

METODO STANDARD NAZIONALE

# RICERCA SU EMOCOLTURE (PER MICRORGANISMI DIVERSI DALLE SPECIE *MYCOBACTERIUM*)

BSOP 37

Emesso dalla Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory  
Centre for Infections

Association of Medical Microbiologists  
Association of Medical Microbiologists  
Association of Medical Microbiologists



## INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 1 di 34  
Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

# STATO DEI METODI STANDARD NAZIONALI

I Metodi Standard Nazionali, che includono le standard operating procedures (SOPs), algoritmi e linee guida, promuovono l'adozione di elevati livelli di qualità, contribuendo ad assicurare la possibilità di confronto delle informazioni diagnostiche ottenute in laboratori diversi. Ciò consente la standardizzazione della sorveglianza sostenuta dalla ricerca, sviluppo e verifica, promuovendo nello stesso tempo la salute pubblica e la fiducia del paziente nelle proprie strutture sanitarie. I metodi sono ben referenziati e rappresentano un buon standard minimo per la microbiologia clinica e per la salute pubblica. Comunque, utilizzando i Metodi Standard Nazionali, i laboratori dovranno tenere in considerazione le esigenze locali e potranno intraprendere ricerche aggiuntive. I metodi forniscono inoltre un punto di riferimento per un loro ulteriore sviluppo.

I Metodi Standard Nazionali sono stati sviluppati, revisionati ed aggiornati con una procedura aperta di consenso ove le opinioni di tutti i partecipanti sono state tenute in adeguata considerazione ed i documenti elaborati riflettono il consenso della maggior parte degli stessi.

I rappresentanti di alcune organizzazioni professionali, incluse quelle il cui logo appare sulla prima pagina, sono membri dei gruppi di lavoro che sviluppano i Metodi Nazionali Standard. L'inclusione del logo di una organizzazione nella prima pagina implica sostegno agli obiettivi ed al processo di preparazione dei metodi standard. I componenti di queste organizzazioni scientifiche hanno partecipato allo sviluppo dei Metodi Nazionali Standard ma le loro opinioni personali non rispecchiano necessariamente quelle dell'organizzazione di cui sono membri. L'elenco attuale delle organizzazioni professionali partecipanti può essere ottenuto tramite e-mail all'indirizzo [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk).

Le prestazioni dei metodi standard sono condizionate dalla qualità di reagenti, strumentazione, procedure commerciali o prove messe a punto in loco. I laboratori dovrebbero assicurare che queste siano state validate e dimostrate idonee allo scopo prefissato. Devono essere adottate procedure di controllo di qualità interno ed esterno.

Nonostante siano state osservate le più scrupolose attenzioni nella preparazione di questa pubblicazione, la Health Protection Agency o qualsiasi organizzazione di sostegno non può essere ritenuta responsabile dell'accuratezza o dell'utilizzo o di qualsiasi conseguenza derivante dall'uso o da modifiche delle informazioni contenute in questo documento. Queste procedure sono intese solamente come una risorsa generale per i professionisti che esercitano in questo settore, operanti nel Regno Unito, pertanto si dovrà ricorrere ad altri consulenti quando ritenuto necessario. Se si apportano modifiche a questa pubblicazione, si deve porre in evidenza dove sono state apportate modifiche al documento originale. La Health Protection Agency (HPA) dovrà essere menzionata in ogni circostanza.

La Health Protection Agency è una organizzazione indipendente che ha lo scopo di proteggere la salute della popolazione. Ad essa confluiscono esperienze professionali già appartenenti ad organizzazioni ufficiali. Maggiori informazioni riferibili alla HPA possono essere ottenute al sito [www.hpa.org.uk](http://www.hpa.org.uk).

La Health Protection Agency è un'organizzazione che mira ad essere completamente in accordo con le direttive Caldicott. Ciò significa prendere ogni possibile precauzione per prevenire la diffusione non autorizzata di informazioni sui pazienti e di garantire che le informazioni relative agli stessi siano mantenute in condizioni di sicurezza<sup>1</sup>.

Maggiori dettagli possono essere ottenuti dal sito web [www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk). Contributi allo sviluppo dei documenti possono essere forniti contattando l'indirizzo [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk).

*Per cortesia prendere nota che la bibliografia è attualmente formattata con il software Reference Manager. Se si modifica o si cancella il testo senza avere installato nel computer il Reference Manager, la bibliografia non sarà aggiornata automaticamente.*

## Riferimento suggerito per questo documento:

Health Protection Agency (2005). *Investigation of blood cultures (for organisms other than mycobacterium species)*. National Standard Method BSOP 37 Emissione 5. [http://www.hpastandardmethods.org.uk/pdf\\_sops.asp](http://www.hpastandardmethods.org.uk/pdf_sops.asp).

### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 2 di 34

Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

# INDICE

<b>STATO DEI METODI NAZIONALI STANDARD</b> .....	<b>2</b>
<b>INDICE</b> .....	<b>3</b>
<b>PROCEDURA DI MODIFICA</b> .....	<b>4</b>
<b>SCOPO DEL DOCUMENTO</b> .....	<b>5</b>
<b>INTRODUZIONE</b> .....	<b>5</b>
<b>1.0 CONSIDERAZIONI SULLA SICUREZZA</b> .....	<b>17</b>
1.1 RACCOLTA DEL CAMPIONE.....	17
1.2 TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE.....	17
1.3 PROCEDURA ANALITICA SUL CAMPIONE .....	17
<b>2.0 PRELIEVO DEL CAMPIONE</b> .....	<b>17</b>
2.1 TEMPO OTTIMALE PER IL PRELIEVO DEL CAMPIONE .....	17
2.2 TIPO DI CAMPIONE APPROPRIATO E METODO DI PRELIEVO .....	18
2.3 QUANTITA' E NUMERO APPROPRIATO DI CAMPIONI .....	18
<b>3.0 TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE</b> .....	<b>18</b>
3.1 TEMPO FRA PRELIEVO DEL CAMPIONE E LA PROCEDURA ANALITICA .....	18
3.2 ACCORGIMENTI PARTICOLARI PER RIDURRE IL DETERIORAMENTO .....	19
<b>4.0 PROCEDURA SUL CAMPIONE</b> .....	<b>19</b>
4.1 INCUBAZIONE DEI FLACONI .....	19
4.2 ASPETTO .....	19
4.3 MICROSCOPIA .....	19
4.4 COLTURA E MODALITA' DI RICERCA .....	20
4.5 IDENTIFICAZIONE .....	23
4.6 PROVE DI SENSIBILITA' AGLI ANTIMICROBICI .....	23
<b>5.0 PROCEDURA DI REFERTAZIONE</b> .....	<b>24</b>
5.1 MICROSCOPIA .....	24
5.2 COLTURA .....	24
5.3 PROVE DI SENSIBILITA' .....	24
<b>6.0 SEGNALAZIONI ALLA HPA (LOCALE E SERVIZI NAZIONALI E CDSC, CENTRO PER LE INFEZIONI)</b> .....	<b>25</b>
<b>RINGRAZIAMENTI ED INDIRIZZI</b> .....	<b>25</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>26</b>

## INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 3 di 34  
Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

# PROCEDURA DI MODIFICA

Documento di riferimento controllato	BSOP 37
Titolo del documento controllato	Procedura Operativa Standard per la ricerca su emocolture (per microrganismi diversi dalle specie <i>Mycobacterium</i> )

Ciascun documento controllato possiede una registrazione separata con le correzioni specificate in modo dettagliato in questa Procedura di Modifica. Le precedenti modifiche sono disponibili presso la [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk).

Sull'emissione di pagine nuove o rivedute ciascun documento controllato deve essere aggiornato dal proprietario del Laboratorio

Modifica Numero/ Data	Emissione no. Scartata	Inserita Emissione no.	Pagina	Sessione(i) interessate	Modifica
6/ 03.05.05	4.1	5	Tutte	<b>Intero documento</b>	Bibliografia e contenuti revisonati ed aggiornati
			33	<b>Ringraziamenti ed Indirizzi</b>	Aggiunta nuova sezione

## INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 4 di 34  
Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

# PROCEDURE OPERATIVE STANDARD PER LA RICERCA SU EMOCOLTURE (PER MICRORGANISMI DIVERSI DALLE SPECIE DI *MYCOBACTERIUM*)

**Tipo di campione:** Emocoltura

Quando appropriato, altri tipi di campioni possono essere processati nei flaconi per emocoltura, consultare BSOP 26 Ricerca su liquidi da siti normalmente sterili.

## SCOPO DEL DOCUMENTO

Questa SOP descrive la procedura e la ricerca batteriologica delle emocolture. Non è idonea per la ricerca di parassiti, virus, microrganismi associati ad azioni di bioterrorismo e diffusione volontaria di specie *Mycobacterium* (consultare BSOP 7, Ricerca per specie *Mycobacterium* con emocolture) o elencare specifiche caratteristiche per i sistemi commercialmente disponibili.

## INTRODUZIONE

L'isolamento colturale dei microrganismi dal sangue è una condizione indispensabile per la diagnosi di laboratorio di batteriemia, endocardite infettiva e di molte patologie infettive associate ad una condizione clinica di febbre di origine ignota (FOI). Rappresenta anche un'importante fattore nella diagnosi di infezione del materiale protesico (come giunti articolari ed innesti vascolari) e di sepsi associate a catetere endovascolare. Le emocolture possono anche rilevare batteriemia in associazione ad altre malattie infettive, quali l'artrite settica e la polmonite. I risultati precoci forniscono importanti informazioni diagnostiche su cui si possono intraprendere appropriate terapie antimicrobiche, contribuendo in tal modo a ridurre la mortalità<sup>2</sup>.

Il sangue circolante contiene numerosi componenti ad azione antimicrobica comprendenti lisozima, leucociti, immunoglobuline e complemento. I batteri possono penetrare nel sangue da un focus di infezione presente in un sito corporeo, da una sede superficiale colonizzata da flora normale tramite la rottura della cute o delle membrane mucose, dal tratto gastrointestinale o per introduzione diretta nel sistema vascolare di materiale contaminato<sup>2, 3</sup>. Questi batteri sono solitamente rimossi dal sangue circolante in pochi minuti, e solo quando le difese dell'ospite sono sopraffatte o eluse, l'infezione sistemica diviene apparente. La mortalità dipende dalla tipologia del microrganismo infettante e dalla natura della malattia soggiacente<sup>4-6</sup>.

In assenza di qualsiasi altro fattore di rischio (quali viaggio all'estero, lavoro in laboratorio clinico o veterinario che condiziona un rischio di infezione) i casi o i raggruppamenti dei microrganismi di seguito riportati suggeriscono la possibilità di una loro diffusione volontaria. Il sospetto di diffusione volontaria dei microrganismi deve essere notificato immediatamente al Responsabile del Communicable Disease Control e al Communicable Disease Surveillance Center:

- *Bacillus anthracis* # (agente causale dell'antrace)
- Specie\* *Brucella* (agente causale della brucellosi – sinonimi “febbre ondulante”; “febbre di Malta” “febbre mediterranea”)
- *Burkholderia mallei* (agente causale dei glanders)
- *Burkholderia pseudomallei* (agente causale della melioidosi – sinonimo “pneumoenterite”)
- *Yersinia pestis* # (agente causale della peste)

#### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 5 di 34  
Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

- *Francisella tularensis* (agente causale della tularemia – sinonimi “febbre di Deerfly”, “febbre del coniglio”)

Tutti i microrganismi precedentemente elencati sono potenzialmente pericolosi da manipolare nel laboratorio clinico, in modo particolare le specie *Brucella*, *F. tularensis*, e *B. mallei*. Le specie patogene di *Burkholderia* sono particolarmente pericolose per lavoratori con condizioni modificate o deficienti del sistema immunitario, includenti il diabete mellito.

**Nota:** # Antrace e # peste sono soggetti ad obbligo di denuncia all’Autorità Locale ; “ la brucellosi è da notificare secondo le modalità dello Zoonosis Order 1989.

**La batteriemia** è indice di presenza di microrganismi nel sangue. Può essere a carattere transitorio, intermittente o continua<sup>7</sup>.

**La batteriemia transitoria** esprime una condizione correlata alla presenza di batteri nel sistema circolatorio per periodi di pochi minuti. Può essere conseguente a manipolazioni di, o chirurgia in, tessuti infetti o a manovre strumentali su superfici mucose colonizzate. Sono esempi di tipo comune l’estrazione dentale e la cateterizzazione delle vie urinarie. Può essere determinata dalla masticazione in caso di scarsa igiene dentale. Anche la defecazione può essere associata all’ingresso di un esiguo numero di batteri nel sistema circolatorio. La pressione sui foruncoli o condizioni di banali esposizioni cutanee (quali spremitura di foruncoli) possono indurre una batteriemia transitoria. I drogati per via endovenosa possono anche divenire sorgente di infezione tramite aghi contaminati o droghe. La batteriemia transitoria può anche manifestarsi in corso di infezioni localizzate quali la polmonite pneumococcica e la pielonefrite.

