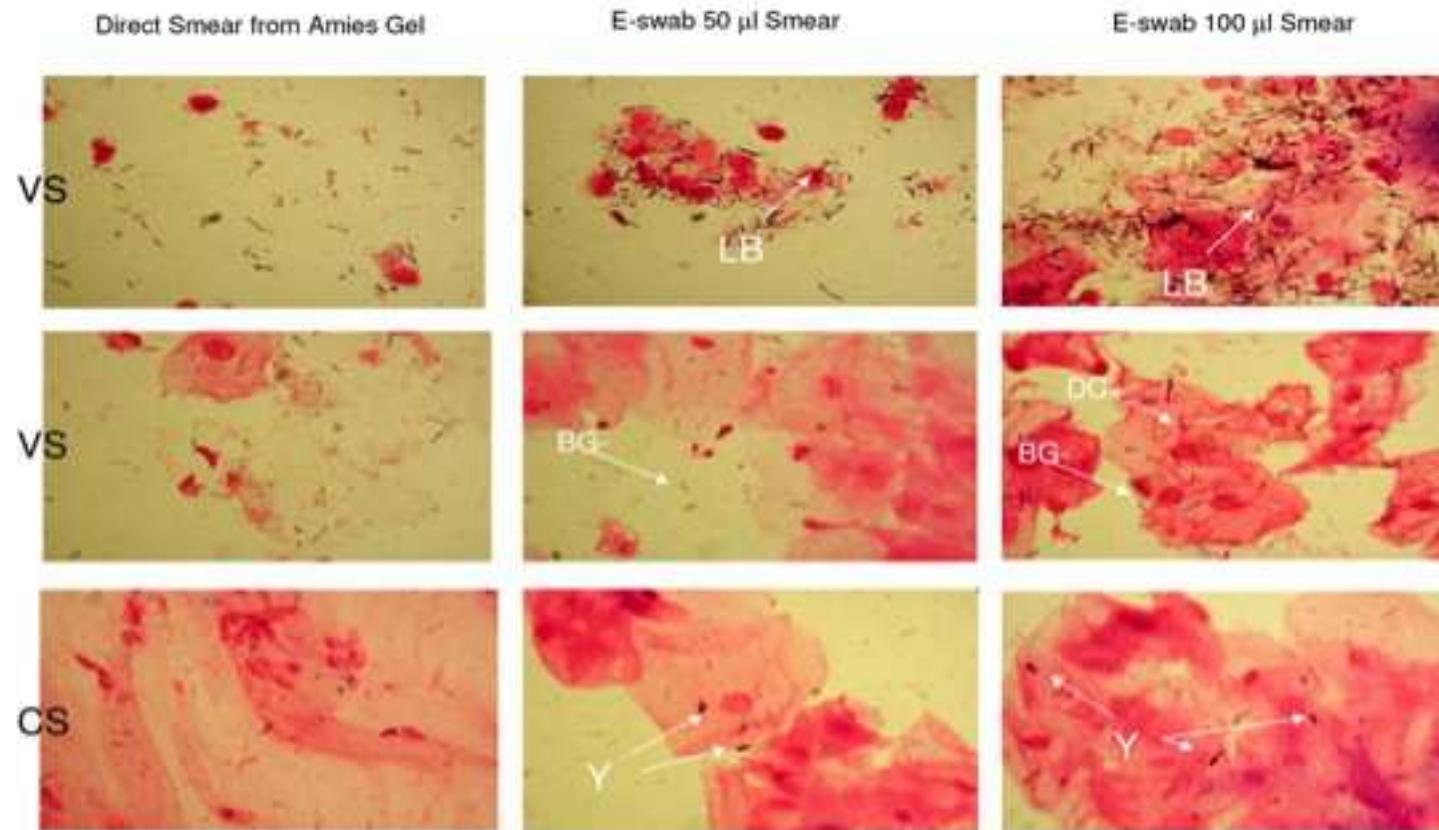
ESWAB



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  $\mu$ 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