**La batteriemia intermittente** esprime una batteriemia “transitoria ricorrente” ed è associata in modo caratteristico ad accessi intra-addominali non drenati. Si manifesta precocemente in corso di numerose infezioni localizzate o sistemiche, quali la batteriemia pneumococcica nella polmonite da pneumococco. Le colture prelevate in fase febbrile e dopo l’insorgenza dei brividi possono non rilevare la batteriemia intermittente in quanto i microrganismi tendono a scomparire prima del prelievo in seguito all’attivazione dei meccanismi di difesa dell’ospite.

**La batteriemia continua** suggerisce la presenza di una grave infezione che ha sovrastato le difese dell’ospite. E’ inoltre caratteristica delle infezioni endovascolari quali l’endocardite infettiva e la tromboflebite suppurativa.

Occasionalmente, la batteriemia continua si manifesta associata a sorgenti extra vascolari, in modo particolare nei pazienti immunodepressi.

Due set di emocolture in un periodo non definito (in pratica in alcune ore o giorni) aumenteranno la sensibilità dell’isolamento<sup>8-11</sup>. Raramente è giustificato prelevare più di due set poiché la sensibilità non aumenta ulteriormente. Un’eccezione a questa regola dovrebbe riguardare l’endocardite nel caso in cui le precedenti emocolture sono risultate negative. In questo caso potrebbe essere opportuno prelevare fino a quattro set di emocolture<sup>12</sup>.

**La setticemia** è una condizione difficile da definire. Il termine è spesso utilizzato in modo intercambiabile con la batteriemia e la sepsi e di solito implica la presenza di sintomatologia clinica o la possibilità o meno che i batteri siano in grado di moltiplicarsi nel sangue, condizione questa che peraltro non può essere verificata<sup>3, 4</sup>.

I sintomi sono spesso aspecifici e la diagnosi si avvale frequentemente sulla consistenza del sospetto clinico. I sintomi possono includere febbre, brividi, ipotensione o il paziente può soffrire di un aggravamento della malattia con comparsa di tossiemia, acidosi, rigidità ed insufficienza di numerosi organi. La febbre non è presente in tutti i pazienti con infezione, particolarmente negli anziani<sup>11</sup>, ed in alcuni la temperatura rimane inferiore a 38°C<sup>2, 13</sup>. La febbre può essere modificata od eradicata con antipiretici quali il paracetamolo.

**La sepsi** è un termine utilizzato per descrivere lo stato in cui esiste l’evidenza clinica di una infezione e pure di una risposta sistemica, che si manifesta con febbre, tachicardia e tachipnea<sup>4</sup>.

**La sindrome settica** è definita come una sepsi nella quale si evidenzia anche un’anomala irrorazione degli organi, con comparsa di almeno uno dei seguenti riscontri: lattati ematici elevati, oliguria, condizione mentale alterata od ipossia arteriosa<sup>4</sup>.

**Lo shock settico** si manifesta in pazienti con sindrome settica ed ipotensione.

#### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 6 di 34

Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

**Patogenesi della sindrome settica** – La sintomatologia clinica è di solito dovuta a prodotti tossici di origine batterica, alla risposta dell'ospite a questi o ad entrambe. Lo stato di shock è più frequentemente riscontrato in corso di setticemia da Gram negativi. La porzione lipidica A dell'endotossina, sita nella membrana lipopolisaccaridica esterna, innesca una catena di reazioni, includenti la produzione del tumor-necrosis factor (TNF)<sup>14</sup>, interleuchina 1 (IL-1) e l'attivazione del complemento, che contribuisce alla risposta allo shock osservato nei pazienti. Il TNF è ritenuto il principale mediatore dello shock tossico<sup>14</sup>.

Lo shock può anche essere associato a microrganismi Gram positivi, in modo particolare con batteriemie pneumococciche fulminanti, a streptococchi di gruppo A di Lancefield e stafilococchi. Sebbene i microrganismi Gram positivi siano privi di lipopolisaccaride, questi sono dotati di altre componenti della parete batterica, come il peptidoglicano, che sono in grado di produrre effetti simili<sup>3</sup>. Il meccanismo d'azione delle tossine non è ancora del tutto noto, ma si ritiene che queste agiscano da super-antigene causando una consistente proliferazione di T linfociti e produzione di IL-1 e TNF<sup>14</sup>.

Gli agenti antimicrobici sono di scarso ausilio nel combattere gli effetti acuti dello shock, e sono essenziali altri interventi di supporto quali la ventilazione meccanica ed il mantenimento della pressione circolatoria.

**La pseudobatteriemia** si riscontra quando gli isolati colturali originano da sedi diverse da quelle del sangue circolante del paziente. La contaminazione dell'emocoltura si può realizzare in qualsiasi fase compresa fra il prelievo ematico e le procedure di laboratorio e può originare da sorgenti di diverso tipo. Sono state descritte epidemie da pseudobatteriemie. Queste solitamente sono imputabili a contaminazione dei liquidi con microrganismi ambientali, od a prelievo di sangue non corretto<sup>15, 18</sup>.

## INFEZIONE DEL SISTEMA CIRCOLATORIO IN PAZIENTI IMMUNOCOMPETENTI

**La batteriemia acquisita in comunità** insorge spesso in paziente in precedenza in buona salute, solitamente in associazione con infezioni focali evidenti quali la polmonite pneumococcica. I microrganismi possono inoltre entrare nel sangue provenendo dalla flora commensale propria del paziente o da un sito non rilevabile e causare infezioni di tipo metastatico come talvolta in corso di osteomielite da *Staphylococcus aureus*<sup>3</sup>. Altre malattie con batteriemia generalizzata includono la febbre enterica (quale la tifoidea) e la brucellosi.

I microrganismi più comunemente isolati negli adulti con batteriemia acquisita in comunità includono<sup>2, 3, 13, 19</sup>:

- *Escherichia coli*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *S. aureus*
- Altre Enterobacteriaceae
- *Neisseria meningitidis*
- Streptococchi β-emolitici

La meningococcemia cronica si manifesta occasionalmente in pazienti con difetto ereditario dei meccanismi di difesa umorale come nelle deficienze del complemento<sup>20</sup>. Episodi febbrili intermittenti di 2 –10 giorni di durata sono associati ad una varietà di lesioni cutanee ed artralgie migranti e mialgie. I microrganismi possono essere isolati dal sangue in modo continuo od intermittente. L'infezione può permanere per mesi e può risolversi spontaneamente, ma la risposta ad una terapia antibiotica appropriata è immediata.

L'infezione gonococcica disseminata (IGD)<sup>21</sup>, malattia di tipo batteriemico, si manifesta in circa l'1-2% dei pazienti con gonorrea non trattata. I sintomi possono comprendere poliartrite asimmetrica, artralgie, mialgie ed una caratteristica dermatite, sebbene il paziente spesso non manifesti clinicamente una condizione di tossicità. E' spesso presente un'infezione mucosa asintomatica, pertanto siti potenzialmente infettati (quali uretra, cervice, faringe, retto) dovrebbero essere controllati nel caso si sospetti una IGD. Si deve porre attenzione nell'interpretazione microscopica dei diplococchi Gram negativi da emocolture positive in condizioni cliniche nelle quali è possibile un'infezione gonococcica. La morfologia dei gonococchi e dei meningococchi è identica e pertanto la loro identificazione risulta importante. Ciò perché i meningococchi possono determinare un quadro clinico simile (quale l'artrite settica).

**Batteriemia acquisita in ospedale** – L'aumento del ricorso alle procedure invasive quali cateterizzazione, terapia antibiotica, farmaci immunosoppressivi e misure di sostegno alla sopravvivenza, hanno determinato un consistente aumento delle batteriemie acquisite in ospedale. Queste procedure possono condurre all'ingresso dei microrganismi nel sangue o possono indebolire le difese dell'ospite. I microrganismi più

### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 7 di 34

Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

frequente isolati negli adulti con infezione circolatoria acquisita in ospedale dipendono dalla tipologia del paziente e mutano con la durata della permanenza in ospedale. I microrganismi comprendono<sup>13, 16, 19</sup>:

- Stafilococchi coagulasi negativi
- *E. coli*
- *S. aureus*
- Altre Enterobacteriaceae
- *Pseudomonas aeruginosa*
- Enterococchi
- Anaerobi
- *S. pneumoniae*
- Lieviti

Molti altri microrganismi sono stati riscontrati nelle batteriemie acquisite in ospedale e in comunità<sup>3, 22-30</sup>.

**Batteriemia causata da anaerobi** è ancora riscontrata nonostante il diffuso ricorso alla profilassi ed alla terapia antibiotica con composti dotati di buona attività contro i microrganismi anaerobi<sup>31, 32</sup>.

Sebbene rara, la necrobacillosi (Sindrome di Lemierre) è una grave forma di setticemia da anaerobi causata principalmente dalle specie *Fusobacterium*. Questa infezione è più frequente in giovani adulti in precedenza in buone condizioni di salute ed è caratterizzata da faringodinia seguita da endoflebite suppurativa del sistema venoso giugulare, brividi e setticemia<sup>32, 33</sup>. Se non trattata questa forma morbosa può essere rapidamente fatale.

**Infezione del sistema circolatorio nei bambini** – L'eziologia della batteriemia pediatrica nei recenti anni è mutata. Le infezioni da *Haemophilus influenzae* di tipo b sono diminuite in modo significativo in seguito al programma Hib di vaccinazione, mentre sono aumentate le infezioni nosocomiali di tipo sistemico. I microrganismi di più frequente riscontro isolati dai bambini con batteriemie di tipo comunitario includono:

- *S. pneumoniae*
- *N. meningitidis*
- *S. aureus*
- *E. coli*

I microrganismi implicati nelle infezioni nosocomiali sono simili a quelli isolati negli adulti. Le batteriemie polimicrobiche e quelle da anaerobi si manifestano meno frequentemente nei bambini rispetto agli adulti<sup>34</sup>.

Batteriemie occulte<sup>35</sup> si possono manifestare nei bambini con sintomatologia scarsa o assente, di solito associate ad infezione del sistema circolatorio. La febbre può essere il solo sintomo, ma non è specifica. I microrganismi responsabili in modo predominante sono gli *S. pneumoniae*, ma sono state segnalate infezioni occulte da *H. influenzae*, specie *Salmonella* e specie *N. meningitidis*.

**Nei neonati**, gli streptococchi di Gruppo B di Lancefield, *E. coli*, stafilococchi coagulasi negativi e le specie di *Candida* risultano gli isolati dal sangue più frequenti.

I problemi connessi alla diagnosi di batteriemia nei bambini e nei neonati includono la raccolta del campione, ridotto volume di sangue, numero e cadenza dei campioni, e contaminazione. La concentrazione dei microrganismi nel sangue dei bambini e dei neonati è solitamente superiore a quella degli adulti sebbene siano state descritte concentrazioni inferiori a 500 unità formanti colonia per litro (ufc/L)<sup>34, 36-38</sup>

**Batteriemia correlata a catetere** – La conferma che il catetere rappresenti la sorgente di un'infezione nelle batteriemie o fungiemie correlate a catetere endovenoso (CEV) è spesso difficile. Frequentemente non esiste evidenza di infezione nel sito di inserzione del catetere, ed i microrganismi interessati sono spesso appartenenti alla flora cutanea normale e sono comuni contaminanti delle emocolture<sup>39</sup>

La diagnosi di batteriemia correlata a catetere di solito si avvale di<sup>40</sup>:

- Isolamento dello stesso microrganismo dal sangue e dall'inserzione del CEV o dalla punta del CEV
- Sepsi clinica, non rispondente alla terapia antimicrobica, che si risolve con la rimozione del catetere
- Coltura differenziale quantitativa (concentrazione di microrganismi prelevati dal catetere  $\geq 10$  volte rispetto a quelli isolati da vena periferica)<sup>41</sup>

#### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 8 di 34

Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

- Per la diagnosi di batteriemia correlata a catetere può essere utilizzata la differenza del tempo di comparsa di positività fra le emocolture prelevate dal catetere e quelle da sangue periferico se queste sono incubate in sistemi automatici<sup>42</sup>.

## INFEZIONE DEL SISTEMA CIRCOLATORIO NELL'IMMUNOCOMPROMESSO

I pazienti immunocompromessi includono quelli con anomalie del sistema immunitario di tipo ereditario, acquisito o farmaco dipendente. Insufficienze correlate alla fagocitosi, complemento, produzione di anticorpi ed immunità cellulo-mediata sono spesso associate a particolari disfunzioni o malattie quali forme maligne, sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS), malattia a cellule falciformi, pazienti con trapianto d'organo, terapia con farmaci immunosoppressivi o steroidei<sup>43</sup>. Il rischio di infezione è massimo nei pazienti con neutropenia.

Nei pazienti immunodepressi esiste un'elevata incidenza di infezione casata da microrganismi che non sono virulenti nell'ospite normale e che appartengono alla flora normale. Questi sono solitamente considerati dei contaminanti nell'ospite immunocompetente. Stafilococchi coagulasi-negativi, enterococchi e streptococchi viridanti rappresentano tipici esempi.

I pazienti con iposplenismo o privi di milza sono esposti a setticemia fulminante, causata da una grande varietà di microrganismi, in modo particolare da batteri capsulati quali *S. pneumoniae*<sup>44</sup>, *H. influenzae*, *N. meningitidis* ma anche microrganismi meno comuni quali le specie di *Capnocytophaga*<sup>30</sup>.

Negli anni recenti lo spettro dei microrganismi isolati è cambiato. Ciò probabilmente riflette il prolungamento dei periodi di neutropenia e la durata della degenza ospedaliera, l'aumento del ricorso alla cateterizzazione venosa centrale (CVC) e la somministrazione di antibiotici ad ampio spettro. In questo gruppo di pazienti le infezioni polimicrobiche sono le più comuni<sup>30, 45, 46</sup> ed è anche aumentato il numero di infezioni da Gram positivi e da batteri opportunisti, in modo particolare quelle causate da funghi e da specie *Mycobacterium*. Oltre ai microrganismi associati alle infezioni del sistema circolatorio dei soggetti immunocompetenti, gli isolati includono<sup>45</sup>:

- Bastoncini Gram negativi non fermentanti
- *Listeria monocytogenes*
- Specie *Corynebacterium*
- Specie *Candida* ed altri funghi
- Specie *Mycobacterium*
- Virus

Altri microrganismi di isolamento insolito includono una grande varietà di batteri e funghi<sup>47-52</sup>, molti dei quali hanno richieste di crescita molto specifiche. I virus sono una comune causa di infezione nei pazienti trapiantati<sup>53</sup>.

**Infezione da specie *Mycobacterium*** – è in aumento in modo proporzionale all'incidenza dei pazienti con infezione da virus dell'immunodeficienza (HIV) e dei casi di AIDS<sup>54</sup>. Per maggiori informazioni consultare BSOP 7 – Ricerca delle specie di *Mycobacterium* nelle emocolture.

## ENDOCARDITE INFETTIVA<sup>53, 55-58</sup>

**L'endocardite infettiva (EI)** rappresenta l'infezione delle valvole cardiache e/o di altre aree dell'endocardio. Si manifesta di solito in siti predisposti alle lesioni cardiache o nei difetti congeniti ove si generano dei flussi ematici turbolenti che favoriscono il danneggiamento dell'endocardio e l'adesione delle piastrine. Sulla superficie endocardica danneggiata si deposita un coagulo di fibrina che viene colonizzato da microrganismi penetrati nel torrente circolatorio, formando in tal modo delle vegetazioni infette. Nella parte profonda della vegetazione possono essere presenti microrganismi vitali e così pure sulla loro superficie e questa condizione rende difficile il trattamento con antimicrobici.

Solitamente la EI è classificata in "acuta" o "sub-acuta", in riferimento all'andamento della malattia non trattata. L'endocardite acuta è stata di solito riferita alla colonizzazione delle valvole cardiache normali da parte di batteri virulenti, in grado di distruggere rapidamente le valvole, diffondere foci metastatici, indurre una rapida insufficienza cardiaca e morte in breve tempo. L'endocardite sub-acuta si riferisce ad una infezione su valvole danneggiate da parte di microrganismi meno virulenti, spesso si sviluppa con un andamento insidioso ed i foci metastatici sono infrequenti. Tuttavia, queste classiche manifestazioni cliniche non si manifestano frequentemente e questa definizione non è più utilizzata. Attualmente ci si riferisce ai

### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 9 di 34

Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

criteri diagnostici<sup>56-58</sup> di Duke, proposti nel 1994. E' più appropriato descrivere la malattia in relazione al microrganismo infettante o alla condizione anatomica coinvolta:

### **Endocardite primitiva delle valvole**

La malattia cardiaca reumatica cronica (MCR) era il principale fattore predisponente nella EI ma attualmente è stata sostituita da altre forme morbose quali malattie cardiache congenite, prolasso della valvola mitrale e malattie valvolari degenerative dell'anziano. La maggior parte dei casi (60-80%) si manifesta in pazienti con lesioni cardiache dalla media all'età a quella avanzata<sup>59</sup>, e la valvola mitrale è quella più frequentemente coinvolta<sup>55</sup>. L'endocardite infettiva si può manifestare su valvole anatomicamente e funzionalmente normali come sequela di alcune batteriemie. Per esempio, fino al 20% dei pazienti che presentano una setticemia da *S. aureus* sviluppa endocardite nonostante la presenza di valvole normali.

I microrganismi più frequentemente isolati includono<sup>55</sup>:

- Streptococchi orali
- Stafilococchi (circa l'80% di questi sono *S. aureus*)
- Enterococchi
- *Streptococcus bovis*

Le infezioni fungine sono rare, tranne che nei soggetti drogati per via endovena e nei pazienti affetti da malattie gravi<sup>60, 61</sup>. Sono stati segnalati numerosi altri microrganismi, inclusi quelli esigenti, e che raramente determinano malattia nell'uomo diversa dalla endocardite (gruppo HACEK: *Haemophilus aphrophilus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* e *Kingella kingae*)<sup>56-58</sup>. Le specie *Bartonella* stanno progressivamente aumentando la loro importanza come agenti eziologici di endocardite particolarmente nei pazienti con AIDS<sup>12</sup>.

### **Endocardite della protesi valvolare (EPV)**

Oltre ad una terapia antimicrobica, le valvole infette richiedono la rimozione chirurgica e la loro sostituzione per eradicare l'infezione o per problemi di insufficienza. Circa il 2% dei pazienti con protesi valvolare sviluppa endocardite<sup>62</sup>, e l'EPV si fa carico fino al 20% di tutti i casi di endocardite<sup>55</sup>. La protesi valvolare aortica è più predisposta all'infezione<sup>55</sup>. L'infezione della protesi valvolare si può manifestare in qualsiasi momento dopo la chirurgia valvolare ma, col trascorrere del tempo, diviene sempre meno frequente e coinvolge differenti gruppi di microrganismi.

L'EPV "precoce" si manifesta di solito entro 60 giorni dall'impianto ma la caratteristica malattia può non rendersi evidente se non dopo 4-6 mesi dalla sostituzione valvolare<sup>3</sup>, rappresentando una contaminazione della protesi valvolare insorta nel periodo peri-operatorio. La contaminazione di solito si realizza nella fase intra-operatoria. L'EPV "precoce" ha un'elevata percentuale di mortalità rispetto alla EPV "tardiva" ed i microrganismi responsabili sono spesso più resistenti agli antibiotici, probabilmente suggerendo la loro origine ospedaliera e l'uso della profilassi e terapia antibiotica peri-operatoria.

I microrganismi di più comune riscontro sono:

- Stafilococchi coagulasi negativi
- *S. aureus*
- Bastoncini gram negativi
- Specie *Candida* e *Aspergillus*
- Streptococchi ed enterococchi
- Specie *Corynebacterium*

L'EPV "tardiva" si può manifestare alcuni anni dopo l'impianto valvolare. Si ritiene che la sorgente dell'infezione sia una batteriemia o fungemia transitoria che coinvolge la valvola con la stessa modalità di insediamento che si realizza sulla valvola naturale, sebbene possa essere anche una manifestazione tardiva di un'infezione nosocomiale. I microrganismi implicati sono molto simili a quelli coinvolti nell'endocardite della valvola naturale. Gli streptococchi orali e gli stafilococchi sono fra gli isolati più frequenti, con una minore incidenza delle infezioni causate da bastoncini Gram negativi, specie *Candida* o *Aspergillus*, enterococchi e specie *Corynebacterium*.

#### **INVESTIGATION OF MOUTH SWAB**

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 10 di 34  
Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

## **Microrganismi inusuali che potrebbero essere coinvolti in caso di diffusione volontaria di infezione (BIOTERRORISMO O GUERRA BIOLOGICA)**

Linee guida per affrontare malattie ignote od inusuali e situazioni di diffusione volontaria sono disponibili sul sito

[http://www.hpa.org.uk/infections/topics\\_az/deliberate\\_release/Unknown/Unusual\\_Illness\\_local\\_labs.pdf](http://www.hpa.org.uk/infections/topics_az/deliberate_release/Unknown/Unusual_Illness_local_labs.pdf)

### ***Bacillus anthracis***

Il microrganismo si sviluppa in tutti i terreni standard per emocolture. Tutti i bastoncini Gram positivi di grandi dimensioni, non emolitici, non mobili presenti nelle emocolture, LCR ecc. devono essere manipolati con particolare attenzione, potendo trattarsi di *B. anthracis*; ogni ricerca successiva deve essere condotta in condizioni di Contenimento di Livello 3. I ceppi presunti di *B. anthracis* devono essere inviati ad un appropriato Laboratorio di Riferimento per un'ulteriore caratterizzazione.

Fare riferimento alla BSOP ID 9 – Identification of *Bacillus* species - e a:

[http://www.hpa.org.uk/infections/topics\\_az/deliberate\\_release/Anthrax/PDFs/anthrax\\_guidelines.pdf](http://www.hpa.org.uk/infections/topics_az/deliberate_release/Anthrax/PDFs/anthrax_guidelines.pdf)

### **Specie *Brucella***

La specie *Brucella* sviluppa piccoli coccobacilli Gram negativi catalasi positivi. Lo sviluppo è di solito possibile su terreni arricchiti quali agar sangue cioccolato incubato a 37°C in CO<sub>2</sub> al 5%. Dopo 48 – 72 ore di incubazione si formano colonie lisce, rilucenti di dimensioni di 1 mm o inferiori. Le reazioni per ossidasi ed ureasi sono solitamente positive. Queste caratteristiche dovrebbero suggerire al laboratorio di procedere con cautela, ed eseguire ogni altro accertamento in condizione di Contenimento di Livello 3<sup>63</sup>. Le specie presunte di *Brucella* devono essere inviate ad un appropriato Laboratorio di Riferimento per un'ulteriore caratterizzazione.

(Nota: Le specie *Brucella* possono essere erroneamente identificate dai sistemi semi-automatizzati o dalle confezioni di identificazione come specie *Moraxella* o *Haemophilus*).

Per ulteriori informazioni fare riferimento a:

[http://www.hpa.org.uk/infections/topics\\_az/zoonoses/brucellosis/links.htm](http://www.hpa.org.uk/infections/topics_az/zoonoses/brucellosis/links.htm)

### ***Francisella tularensis* (in senso lato)**

Le specie *Francisella* sono molto pericolose da manipolare nel laboratorio di microbiologia clinica di routine. Se la diagnosi è sospettata su base clinica od epidemiologica, si raccomanda di sospendere le procedure di isolamento del battere, fino alla verifica con un appropriato Laboratorio di Riferimento

Le specie *Francisella* assumono aspetto di piccoli coccobacilli pleiomorfi Gram negativi. Sono scarse le informazioni circa la capacità di consentire la crescita di questo gruppo di batteri da parte dei sistemi per emocolture commercialmente disponibili. Si noti che la maggior parte dei ceppi di *Francisella* richiede cisteina per il loro sviluppo, e pertanto non crescono sulla maggior parte dei terreni solidi di routine. Le emocolture contenenti piccoli bacilli Gram negativi non mobili che non si sviluppano sui terreni convenzionali devono essere trasferite in sottocoltura (a Livello di Contenimento 3) in terreno tamponato di estratto di lievito carbone (isolamento di *Legionella*), agar sangue cioccolato, agar selettivi per gonococco, tutti incubati fino a 10 giorni in atmosfera arricchita di 5% CO<sub>2</sub>. Le colonie appaiono piccole (1-2 mm di diametro), grigie, di aspetto liscio e rilucente. Le specie *Francisella* sono debolmente catalasi positive. La prova dell'ossidasi è negativa.

Ulteriori informazioni e linee guida possono essere trovate su:

[http://www.hpa.org.uk/infections/topics\\_az/deliberate\\_release/Tularemia/PDFs/tularemia\\_guideline.pdf](http://www.hpa.org.uk/infections/topics_az/deliberate_release/Tularemia/PDFs/tularemia_guideline.pdf)

#### **INVESTIGATION OF MOUTH SWAB**

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 11 di 34

Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOP emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

### ***Burkholderia mallei***

*B. mallei* è pericolosa da manipolare in un laboratorio clinico. Se la diagnosi è sospettata su base clinica od epidemiologica, qualsiasi procedura deve essere eseguita ad un Livello di Contenimento 3. Gli isolati sospetti di *B. mallei* devono essere inviati per la conferma ad un appropriato Laboratorio di Riferimento.

Nell'attuale letteratura biomedica sono scarse le informazioni pubblicate su *B. mallei*. E' probabile, in ogni caso, che *B. mallei* sia in grado di crescere nei sistemi per emocolture disponibili commercialmente, e possa essere riscontrata sui terreni standard di laboratorio.

La reazione dell'ossidasi è variabile<sup>64</sup> ed il microrganismo è sempre non-mobile. *B. mallei* è riportata nei database dei sistemi di identificazione delle confezioni commerciali disponibili, ma i risultati devono essere interpretati con cautela.

### ***Burkholderia pseudomallei***

Il microrganismo è pericoloso da manipolare, ma probabilmente in minor grado rispetto a *B. mallei*. In ogni caso, qualora si sospetti la sua presenza, le procedure devono essere eseguite a Livello di Contenimento 3. Gli isolati sospetti di *B. pseudomallei* devono essere inviati per la conferma ad un appropriato Centro di Riferimento.