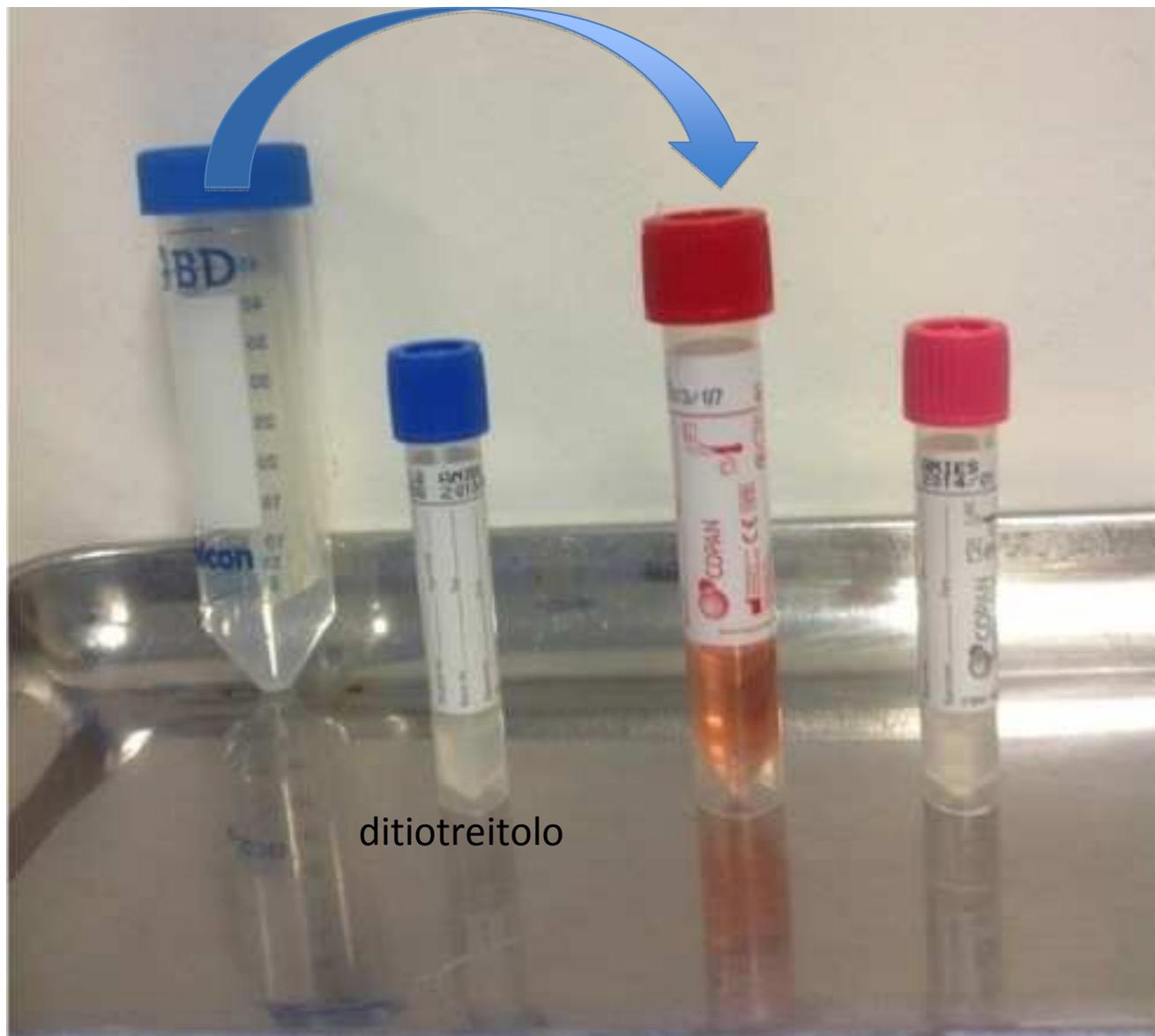
*Direttore: dott. Renato Tozzoli*

**Microbiologia e Virologia**

### **IO 318 MV Campionamenti Microbiologia Virologia per Laboratorio**

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