*B. pseudomallei* si sviluppa nei sistemi per emocoltura commercialmente disponibili e sui terreni standard di laboratorio<sup>64</sup>. Gli strisci delle colture colorati al Gram ed i materiali clinici evidenziano piccoli bastoncini Gram negativi con colorazione bipolare. La reazione della ossidasi è negativa ed il microrganismo è mobile. Dopo alcuni giorni di incubazione le colonie divengono rugose e di aspetto raggrinzito, assomigliando a quelle della *Pseudomonas stutzeri*, ma questo aspetto non è una costante.

*B. pseudomallei* è riportata nei database di alcune confezioni dei sistemi di identificazione disponibili commercialmente, ma i risultati devono essere interpretati con cautela.

Fare riferimento a:

[http://www.hpa.org.uk/infections/topics\\_az/deliberate\\_release/Glanders/glanders\\_melioidosis\\_guidelines.pdf](http://www.hpa.org.uk/infections/topics_az/deliberate_release/Glanders/glanders_melioidosis_guidelines.pdf)  
per ulteriori informazioni su Melioidosis e Glanders

### ***Yersinia pestis***

Il microrganismo è pericoloso da manipolare in un laboratorio clinico. In caso si sospetti la sua presenza qualsiasi procedura deve essere eseguita ad un Livello di Contenimento 3. Tutti gli isolati sospetti di *Y. pestis* devono essere inviati per la conferma ad un appropriato Laboratorio di Riferimento.

*Y. pestis* è in grado di crescere nei sistemi per emocolture disponibili commercialmente e sui terreni standard di laboratorio, incluso l'agar *Yersinia* selettivo (cefsulodina-irgasan-novobiocina). Gli strisci delle colture colorati al Gram ed i materiali clinici evidenziano piccoli bastoncini Gram negativi, come cellule singole o in corte catene bacillari, spesso con colorazione bipolare. La prova dell'ossidasi è negativa, la reazione della catalasi è positiva ed il microrganismo non è mobile.

La temperatura ottimale di crescita è di 28 – 30°C ma si sviluppa fino alla temperatura di 35°C. il microrganismo è solitamente a lenta crescita. Le colonie raggiungono il massimo del loro sviluppo su agar sangue dopo 2 – 3 giorni di incubazione. Si formano colonie rilucenti, non emolitiche di circa 2mm di diametro, somiglianti uova fritte. Come aspetto, la superficie di queste colonie è definita a "rame martellato"

*Y. pestis* è riportata nei database di alcune confezioni dei sistemi di identificazione disponibili commercialmente, ma i risultati devono essere interpretati con cautela.

Per ulteriori informazioni fare riferimento a:

[http://www.hpa.org.uk/infections/topics\\_az/deliberate\\_release/Plague/PDFs/plague\\_guidelines.pdf](http://www.hpa.org.uk/infections/topics_az/deliberate_release/Plague/PDFs/plague_guidelines.pdf)

#### **INVESTIGATION OF MOUTH SWAB**

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 12 di 34

Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

## DIAGNOSI DI BATTERIEMIA E FUNGIEMIA

Il riscontro di batteriemia e fungiemia richiede un buon sistema per emocoltura associato ad una pratica di laboratorio e ad un sistema di comunicazione di buona qualità.

I sistemi per emocolture dovrebbero essere di aiuto per aggiungere i seguenti obiettivi<sup>65</sup>:

- Terreno di coltura il più fertile possibile tale da consentire il rilievo di un numero esiguo di un'ampia varietà di microrganismi esigenti
- Neutralizzazione o rimozione di sostanze antimicrobiche, quali componenti naturali del sangue o agenti antimicrobici
- Riduzione al minimo della contaminazione
- Riscontro il più precoce possibile di batteri e funghi

I sistemi per emocolture variano da sistemi "domestici" a sistemi commerciali manuali o completamente automatizzati. Questi sistemi si avvalgono di vari principi di rilevamento e condizioni culturali per il rilievo dei microrganismi. Sono stati confrontati numerosi sistemi ed i loro rispettivi terreni; ciascuno di loro presenta limiti e vantaggi<sup>66-77</sup>. I sistemi completamente automatizzati con monitoraggio continuo sono semplici da utilizzare rispetto a quelli manuali e semi-automatizzati. Inoltre, le colture positive possono essere rilevate più precocemente. Ciò è particolarmente vero per i microrganismi considerati a maggior patogenicità quali *S. aureus*, bastoncini Gram negativi e streptococchi<sup>76</sup>

I sistemi difasici hanno il vantaggio della sottocoltura semplice, chiusa, ottenuta con una leggera inclinazione del flacone, ma il rilievo delle colonie può essere reso difficoltoso dalla parete di vetro<sup>76,78</sup>.

Come conseguenza della riduzione del numero delle batteriemie da microrganismi anaerobi, è attualmente in discussione l'indicazione sull'inclusione della coltura anaerobica in modo selettivo o sui campioni prelevati a tutti i pazienti<sup>9, 76</sup>. Gli autori di uno studio recente propongono che l'uso del flacone anaerobico deve basarsi sul riscontro di batteri o funghi in generale e sull'isolamento di microrganismi specifici, come pure sul sistema analitico ed i terreni utilizzati<sup>79</sup>.

La maggior parte dei sistemi utilizza flaconi aerobi ed anaerobi per gli adulti, ma fornisce un solo flacone aerobico per i bambini, nei quali l'infezioni del torrente circolatorio da anaerobi è rara ed i volumi dei campioni ematici prelevati sono di solito ridotti.

## FATTORI CHE CONDIZIONANO L'ISOLAMENTO DEI MICRORGANISMI CAUSALI

In funzione del sistema utilizzato numerosi fattori clinici e tecnici possono condizionare l'isolamento del microrganismo infettante<sup>3, 9, 38, 76</sup>.

Clinici:

- Metodo di prelievo
- Numero e successione temporale dei prelievi
- Precedente terapia antimicrobica

Tecnici

- Volume del campione
- Terreno utilizzato
- Neutralizzazione degli agenti antimicrobici
- Tempo e temperatura di incubazione
- Agitazione del terreno
- Atmosfera nello spazio di testa del flacone

Il prelievo del sangue deve essere eseguito in una sede idonea ad una puntura venosa, dopo la disinfezione della cute. Non si raccomanda il cambio degli aghi fra la puntura venosa e l'inoculo dei flaconi poiché ciò comporta il rischio di punture. Alcuni ritengono che il cambio dell'ago non riduca la percentuale di contaminazione<sup>80-82</sup>, ma secondo i risultati di una meta-analisi questa è ridotta in modo moderato<sup>83</sup>. Per la maggior parte dei microrganismi il sangue di provenienza arteriosa non offre alcun vantaggio rispetto a quello venoso, sebbene come modalità di prelievo questa sia stata segnalata migliore nel rilevamento delle malattie fungine disseminate<sup>84</sup>.

### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 13 di 34  
Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

**Numero e tempo del campionamento** – un secondo ed un terzo set di colture non solo incrementano la possibilità di isolamento ma consentono anche il rilievo di contaminazioni<sup>7</sup>. Per la maggior parte dei pazienti sono raccomandati due set di emocolture<sup>38</sup>. Nella maggior parte delle situazioni diverse dall'endocardite la batteriemia è intermittente, essendo correlata alla febbre ed al brivido che si manifesta 30-60 minuti dopo l'ingresso dei microrganismi nel torrente circolatorio. I campioni dovrebbero essere prelevati il più presto possibile dopo il picco febbrile<sup>8</sup>. In ogni caso, alcuni studi hanno dimostrato una lieve differenza nella percentuale di isolamento fra prelievi ematici prelevati ad intervalli e contemporaneamente<sup>85</sup>. Certamente, il tempo intercorrente è meno importante in caso di batteriemia continua, come segnalato nella EI.

**Il volume di sangue** posto in coltura rappresenta l'elemento più critico nel rilevamento di una infezione del torrente circolatorio. Il numero di microrganismi presenti in una batteriemia dell'adulto è frequentemente  $<1 \times 10^3$  unità formanti colonia per litro (ufc/L)<sup>86, 87</sup>. Esiste una relazione diretta fra volume di sangue e positività, con un incremento approssimativo del 3% di riscontro per mL di sangue seminato<sup>87</sup>. Si raccomanda la semina di 20-30 mL di sangue. Mentre la maggior parte dei sistemi commerciali più recenti consentono di aggiungere 10 mL di sangue a ciascun flacone, solo pochi lo riducono a 5 mL per flacone. Nei neonati e nei bambini l'entità della batteriemia è di solito maggiore di quella degli adulti, sebbene possano riscontrarsi livelli ridotti di batteriemia ( $< 4 \times 10^3$  ufc/L)<sup>36, 88</sup>. Per i neonati si raccomanda un volume di 1-2 mL<sup>34</sup>.

**Terreni** – la maggior parte dei sistemi utilizza diversi tipi di terreno per l'isolamento di microrganismi aerobi ed anaerobi, ed alcuni sono specificamente appontati per microrganismi quali funghi e specie di *Mycobacterium*. E' commercialmente disponibile un gran numero di terreni per emocoltura che sono stati valutati<sup>38, 73, 89</sup>. Essi differiscono nella tipologia e nella proporzione dei vari supplementi ed anticoagulanti, volume di brodo, atmosfera sopra la fase liquida e presenza di agenti antimicrobici neutralizzanti. I flaconi per aerobi possono o non possono richiedere una preaerazione per incrementare il contenuto di ossigeno nell'atmosfera sopra la fase liquida per i microrganismi aerobi stretti quali *P. aeruginosa*, e *Candida albicans*<sup>76, 90-92</sup>.

**Rapporto sangue: brodo:** circa 1:15 per rimuovere gli effetti antibatterici del sangue umano normale, ma può essere ridotto da 1:5 a 1:10 con l'aggiunta di polianetolsolfato sodico (SPS)<sup>76</sup>. Questo composto possiede effetti inibitori sulle specie *Neisseria*, cocci anaerobi, *Streptobacillus moniliformis* e *Mycoplasma hominis*<sup>93</sup>. Gli effetti inibitori dell'SPS possono essere ridotti aggiungendo al brodo della gelatina<sup>94, 95</sup>. Il terreno di alcuni flaconi commercialmente disponibili è addizionato di materiali che migliorano l'isolamento tramite l'assorbimento di sostanze antimicrobiche e la lisi dei GB che rilasciano microrganismi nella sospensione sangue-brodo<sup>89</sup>.

**La neutralizzazione degli antimicrobici** può essere ottenuta in modi diversi. L'aggiunta di betalattamasi aiuta ad annullare l'effetto degli antibiotici betalattamici. Sono stati sviluppati terreni contenenti resine od altri materiali assorbenti, come pure tecniche di lisi-centrifugazione, ma sono descritte pubblicazioni contrastanti sulla loro effettiva efficacia<sup>77, 96-100</sup> e l'importanza clinica dell'incremento percentuale di isolamento loro attribuito<sup>101</sup>.

**Tempo d'incubazione e temperatura** – si raccomanda per le emocolture di routine una temperatura di 35-37°C per 5-7 giorni<sup>76</sup>. Di solito sono sufficienti 5 giorni per il riscontro della maggior parte dei microrganismi se si utilizzano sistemi automatizzati<sup>102-104</sup>. In caso di sospetto di brucellosi e di tularemia il periodo di incubazione richiesto può essere protratto a dieci giorni ed includere una sottocoltura finale<sup>105-109</sup>. E' opportuno, qualora si sospetti la presenza di questi batteri, che tutte le colture ed i campioni siano inviati al laboratorio di riferimento. Il tempo di incubazione può inoltre richiedere un prolungamento in casi di sospetta endocardite, in pazienti sottoposti a terapia antimicrobica, o in corso di infezioni fungine non usuali, o se si sospetta un microrganismo esigente o a lenta crescita<sup>76</sup>, ma l'incremento di isolamento ottenuto è di modesta entità<sup>110</sup>.

Se non sono evitabili ritardi, i flaconi devono essere posti in incubazione prima del loro inserimento nello strumento, essendo consapevoli che l'analizzatore può mancare il rilevamento di alcuni batteri Gram negativi e delle specie streptococco. In questa circostanza, prima dell'inserimento nello strumento, il flacone dovrebbe essere controllato visivamente per rilevare aspetti di crescita. In caso di sospetto di crescita i flaconi devono essere analizzati con sottocolture<sup>111, 112</sup>.

**Atmosfera al di sopra della fase liquida** dipende dal sistema utilizzato, può condizionare la percentuale di crescita di alcuni microrganismi. Nei flaconi aerobi questo spazio di testa contiene di solito aria con varie concentrazioni di CO<sub>2</sub> e può richiedere una ventilazione per incrementare il contenuto di O<sub>2</sub>. In funzione del tipo di sistema, l'atmosfera dei flaconi anaerobi al di sopra della fase liquida contiene solitamente una combinazione di CO<sub>2</sub> ed azoto.

#### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 14 di 34

Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

**Agitazione del terreno** – gli effetti dell'agitazione sono solitamente quelli di aumentare<sup>113, 114</sup> e rendere più precoce il riscontro dei microrganismi<sup>113</sup>. L'agitazione dei flaconi anaerobi non incrementa la positività; l'agitazione delle emocolture dei micobatteri diminuisce il loro riscontro<sup>115</sup>. I sistemi a monitoraggio continuo sono dotati di varie tipologie e velocità di agitazione, quelli semi automatici sono dotati di un sistema iniziale per l'agitazione per i flaconi aerobi. L'agitazione dei flaconi aerobici dovrebbe essere presa in considerazione nei sistemi manuali convenzionali.

## SOTTOCOLTURE

Se si utilizzano sistemi manuali o semi-automatici, eseguire sottocolture di entrambi i flaconi di un set anche se solo uno dei due flaconi evidenzia crescita microbica e ciò rileverà positività di entrambe le colture in circa il 50% dei casi. Comunque, questa procedura non è probabilmente necessaria per i sistemi a monitoraggio continuo. Eseguire le sottocolture dei flaconi anaerobi con un dispositivo di preareazione parziale; ansa e pipetta possono consentire l'ingresso di aria nello spazio di testa del flacone ed influire negativamente sulla crescita successiva dei microrganismi anaerobi, a meno che le manipolazioni non siano eseguite in una cabina per anaerobiosi.

**La coltura cieca o sottocoltura terminale** non è raccomandata per emocolture di routine se sono utilizzati i sistemi automatici<sup>104, 115</sup>, ma possono essere indicate per i sistemi manuali<sup>115</sup>. In ogni modo, alcuni microrganismi quali specie di *Neisseria*, specie di *Brucella*, specie *Francisella*, *H. influenzae* e specie di *Legionella* possono generare segnali deboli o possono essere presenti nei terreni colturali senza dar luogo a tangibili segnali di crescita. Questi microrganismi possono non manifestare il "segnale" di positività, od il rilievo di positività può essere ritardato nei sistemi automatizzati. Effetti simili sono stati segnalati per *P. aeruginosa* e specie *Candida*<sup>109</sup>. Dovrebbe essere presa in considerazione la sottocoltura cieca (ad un opportuno livello di contenimento) dei flaconi provenienti da pazienti che verosimilmente potrebbero contenere questi microrganismi.

## RISULTATI DI DUBBIA INTERPRETAZIONE

Questi includono flaconi con:

**Aspetto positivo/segnale positivo con striscio positivo al Gram e sottocoltura negativa** – sono stati osservati con specie di *Abiotrophia* (variante nutrizionale degli streptococchi)<sup>116</sup>, *S. pneumoniae* che hanno subito un certo grado di autolisi, e microrganismi esigenti che non sono in grado di svilupparsi sui terreni di coltura solidi di routine<sup>12,116-119</sup>. Si deve considerare l'utilizzo di terreni addizionali od arricchiti, incubazioni prolungate od atmosfere alternative per la crescita, considerando la loro morfologia al microscopio e le indicazioni cliniche. Sono stati segnalati alcuni terreni che riducono il grado di autolisi degli *S. pneumoniae*<sup>120</sup>. Se si sospetta *S. pneumoniae* dai rilievi microscopici o clinici, può risultare utile inoculare alcune delle miscele lisato sangue/brodo in nuovi flaconi da emocoltura nell'intento di recuperare i microrganismi vitali o considerare la ricerca diretta dell'antigene sul brodo del flacone con un metodo validato.

**Aspetto positivo/segnale positivo con striscio colorato con Gram e sottocoltura negativi** – è importante verificare la curva di crescita dei sistemi automatici per escludere la possibilità di una coltura falsamente negativa prima di ritenere il segnale falsamente positivo.

I motivi della falsa positività sono spesso di tipo multifattoriale. I sistemi automatizzati possono presentare problemi su strumentazione, valore soglia definito a valori troppo bassi, volume di sangue eccedente il limite massimo consentito o campione ematico con elevato conteggio leucocitario. Nei sistemi convenzionali, la torbidità può essere correlata all'aspetto del siero del paziente piuttosto che alla crescita batterica. In ogni caso, se la curva di crescita pone in evidenza sviluppo batterico, si devono approntare colorazioni alternative quali carbol fucsina, Giemsa o di Sandiford<sup>121</sup> per dimostrarne la loro presenza ed anche le caratteristiche morfologiche. Ciò può fornire una guida per la selezione dei terreni appropriati per le sottocolture.

**Aspetto negativo/segnale negativo con striscio colorato con Gram e sottocoltura positiva** – i microrganismi possono essere presenti nei terreni ma manifestare caratteristiche minime o assenti di crescita positiva (consultare le sottocolture cieche precedentemente descritte). La ricerca si avvale solitamente in modo prevalente del sospetto clinico. Questa evenienza può presentarsi nel caso di *Brucella*, *Francisella* o specie *Legionella*.

### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 15 di 34  
Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

## **EMOCOLTURE POST-MORTEM**

Le emocolture prelevate post-mortem sono state segnalate di utilità diagnostica se prelevate in condizioni controllate, ed in modo particolare se il microrganismo da queste isolato è lo stesso di quello ottenuto in emocolture precedenti la morte o isolato da altri sedi anatomiche<sup>122</sup>, ma questa possibilità è controversa<sup>123</sup>. I risultati delle emocolture post-mortem devono essere interpretati con cautela.

## **NOTE TECNICHE**

### **RICERCA RAPIDA ED IDENTIFICAZIONE DIRETTA DAL BRODO DELL'EMOCOLTURA**

Sono stati valutati numerosi metodi rapidi e questi sono risultati utili in alcune condizioni, sebbene nessuno di loro sia stato sottoposto a standardizzazione<sup>76</sup>. La sensibilità e la specificità sono state segnalate variabili, ma queste possono dipendere dal tipo di terreno<sup>76</sup>. Un risultato precoce, ottenuto in questo modo, può o non può influenzare il trattamento del paziente, ma potrebbe migliorare il flusso di lavoro del laboratorio e ridurre i costi. La ricerca dell'antigene nel brodo delle emocolture può essere utilizzata per confermare la presenza degli *S. pneumoniae* che sono andati incontro ad autolisi. Comunque, è importante che i risultati delle prove dirette sulle emocolture, qualora si utilizzino prodotti commerciali o di altro tipo, siano valutati con cautela a meno che gli stessi non siano stati già valutati ed approvati per questo specifico utilizzo.

#### **INVESTIGATION OF MOUTH SWAB**

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 16 di 34  
Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

# 1.0 CONSIDERAZIONI SULLA SICUREZZA <sup>124 - 134</sup>

## 1.1 RACCOLTA DEL CAMPIONE

Verificare i flaconi per emocolture per danneggiamenti o difetti prima del loro utilizzo.

Assicurarsi che i flaconi per emocoltura non abbiano superato la data di scadenza.

**Non** riutilizzare gli aghi.

## 1.2 TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

Trasportare i campioni in contenitori di plastica chiusi in un contenitore rigido ed impermeabile.

Se è richiesto l'invio ad un laboratorio di riferimento, il campione deve essere confezionato in accordo alle regolamentazioni postali.

## 1.3 PROCEDURA ANALITICA SUL CAMPIONE

Tutti i campioni devono essere processati in condizioni di livello di contenimento 2 tranne quando si sospettano microrganismi appartenenti al Gruppo di Rischio 3 quali: *Mycobacterium tuberculosis*, specie *Brucella*, specie *Francisella*, *Yersinia pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* o sottocolture da flaconi da casi sospetti di febbri tifoidee/paratifoidee; in questo caso le manipolazioni devono essere eseguite in una cabina microbiologica di sicurezza in condizioni di contenimento di livello 3.

Tutte le manipolazioni di laboratorio che si ritiene possano generare aerosol devono essere eseguite in cabina microbiologica di sicurezza. Sebbene la *N. meningitidis* appartenga al Gruppo di Rischio 2 le direttive locali possono imporre che gli isolati sospetti di *N. meningitidis* debbano sempre essere manipolati in una cabina microbiologica di sicurezza. Talvolta la natura dell'attività può richiedere inderogabilmente un completo contenimento di livello 3 come nel caso di ricerche che utilizzano *N. meningitidis* per soddisfare le richieste della Scheda 1,5 (5e) del COSHH 2002.

Evitare, se possibile, l'uso di "taglienti". E' preferibile, per la preareazione e la preareazione parziale dei flaconi delle subculture, l'utilizzo di aghi, a meno che il sistema non utilizzi tappi a vite. In questo caso si raccomanda l'uso di pipette di plastica.

Caricare i flaconi per pazienti ad "Alto Rischio" secondo le specifiche della casa produttrice ed i protocolli locali.

Fare riferimento alla linea guida corrente sulla sicurezza delle manipolazioni di tutti i microrganismi presentati in questa SOP.

Le linee guida precedentemente esplicitate devono essere supplementate con la COSHH locale e con la valutazione del rischio.

E' essenziale il rispetto delle regolamentazioni postali e di trasporto.

# 2.0 RELIEVO DEL CAMPIONE

## 2.1 TEMPO OTTIMALE DI PRELIEVO DEL CAMPIONE

Prelevare i campioni prima della terapia antimicrobica se possibile.

Prelevare i campioni il più presto possibile dopo il picco febbrile, tranne nei casi di endocardite nei quali la tempestività è meno importante.

### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 17 di 34

Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

## 2.2 TIPO DI CAMPIONE APPROPRIATO E METODO DI PRELIEVO

Nota: Se il sangue dello stesso prelievo venoso è utilizzato anche per altre determinazioni quali la gas analisi o la VES, i flaconi per emocoltura devono essere inoculati per primi onde evitare contaminazioni. E' preferibile che il sangue per le emocolture sia prelevato separatamente.

Disinfettare la cute nel sito del prelievo venoso con etanolo od alcol isopropilico e lasciare asciugare.

Disinfettare il setto del flacone per l'emocoltura con etanolo, metanolo od alcol isopropilico e lasciare asciugare (l'uso di disinfettanti a base di iodio NON è raccomandato quando si utilizzano alcuni sistemi commerciali poichè si ritiene che possa intaccare l'integrità del setto di gomma butilica).

### Per la diagnosi di batteriemia

Prelevare il sangue da una vena periferica e suddividere in modo uguale il campione fra i flaconi per emocoltura. I campioni non devono essere collezionati da cateteri venosi o da altri dispositivi di accesso<sup>8, 135</sup> a meno che non siano disponibili altre vie d'ingresso.

### Bambini e neonati

Prendere in considerazione l'utilizzo di un solo flacone pediatrico adattato per piccoli volumi di sangue. Se non è disponibile, utilizzare un solo flacone aerobico.

Se si sospetta una enterocolite necrotizzante e si preleva una quantità sufficiente di sangue, inoculare un flacone pediatrico ed uno anaerobico.

## 2.3 QUANTITA' ADEGUATA E NUMERO APPROPRIATO DI CAMPIONI

### Adulti

Un set è costituito da uno o più flaconi prelevati contemporaneamente.

Preferibilmente, per ciascun set di emocolture dovrebbe essere prelevato un volume di sangue di 20-30 ml (NOTA: possono essere consigliati più di due flaconi per set).

### Bambini e neonati

Per ciascun set di emocolture, nei neonati è preferibile prelevare un volume di 1-2 ml, nei bambini 2-3 ml e 3-5 ml in quelli con meno di dieci anni<sup>34</sup>.

NOTA: Non superare il volume massimo per flacone raccomandato dal produttore: si deve sottolineare che i diversi produttori forniscono diversi tipi di flaconi.

### Generalità

Prelevare due set durante qualsiasi periodo delle 24 ore per ogni episodio di tipo settico<sup>7</sup>. Per i neonati prelevare un singolo flacone aerobico o flaconi speciali di tipo pediatrico.

# 3.0 TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

## 3.1 TEMPO FRA PRELIEVO DEL CAMPIONE E PROCEDURA ANALITICA

I flaconi per l'emocoltura devono essere trasportati in laboratorio ed incubati o caricati nel sistema automatico il più presto possibile.

### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 18 di 34  
Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

### 3.2 ACCORGIMENTI SPECIALI PER RIDURRE IL DETERIORAMENTO

Se vi è ritardo nel trasporto al laboratorio e/o nel caricamento nel sistema automatico, i flaconi di emocoltura dovrebbero essere incubati a 35-37°C il più presto possibile dopo il loro inoculo, in attesa della procedura di processo, e non devono essere refrigerati. Se non si dispone di un incubatore in corsia, prima del trasporto è preferibile la conservazione a temperatura ambiente alla refrigerazione. I laboratoristi devono sapere che prima dell'inserimento dei flaconi nello strumento ne è richiesta la verifica per il rilievo delle caratteristiche di crescita batterica. Se sono evidenti aspetti di crescita, si deve procedere alle sottocolture<sup>111, 112</sup>.

#### Sistemi automatizzati

Per ridurre al minimo il rischio di autolisi di alcuni microrganismi quali gli pneumococchi, eseguire le sottocolture dai flaconi il più rapidamente possibile dopo il rilievo del segnale di positività.

## 4.0 PROCEDURA SUL CAMPIONE

### 4.1 INCUBAZIONE DEL FLACONE

Caricare il flacone nel sistema automatico secondo le indicazioni del produttore.

I flaconi devono essere incubati per 5-7 giorni.

Il tempo di incubazione può essere protratto per condizioni cliniche specifiche quali l'endocardite, la brucellosi e la tularemia.