# RACCOLTA e TRASPORTO



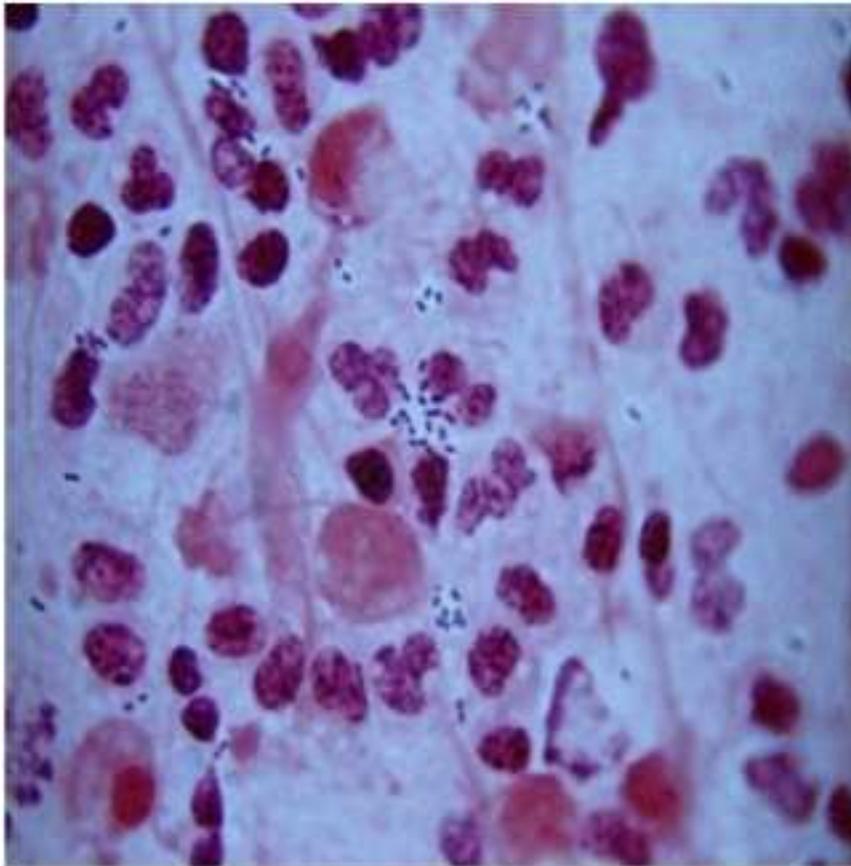
# DISTRETTI NON STERILI

## Criterio di idoneità

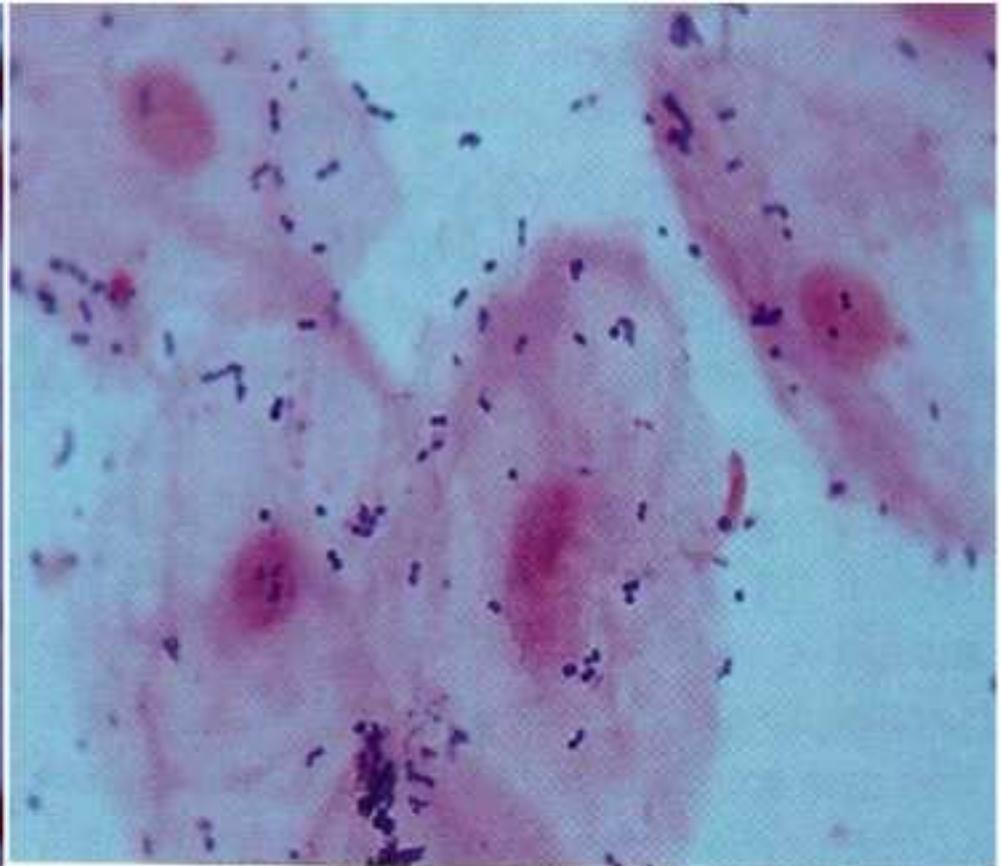
### Esame microscopico:

*CRITERI DI BARTLETT*

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

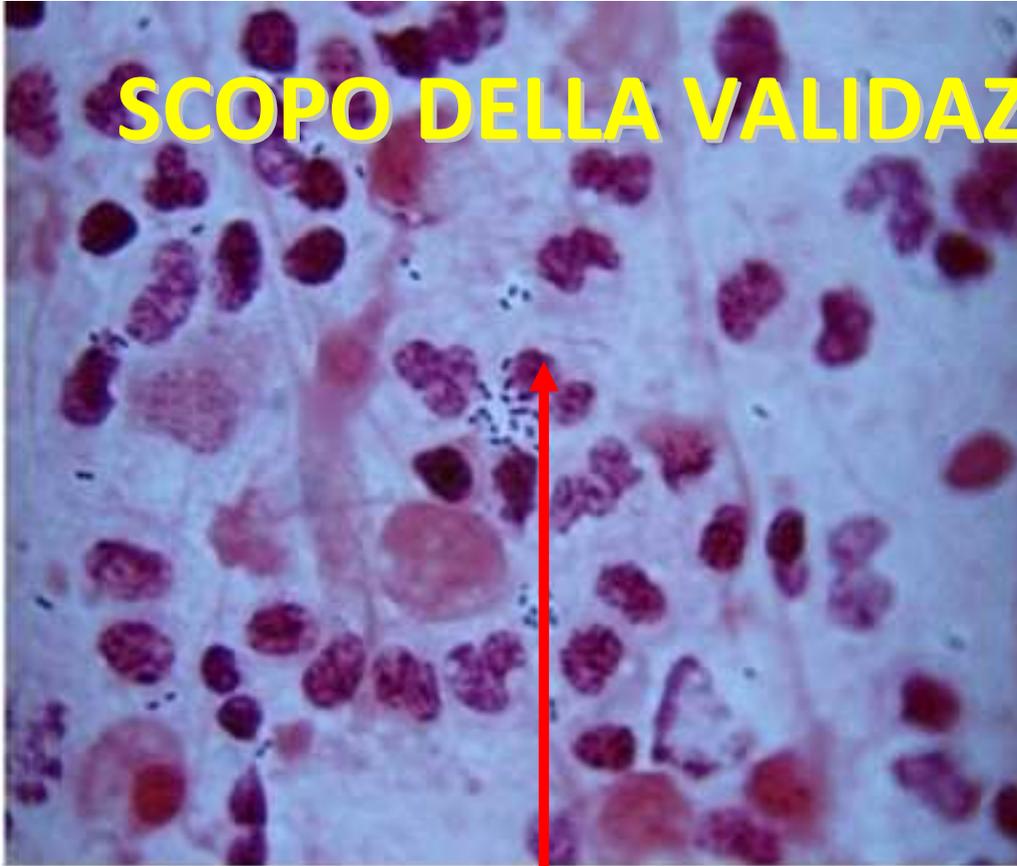


**Idoneo**



**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***