### 4.2 ASPETTO

E' raccomandata l'ispezione visiva al ricevimento dei flaconi pre-incubati per evidenziare una eventuale crescita microbica.

### 4.3 MICROSCOPIA

#### Flaconi positivi – tutti i sistemi

Eseguire l'esame microscopico sul brodo di ogni flacone con "segnale" positivo o che sia positivo ad un esame ispettivo (setto proteso, lisi ematica o cambiamento di colore dell'indicatore).

Se si utilizza un terreno difasico, approntare uno striscio per il Gram sia dal surnatante della fase liquida sia dalla superficie dell'agar.

Agitare gentilmente i flaconi capovolgendoli se ciò non è stato eseguito automaticamente in precedenza.

NOTA: Alcuni sistemi possono non richiedere la miscelazione, ma sono raccomandate sottocolture dal surnatante della fase liquida.

Disinfettare il setto del flacone di emocoltura inumidendo con etanolo, metanolo o alcol isopropilico e lasciare asciugare.

Con un dispositivo di preareazione parziale o con una pipetta di plastica, in funzione del tipo di flacone utilizzato, rimuovere alcune gocce della miscela sangue/brodo (o dal surnatante della fase liquida) e deporle su un vetrino da microscopio pulito.

NOTA: Fare riferimento alle istruzioni del produttore per la preparazione degli strisci approntati da flaconi contenenti carbone.

Diffondere il materiale con ansa sterile e preparare uno striscio sottile per la colorazione di Gram.

NOTA: Per ridurre il numero di penetrazioni nei flaconi e le possibili contaminazioni del brodo, i terreni possono essere inoculati nello stesso momento in cui sono preparati gli strisci e/o una piccola aliquota può essere trasferita in una provetta/contenitore sterile per successivi inoculi o semine in terreni addizionali o prove per la ricerca dell'antigene.

#### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 19 di 34

Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

NOTA: I microrganismi Gram negativi possono essere rilevati più facilmente se si utilizza la colorazione di Sandiford<sup>121</sup> o quella con carbol fucsina come colorante di contrasto.

Se non si rilevano microrganismi al microscopio controllare le curve di crescita (sistemi automatici). Se i parametri di crescita sono predittivi di sviluppo microbico può risultare utile la preparazione di altri strisci per colorazioni alternative.

Se non si rilevano microrganismi al microscopio, eseguire sottocolture dai flaconi su piastre di agar (consultare 4.4.2) e riporre il flacone nel sistema automatico, seguendo le istruzioni del produttore, per un'incubazione e prove successive.

Nei sistemi automatizzati i segnali falsi-positivi possono essere determinati da un volume eccessivo di sangue o da un elevato numero di globuli bianchi.

NOTA: Piccoli bastoncini Gram negativi possono appartenere a *Brucella* o alle specie *Francisella*; grandi bastoncini Gram positivi possono essere di *B. anthracis* – fare riferimento alle precauzioni per la sicurezza.

## **4.4 COLTURA E RICERCHE**

### **4.4.1 Pretrattamento**

N/D

### **4.4.2 Procedura sul campione**

#### **Standard**

#### **Flaconi positivi da tutti i sistemi**

Disinfettare il setto del flacone di emocoltura strofinandolo con etanolo, metanolo o alcol isopropilico e lasciare asciugare.

Con un dispositivo di preareazione parziale o con una pipetta di plastica, in funzione del tipo di flacone utilizzato, rimuovere alcune gocce della miscela sangue/brodo (o dal surnatante della fase liquida) ed inoculare una goccia su ciascuna piastra di agar.

Per l'isolamento di colonie singole diffondere l'inoculo con un'ansa sterile (consultare BSOP 54 Semina del terreno di coltura).

Approntare sottocolture per la prova diretta di sensibilità. Se non si ottiene un inoculo idoneo la prova dovrà essere ripetuta.

#### **Flaconi positivi da sistemi manuali**

Eseguire le sottocolture da tutti i flaconi del set, come precedentemente descritto, anche se appare positivo un solo flacone.

#### **Flaconi negativi da sistemi manuali**

Eseguire nelle prime 24-48 ore la sottocoltura cieca del flacone aerobico su tutti quelli che risultano ancora negativi<sup>99</sup>.

#### **INVESTIGATION OF MOUTH SWAB**

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 20 di 34  
Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

## Prove supplementari

### Segnale/aspetto positivi ma esame colturale negativo – tutti i sistemi automatizzati

Controllare la curva di crescita.

Escludere, se possibile, i falsi positivi correlati ad elevati conteggi di globuli bianchi

In relazione al quadro clinico ed ai risultati dello striscio colorato con Gram, considerare la possibilità di una dipendenza nutrizionale, crescita lenta o microrganismo esigente, quale:

- Specie *Campylobacter*
- Specie *Brucella*
- Specie *Abiotrophia*
- Organismi cisteina-dipendenti inclusa la specie *Francisella*
- Specie *Legionella*
- Specie *Helicobacter*
- Anaerobi a lenta crescita

Eseguire sottocolture su terreni appropriati, o se sussiste incertezza sulla possibile eziologia, eseguire sottocolture supplementari come riportato nella sezione 4.4.3.

Prendere in considerazione la possibilità dell'autolisi dei microrganismi (particolarmente frequente per lo *S. pneumoniae*). Se è possibile che si sia verificata autolisi eseguire sul brodo la prova diretta dell'antigene per *S. pneumoniae*.

**Se appare lisi della componente ematica** (nei sistemi nei quali il sangue non è di solito lisato) eseguire la sottocoltura in nuovi flaconi allo scopo di rilevare il microrganismo.

#### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 21 di 34

Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

#### 4.4.3 Terreni di sottocoltura, condizioni e microrganismi Per tutti i campioni positivi e sottocolture cieche:

Aspetti clinici/ condizioni	Terreni standard	Incubazione			Letture colture	Microrganismo (i) ricercati
		Temp C°	Atmosfera	Tempo		
Qualsiasi condizione clinica	Agar sangue	35 -37	5 – 10% CO <sub>2</sub>	40-48 ore*	giornaliera	Qualsiasi microrganismo considerato significativo
	Agar per anaerobi esigenti†	35 –37	anaerobica	40-48 ore*	giornaliera	

Per queste situazioni aggiungere:

Aspetti clinici/ condizioni	Terreni supplementari	Incubazione			Letture colture	Microrganismo (i) ricercati
		Temp C°	Atmosfera	Tempo		
Sospetta meningococcemia o Meningite  Piccoli bastoncini Gram negativi o diplococchi osservati al microscopio	Agar cioccolato	35 –37	5 – 10% CO <sub>2</sub>	40-48 ore*	giornaliera	Specie <i>Haemophilus</i> <i>N. meningitidis</i>
Bastoncini Gram negativi osservati al microscopio	CLED agar o agar cromogeni	35 –37	aria	16-24 ore	≥ 16 ore	Enterobacteriaceae
Esame microscopico indicativo di infezione mista od anaerobica	Agar neomicina per anaerobi esigenti con disco di metronidazolo da 5µg	35 –37	anaerobica	40-48 ore*	≥ 40 ore	Anaerobi
Infezioni fungine sistemiche	Agar Sabouraud	28 – 30	aria	5 giorni	2 giorni e 5° giorno	Funghi
Colture primarie negative e curva di crescita positiva‡  (eseguire sottocolture di tutti i flaconi)	Agar sangue	35 -37	microaerobica	5 giorni	≥ 3 giorni e 5° giorno	Specie <i>Campylobacter</i> Specie <i>Helicobacter</i>
	Agar sangue con semina strisciata di <i>S. aureus</i> (NCTC 6571)	35 -37	5 – 10% CO <sub>2</sub>	40-48 ore	≥ 40 ore	Specie <i>Abiotrophia</i>
	Agar per anaerobi esigenti	35 -37	5 – 10% CO <sub>2</sub>	5 giorni	≥ 2 giorni e 5° giorno	Microrganismi cisteina-dipendenti
	CLED agar	35 -37	aria	16-24 ore	≥ 16 ore	

**Altri microrganismi da considerare – *Mycobacterium* (BSOP 7) e specie *Legionella* (BSOP 47) e specie *Brucella*: considerare anche microrganismi che possono essere coinvolti nella diffusione volontaria. Collegasi nel modo seguente:**

[http://www.hpa.org.uk/infections/topics\\_az/deliberate\\_release/Unknown/Unusual\\_Illness\\_local\\_labs.pdf](http://www.hpa.org.uk/infections/topics_az/deliberate_release/Unknown/Unusual_Illness_local_labs.pdf)

\* il periodo di incubazione può essere prolungato a 5 giorni per presunti falsi negativi o se richiesto per sospetto clinico; in questi casi le piastre dovrebbero essere lette a ≥ 40 ore e lasciate nell'incubatore/termostato fino al 5° giorno

† si può aggiungere il disco di optochina se al microscopio sono stati osservati degli streptococchi

‡ si possono eventualmente considerare altri microrganismi

#### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 22 di 34

Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

## 4.5 IDENTIFICAZIONE

### 4.5.1 Livello minimo in laboratorio

Tutti gli isolati con significatività clinica devono essere identificati a livello di specie con l'eccezione degli Stafilococchi Coagulasi Negativi. Nei casi di endocardite e di ascessi a sede profonda tutti gli isolati con significatività clinica devono essere identificati a livello di specie,

NOTA: Qualsiasi microrganismo considerato come contaminante potrebbe non richiedere l'identificazione a livello di specie.

Si raccomanda che gli isolati clinicamente significativi siano conservati per almeno una settimana<sup>135</sup>. Conservare gli isolati su becchi di clarino di terreni appropriati o a temperatura da – 20 a – 80°C in caso di periodi più prolungati se è probabile che possano essere richiesti successivi accertamenti (quali la tipizzazione degli isolati da infezione nosocomiale).

### 4.5.2 Inviare al Laboratorio di Riferimento

Streptococchi  $\beta$ -emolitici per sierotipizzazione

Specie *Burkholderia* per la caratterizzazione dei ceppi e prove di sensibilità agli antimicrobici

Specie *Campylobacter* per biotipizzazione e sierotipizzazione

*H. influenzae* per sierotipizzazione

Specie *Legionella* per sierotipizzazione

Specie *Listeria* per sierotipizzazione

*N. gonorrhoeae* per sierotipizzazione e prove di sensibilità agli antimicrobici

*N. meningitidis* per caratterizzazione e prove di sensibilità agli antimicrobici

Specie *Salmonella* per sierotipizzazione e tipizzazione fagica

*S. pneumoniae* per sierotipizzazione

Specie *Yersinia* per sierotipizzazione, caratterizzazione dei ceppi e prove di sensibilità agli antimicrobici

Possono essere inviati alla Meningococcal Reference Unit (MRU) campioni di sangue con EDTA e coppie di siero per la PCR e la sierologia se le colture sono negative ed è sospettata una infezione meningococcica

Funghi che richiedono l'identificazione e/o prove di sensibilità

Isolati in corso di epidemie e quando indicato per approfondimenti epidemiologici

Microrganismo sospetto di diffusione volontaria

Microrganismi con insolite ed inattese resistenze, ove sussista un problema di laboratorio o clinico o anomalie che richiedano approfondimenti

## 4.6 PROVE DI SENSIBILITA' AGLI ANTIMICROBICI

Fare riferimento alla SOP sulle prove di sensibilità (BSOP 45)

#### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 23 di 34  
Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

## 5.0 PROCEDURE DI REFERTAZIONE

### 5.1 MICROSCOPIA

#### Colorazione di Gram

Segnalazione verbale sul microorganismo rilevato (oltre a referto scritto se richiesto dai protocolli locali)

#### Altre colorazioni supplementari

Segnalazione verbale sul microorganismo rilevato (oltre a referto scritto se richiesto dai protocolli locali)

#### 5.1.1 Tempo per referto microscopico

I risultati positivi possono essere trasmessi per telefono o per via elettronica in accordo ai protocolli locali e discussione delle terapia quando appropriato .

Referto scritto 16 – 72 ore dopo il segnale di positività del flacone.

### 5.2 COLTURE

I risultati devono essere refertati nel modo seguente

- Refertare tutti i microrganismi isolati (con commento se l'isolato è di dubbio significato)
- Assenza di crescita
- Risultati delle prove supplementari

#### 5.2.1 Tempo di refertazione delle colture

Risultati di colture positive possono essere trasmessi per via telefonica o informatica, indicando, se necessario, che verrà inviato un altro referto

I risultati negativi sono refertati a, o dopo 48 ore

#### 5.2.2 Prove supplementari

Le prove rapide, come la ricerca dell'antigene, devono essere eseguite, secondo le indicazioni del produttore.

Lo *Streptococcus pneumoniae* deve essere ricercato, quando appropriato, con la ricerca dell'antigene o con la PCR

Risultati clinicamente urgenti possono essere trasmessi per via telefonica o informatica, o in accordo ai protocolli locali

### 5.3 PROVE DI SENSIBILITA'

Refertare le sensibilità come clinicamente suggerito

#### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 24 di 34  
Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

## 6.0 SEGNALAZIONE ALLA HPA (LOCALE ED AI SERVIZI NAZIONALI ED AL CENTRO CDSC PER LE INFEZIONI)EFERTARE AL CDSC<sup>136</sup>

Fare riferimento a:

Singola SOP per l'identificazione del microrganismo

Pubblicazioni della Health Protection Agency:

“ Reporting to the CDR: A guide for laboratories”

“ Hospital infection control: Guidance on the control of infection in hospital”

Fare riferimento alle linee guida attuali del CDSC ed alle indicazioni del COSUR

Tutti gli isolati clinicamente significativi da emocolture dovrebbero essere segnalati al CDSC ed alcuni con importanza per la salute pubblica dovrebbero essere segnalati al CCDC

Il sospetto di diffusione volontaria di microrganismi deve essere notificato immediatamente al Consultant for Communicable Disease Control al Center for Infections.

## RINGRAZIAMENTI ED INDIRIZZI

Questi Standard Method sono stati sviluppati, controllati e revisionati dallo Standards Methods Working Group for Bacteriology ([http://www.hpa.-standardmethods.org.uk/wg\\_bacteriology.asp](http://www.hpa.-standardmethods.org.uk/wg_bacteriology.asp)).

Si ringraziano per il contributo i numerosi soggetti appartenenti a laboratori clinici di microbiologia ed alle organizzazioni specialistiche che hanno fornito informazioni e commenti nel corso della preparazione di questo documento, e da ultima la redazione di Medical Edictor .

I National Standards Methods sono emessi dalla Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory, Centre for Infections, Health Protection Agency London.

Per ulteriori informazioni contattateci a:

Standards Unit  
Evaluations and Standards Laboratory  
Centre for Infections  
Health Protection Agency  
Colindale, London  
NW9 SEQ  
e-mail [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 25 di 34

Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

## BIBLIOGRAFIA

1. Department of Health NHS Executive. The Caldicott Committee. Report on the review of patient-identifiable information. 1997. London.
2. Weinstein MP, Reller LB, Murphy JR, Lichtenstein KA. The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. I. Laboratory and epidemiologic observations. *Reviews of Infectious Diseases* 1983;5:35-53.
3. Eykyn SJ. Bacteraemia, septicaemia and endocarditis. In: Hausler WJ, Sussman M, editors. *Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity. Bacterial Diseases*. London: Edward Arnold; 1998. p. 277-98.
4. Sprung CL. Definitions of sepsis--have we reached a consensus? *Crit Care Med* 1991;19:849-51.
5. Weinstein MP, Murphy JR, Reller LB, Lichtenstein KA. The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. II. Clinical observations, with special reference to factors influencing prognosis. *Rev Infect Dis* 1983;5:54-70.
6. Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, Mirrett S, Reimer LG, Parmigiani G, et al. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin Infect Dis* 1997;24:584-602.
7. Washington JA, Ilstrup DM. Blood cultures: issues and controversies. *Rev Infect Dis* 1986;8:792-802.
8. Aronson MD, Bor DH. Blood cultures. *Annals of Internal Medicine* 1987;106:246-53.
9. Mylotte JM, Tayara A. Blood cultures: clinical aspects and controversies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000;19:157-63.
10. Washington JA. An international multicenter study of blood culture practices. The International Collaborative Blood Culture Study Group. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992;11:1115-28.
11. Jones GR. A re-evaluation of blood cultures. *Rev Med Microbiol* 1995;6:109-18.
12. Brouqui P, Raoult D. Endocarditis due to rare and fastidious bacteria. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:177-207.
13. Ispahani P, Pearson NJ, Greenwood D. An analysis of community and hospital-acquired bacteraemia in a large teaching hospital in the United Kingdom. *Q J Med* 1987;63:427-40.
14. Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM. Septic shock. *Lancet* 2005;365:63-78.
15. Jumaa PA, Chattopadhyay B. Pseudobacteraemia. *J Hosp Infect* 1994;27:167-77.
16. Phillips I, Eykyn S, Laker M. Outbreak of hospital infection caused by contaminated autoclaved fluids. *Lancet* 1972;1:1258-60.

### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 26 di 34  
Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

17. Simhon A, Rahav G, Shapiro M, Block C. Skin disease presenting as an outbreak of pseudobacteremia in a laboratory worker. *J Clin Microbiol* 2001;39:392-3.
18. Noskin GA, Suriano T, Collins S, Sesler S, Peterson LR. *Paenibacillus macerans* pseudobacteremia resulting from contaminated blood culture bottles in a neonatal intensive care unit. *Am J Infect Control* 2001;29:126-9.
19. Eykyn SJ, Gransden WR, Phillips I. The causative organisms of septicaemia and their epidemiology. *J Antimicrob Chemother* 1990;25 Suppl C:41-58.
20. Boslego JW TEC. *Neisseria meningitidis*. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, editors. *Infectious Diseases*. Philadelphia: WB Saunders Company; 1998. p. 1769-75.
21. Thiery G, Tankovic J, Brun-Buisson C, Blot F. Gonococemia associated with fatal septic shock. *Clin Infect Dis* 2001;32:E92-E93.
22. Plummer M, Schoch PE. *Rothia dentocariosa* Bacteremia. *Clin Microbiol Newslett* 1995;17:22-4.
23. Auzias A, Bollet C, Ayari R, Drancourt M, Raoult D. *Corynebacterium freneyi* bacteremia. *J Clin Microbiol* 2003;41:2777-8.
24. Roberts FJ. Nontyphoidal, nonparatyphoidal salmonella septicemia in adults. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993;12:205-8.
25. Wilks D, Jacobson SK, Lever AM, Farrington M. Fatal melioidosis in a tourist returning from Thailand. *J Infect* 1994;29:87-90.
26. Collazos J, de Miguel J, Ayarza R. *Moraxella catarrhalis* bacteremic pneumonia in adults: two cases and review of the literature. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992;11:237-40.
27. Wenzel RP. Nosocomial candidemia: risk factors and attributable mortality. *Clin Infect Dis* 1995;20:1531-4.
28. Warnock EW, III, MacMath TL. Primary *Vibrio vulnificus* septicemia. *J Emerg Med* 1993;11:153-6.
29. Khan AM, Albert MJ, Sarker SA, Bhattacharya MK, Azad AK. Septicemia due to *Vibrio cholerae* 0139 Bengal. *Diagnostic Microbiology & Infectious Disease* 1995;22:337-8.
30. Bonatti H, Rossboth DW, Nachbaur D, Fille M, Aspöck C, Hend I, et al. A series of infections due to *Capnocytophaga* spp in immunosuppressed and immunocompetent patients. *Clin Microbiol Infect* 2003;9:380-7.
31. Lombardi DP, Engleberg NC. Anaerobic bacteremia: incidence, patient characteristics, and clinical significance. *Am J Med* 1992;92:53-60.
32. Brazier JS, Hall V, Yusuf E, Duerden BI. *Fusobacterium necrophorum* infections in England and Wales 1990-2000. *J Med Microbiol* 2002;51:269-72.
33. Golpe R, Marin B, Alonso M. Lemierre's syndrome (necrobacillosis). *Postgrad Med J* 1999;75:141-4.

#### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 27 di 34

Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

34. Paisley JW, Lauer BA. Pediatric blood cultures. Clin Lab Med 1994;14:17-30.
35. Jaffe DM. Occult bacteremia in children. [Review] [100 refs]. Adv in Pediatric Infect Dis 1994; 9:237-60.
36. Dietzman DE, Fischer GW, Schoenknecht FD. Neonatal *Escherichia coli* septicemia--bacterial counts in blood. J Pediatr 1974;85:128-30.
37. Marshall GS, Bell LM. Correlates of high grade and low grade *Haemophilus influenzae* bacteremia. Pediatr Infect Dis J 1988;7:86-90.
38. Weinstein MP. Current blood culture methods and systems: clinical concepts, technology, and interpretation of results. Clin Infect Dis 1996;23:40-6.
39. Norberg A, Christopher NC, Ramundo ML, Bower JR, Berman SA. Contamination rates of blood cultures obtained by dedicated phlebotomy vs intravenous catheter. JAMA 2003;289:726-9.
40. Bouza E, Burillo A, Munoz P. Catheter-related infections: diagnosis and intravascular treatment. Clin Microbiol Infect 2002;8:265-74.
41. Weightman NC, Simpson EM, Speller DC, Mott MG, Oakhill A. Bacteraemia related to indwelling central venous catheters: prevention, diagnosis and treatment. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1988;7:125-9.
42. Blot F, Nitenberg G, Chachaty E, Raynard B, Germann N, Antoun S, et al. Diagnosis of catheter-related bacteraemia: a prospective comparison of the time to positivity of hub-blood versus peripheral-blood cultures. Lancet 1999;354:1071-7.
43. Griego MH. Approach to the immunocompromised patient. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, editors. Infectious Diseases. Philadelphia: WB Saunders Company; 1998. p. 1215-22.
44. Browne AE. Opportunistic infections. In: Berger SA, editor. Clinical Manual of Infectious Diseases. California: Addison-Wesley Publishing Company; 1982. p. 265-80.
45. Roselle GA, Watanakunakorn C. Polymicrobial bacteremia. JAMA 1979;242:2411-3.
46. Bodey GP, Nies BA, Freireich EJ, Bethesda MD. Multiple organism septicemia in acute leukemia. Arch Intern Med 1965;116:266-72.
47. Beebe JL, Koneman EW. Recovery of uncommon bacteria from blood: association with neoplastic disease. Clin Microbiol Rev 1995;8:336-56.
48. Kiehn TE. Bacteremia and fungemia in the immunocompromised patient. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1989;8:832-7.
49. Kern W, Vanek E. Aerococcus bacteremia associated with granulocytopenia. Eur J Clin Microbiol 1987;6:670-3.
50. Friedman ND, Korman TM, Fairley CK, Franklin JC, Spelman DW. Bacteraemia due to *Stenotrophomonas maltophilia*: an analysis of 45 episodes. J Infect 2002;45:47-53.

#### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 28 di 34  
Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

51. Ko WC, Chuang YC. *Aeromonas* bacteremia: review of 59 episodes. *Clin Infect Dis* 1995;20:1298-304.
52. Lin RD, Hsueh PR, Chang SC, Luh KT. *Capnocytophaga* bacteremia: clinical features of patients and antimicrobial susceptibility of isolates. *J Formos Med Assoc* 1998;97:44-8.
53. McCartney AC. Changing trends in infective endocarditis. *J Clin Pathol* 1992;45:945-8.
54. Raad II, Vartivarian S, Khan A, Bodey GP. Catheter-related infections caused by the *Mycobacterium fortuitum* complex: 15 cases and review. *Rev Infect Dis* 1991;13:1120-5.
55. Korzeniowski OM KD. Endocarditis. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, editors. *Infectious Diseases*. Philadelphia: WB Saunders Company; 1998. p. 663-74.
56. Bayer AS, Scheld WM. Endocarditis and intravascular infections. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Vol 1. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2000. p. 857-902.
57. Moreillon P, Que YA. Infective endocarditis. *Lancet* 2004;363:139-49.
58. Fefer P, Raveh D, Rudensky B, Schlesinger Y, Yinnon AM. Changing epidemiology of infective endocarditis: a retrospective survey of 108 cases, 1990-1999. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002;21:432-7.
59. Weinberger I, Rotenberg Z, Zacharovitch D, Fuchs J, Davidson E, Agmon J. Native valve infective endocarditis in the 1970s versus the 1980s: underlying cardiac lesions and infecting organisms. *Clin Cardiol* 1990;13:94-8.
60. Wells CJ, Leech GJ, Lever AM, Wansbrough-Jones MH. Treatment of native valve *Candida* endocarditis with fluconazole. *J Infect* 1995;31:233-5.
61. Hogevik H, Alestig K. Fungal endocarditis--a report on seven cases and a brief review. *Infection* 1996;24:17-21.
62. Braimbridge MV, Eykyn SJ. Prosthetic valve endocarditis. *J Antimicrob Chemother* 1987;20 Suppl A:173-80.
63. Batchelor BI, Brindle RJ, Gilks GF, Selkon JB. Biochemical mis-identification of *Brucella melitensis* and subsequent laboratory-acquired infections. *J Hosp Infect* 1992;22:159-62.
64. Gilligan PH, Lum G, Vandamme PA, Whittier S. *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Ralstonia*, *Brevundimonas*, *Comamonas*, *Delftia*, *Pandoraea*, and *Acidovorax*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. American Society for Microbiology Press, Washington DC; 2003. p. 729-48.
65. Freeman R. Blood cultures - principles, practice and pitfalls. *Rev Med Microbiol* 1990;1:92-100.
66. Vigano EF, Vasconi E, Agrappi C, Clerici P. Use of simulated blood cultures for time to detection comparison between BacT/ALERT and BACTEC 9240 blood culture systems. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002;44:235-40.
67. Rohner P, Pepey B, Auckenthaler R. Comparison of BacT/Alert with Signal blood culture system. *J Clin Microbiol* 1995;33:313-7.

#### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 29 di 34  
Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

68. Petti CA, Zaidi AK, Mirrett S, Reller LB. Comparison of Isolator 1.5 and BACTEC NR660 aerobic 6A blood culture systems for detection of fungemia in children. *J Clin Microbiol* 1996;34:1877-9.
69. Wilson ML, Mirrett S, McDonald LC, Weinstein MP, Fune J, Reller LB. Controlled clinical comparison of bioMerieux VITAL and BACTEC NR-660 blood culture systems for detection of bacteremia and fungemia in adults. *J Clin Microbiol* 1999;37:1709-13.
70. Spanjaard L, Kuijper EJ, Dankert J. Clinical comparison of two commercial blood culture systems. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000;19:881-5.
71. Frank U, Malkotsis D, Mlangeni D, Daschner FD. Controlled clinical comparison of three commercial blood culture systems. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999;18:248-55.
72. Rohner P, Pepey B, Auckenthaler R. Comparative evaluation of BACTEC aerobic Plus/F and Septi-Chek Release blood culture media. *J Clin Microbiol* 1996;34:126-9.
73. Vetter E, Torgerson C, Feuker A, Hughes J, Harmsen S, Schleck C, et al. Comparison of the BACTEC MYCO/F Lytic bottle to the isolator tube, BACTEC Plus Aerobic F/bottle, and BACTEC Anaerobic Lytic/10 bottle and comparison of the BACTEC Plus Aerobic F/bottle to the Isolator tube for recovery of bacteria, mycobacteria, and fungi from blood. *J Clin Microbiol* 2001;39:4380-6.
74. Wilson ML, Mirrett S, Meredith FT, Weinstein MP, Scotto V, Reller LB. Controlled clinical comparison of BACTEC plus anaerobic/F to standard anaerobic/F as the anaerobic companion bottle to plus aerobic/F medium for culturing blood from adults. *J Clin Microbiol* 2001;39:983-9.
75. Krisher KK, Gibb P, Corbett S, Church D. Comparison of the BacT/Alert PF pediatric FAN blood culture bottle with the standard pediatric blood culture bottle, the Pedi-BacT. *J Clin Microbiol* 2001;39:2880-3.
76. Reimer LG, Wilson ML, Weinstein MP. Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:444-65.
77. McDonald LC, Fune J, Gaido LB, Weinstein MP, Reimer LG, Flynn TM, et al. Clinical importance of increased sensitivity of BacT/Alert FAN aerobic and anaerobic blood culture bottles. *J Clin Microbiol* 1996;34:2180-4.
78. Brown DF, Perry SF. Methods used in the United Kingdom for the culture of micro-organisms from blood. *J Clin Pathol* 1992;45:468-74.
79. Riley JA, Heiter BJ, Bourbeau PP. Comparison of recovery of blood culture isolates from two BacT/ALERT FAN aerobic blood culture bottles with recovery from one FAN aerobic bottle and one FAN anaerobic bottle. *J Clin Microbiol* 2003;41:213-7.
80. Krumholz HM, Cummings S, York M. Blood culture phlebotomy: switching needles does not prevent contamination. *Ann Intern Med* 1990;113:290-2.
81. Lee CS, Tang RB, Chung RL, Chen SJ. Evaluation of different blood culture media in neonatal sepsis. *J Microbiol Immunol Infect* 2000;33:165-8.
82. Leisure MK, Moore DM, Schwartzman JD, Hayden GF, Donowitz LG. Changing the needle when inoculating blood cultures. A no-benefit and high-risk procedure. *JAMA* 1990;264:2111-2.

#### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 30 di 34  
Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

83. Spitalnic SJ, Woolard RH, Mermel LA. The significance of changing needles when inoculating blood cultures: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 1995;21:1103-6.
84. Byard RW. Arterial blood cultures in disseminated fungal disease. *Pediatr Infect Dis J* 1989;8:728-9.
85. Li J, Plorde JJ, Carlson LG. Effects of volume and periodicity on blood cultures. *J Clin Microbiol* 1994;32:2829-31.
86. Arpi M, Bentzon MW, Jensen J, Frederiksen W. Importance of blood volume cultured in the detection of bacteremia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1989;8:838-42.
87. Mermel LA, Maki DG. Detection of bacteremia in adults: consequences of culturing an inadequate volume of blood. *Ann Intern Med* 1993;119:270-2.
88. Schelonka RL, Chai MK, Yoder BA, Hensley D, Brockett RM, Ascher DP. Volume of blood required to detect common neonatal pathogens. *J Pediatr* 1996;129:275-8.
89. Reimer LG, Wilson ML, Weinstein MP. Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:444-65.
90. Knepper JG, Anthony BF. Diminished growth of *Pseudomonas aeruginosa* in unvented blood culture bottles. *Lancet* 1973;2:285-7.
91. Gantz NM, Medeiros AA, Swain JL, O'Brien TF. Vacuum blood-culture bottles inhibiting growth of *Candida* and fostering growth of *Bacteroides*. *Lancet* 1974;2:1174-6.
92. Mirrett S, Everts RJ, Reller LB. Controlled comparison of original vented aerobic fan medium with new nonvented BacT/ALERT FA medium for culturing blood. *J Clin Microbiol* 2001;39:2098-101.
93. Waites KB, Canupp KC. Evaluation of BacT/ALERT system for detection of *Mycoplasma hominis* in simulated blood cultures. *J Clin Microbiol* 2001;39:4328-31.
94. Eng J, Holten E. Gelatin neutralization of the inhibitory effect of sodium polyanethol sulfonate on *Neisseria meningitidis* in blood culture media. *J Clin Microbiol* 1977;6:1-3.
95. Davies S, Eggington R. Recovery of *Mycoplasma hominis* from blood culture media. *Med Lab Sci* 1991;48:110-3.
96. Appleman MD, Swinney RS, Heseltine PN. Evaluation of the Antibiotic Removal Device. *J Clin Microbiol* 1982;15:278-81.
97. Courcol RJ, Durocher AV, Roussel-Delvallez M, Fruchart A, Martin GR. Routine evaluation of BACTEC NR-16A and NR-17A media. *J Clin Microbiol* 1988;26:1619-22.
98. Smith SM, Eng RH. Effectiveness of antibiotic removal by the antibiotic-binding blood culture systems. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1985;3:201-12.
99. Kelly MT, Roberts FJ, Henry D, Geere I, Smith JA. Clinical comparison of isolator and BACTEC 660 resin media for blood culture. *J Clin Microbiol* 1990;28:1925-7.

**INVESTIGATION OF MOUTH SWAB**

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 31 di 34  
Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

100. Wright AJ, Thompson RL, McLimans CA, Wilson WR, Washington JA. The antimicrobial removal device. A microbiological and clinical evaluation. *Am J Clin Pathol* 1982;78:173-7.
101. Jessamine PG, Hoban DJ, Forward KR. Positive Bactec resin cultures do not influence antimicrobial selection. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1990;13:281-4.
102. Kurlat I, Stoll BJ, McGowan JE, Jr. Time to positivity for detection of bacteremia in neonates. *J Clin Microbiol* 1989;27:1068-71.
103. Masterson KC, McGowan JE, Jr. Detection of positive blood cultures by the Bactec NR660. The clinical importance of five versus seven days of testing. *Am J Clin Pathol* 1988;90:91-4.
104. Hardy DJ, Hulbert BB, Migneault PC. Time to detection of positive BacT/Alert blood cultures and lack of need for routine subculture of 5- to 7-day negative cultures. *J Clin Microbiol* 1992;30:2743-5.
105. Cockerill FR, III, Wilson JW, Vetter EA, Goodman KM, Torgerson CA, Harmsen WS, et al. Optimal testing parameters for blood cultures. *Clin Infect Dis* 2004;38:1724-30.
106. Yagupsky P, Peled N, Press J, Abu-Rashid M, Abramson O. Rapid detection of *Brucella melitensis* from blood cultures by a commercial system. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997;16:605-7.
107. Solomon HM, Jackson D. Rapid diagnosis of *Brucella melitensis* in blood: some operational characteristics of the BACT/ALERT. *J Clin Microbiol* 1992;30:222-4.
108. Yagupsky P. Detection of *Brucella melitensis* by BACTEC NR660 blood culture system. *J Clin Microbiol* 1994;32:1899-901.
109. Yagupsky P, Peled N, Press J, Abramson O, Abu-Rashid M. Comparison of BACTEC 9240 Peds Plus medium and isolator 1.5 microbial tube for detection of *Brucella melitensis* from blood cultures. *Journal of Clinical Microbiology* 1997;35:1382-4.
110. Washington JA. Collection, transport, and processing of blood cultures. *Clin Lab Med* 1994;14:59-68.
111. Klaerner HG, Eschenbach U, Kamereck K, Lehn N, Wagner H, Miethke T. Failure of an automated blood culture system to detect nonfermentative gram-negative bacteria. *J Clin Microbiol* 2000;38:1036-41.
112. Seegmuller I, Eschenbach U, Kamereck K, Miethke T. Sensitivity of the BacT/ALERT FA-medium for detection of *Pseudomonas aeruginosa* in pre-incubated blood cultures and its temperature-dependence. *J Med Microbiol* 2004;53:869-74.
113. Hawkins BL, Peterson EM, de la Maza LM. Improvement of positive blood culture detection by agitation. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1986;5:207-13.
114. Prag J, Nir M, Jensen J, Arpi M. Should aerobic blood cultures be shaken intermittently or continuously? *APMIS* 1991;99:1078-82.
115. Wilson ML, Weinstein MP. General principles in the laboratory detection of bacteremia and fungemia. [Review] [76 refs]. *Clinics in Laboratory Medicine* 1994;14:69-82.

#### INVESTIGATION OF MOUTH SWAB

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 32 di 34  
Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

116. Narasimhan SL, Weinstein AJ. Infective endocarditis due to a nutritionally deficient streptococcus. *J Pediatr* 1980;96:61-2.
117. McCarthy LR, Bottone EJ. Bacteremia and endocarditis caused by satelliting streptococci. *Am J Clin Pathol* 1974;61:585-91.
118. Van Scoy RE. Culture-negative endocarditis. *Mayo Clin Proc* 1982;57:149-54.
119. Wang WL, Blaser MJ. Detection of pathogenic *Campylobacter* species in blood culture systems. *J Clin Microbiol* 1986;23:709-14.
120. Casetta A, Derouin V, Boussougant Y. Absence of spontaneous autolysis of *Streptococcus pneumoniae* in aerobic fan culture bottles in a commercial blood culture system. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996;15:616-7.
121. Davis JC. A gram stain for smears of blood cultures, body fluids and tissues. *Am J Med Technol* 1976;42:417-23.
122. Silver H, Sonnenwirth AC. A practical and efficacious method for obtaining significant postmortem blood cultures. *Am J Clin Pathol* 1969;52:433-7.
123. Wilson SJ, Wilson ML, Reller LB. Diagnostic utility of postmortem blood cultures. *Arch Pathol Lab Med* 1993;117:986-8.
124. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. 2004 Approved List of Biological Agents. <http://www.hse.gov.uk/pubns/misc208.pdf>. p. 1-17.
125. Public Health Laboratory Service Standing Advisory Committee on Laboratory Safety. Safety Precautions: Notes for Guidance. 4th ed. London: Public Health Laboratory Service (PHLS); 1993.
126. Control of Substances Hazardous to Health Regulations 2002. General COSHH Approved Code of Practice and Guidance, L5. Suffolk: HSE Books; 2002.
127. Health and Safety Executive. 5 steps to risk assessment: a step by step guide to a safer and healthier workplace, IND (G) 163 (REVL). Suffolk: HSE Books; 2002.
128. Health and Safety Executive. A guide to risk assessment requirements: common provisions in health and safety law, IND (G) 218 (L). Suffolk: HSE Books; 2002.
129. Health Services Advisory Committee. Safety in Health Service laboratories. Safe working and the prevention of infection in clinical laboratories and similar facilities. 2nd ed. Suffolk: HSE Books; 2003.
130. NHS Estates. Health Building Note 15. Accommodation for pathology services. 1st ed. London: Her Majesty's Stationary Office (HMSO); 1991. (Out of print - 2nd edition in press).
131. BS EN 12469: 2000. Biotechnology - performance criteria for microbiological safety cabinets. London: British Standards Institution (BSI); 2000.
132. BS 5726: 1992. Microbiological safety cabinets. Part 2. Recommendations for information to be exchanged between purchaser, vendor and installer and recommendations for installation. London: British Standards Institution (BSI); 1992.

#### **INVESTIGATION OF MOUTH SWAB**

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 33 di 34  
Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)

133. BS 5726: 1992. Microbiological safety cabinets. Part 4. Recommendations for selection, use and maintenance. London: British Standards Institution (BSI); 1992.
134. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. The management, design and operation of microbiological containment laboratories. Suffolk: HSE Books; 2001.
135. Bryant JK, Strand CL. Reliability of blood cultures collected from intravascular catheter versus venipuncture. Am J Clin Pathol 1987;88:113-6.
136. PHLS, CDSC. Reporting to the PHLS Communicable Disease Surveillance Centre: a reference for laboratories. May. 2001.

**INVESTIGATION OF MOUTH SWAB**

Riferimento no: 5.1 Data di emissione: 03.05.05 Emesso da: Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Pagina 34 di 34  
Riferimento no: BSOP 4i5.1

Questa SOP deve essere usata congiuntamente alle altre SOPs emesse dalla Health Protection Agency

[www.evaluations-standards.org.uk](http://www.evaluations-standards.org.uk)

E-mail: [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk)