



Sede legale: Via G. Cusmano, 24 – 90141 PALERMO

C.F. e P. I.V.A.: 05841760829

DIREZIONE SANITARIA AZIENDALE

Via Giacomo Cusmano n° 24
90141 - PALERMO

Telefono
091 7032330 - 2060

FAX
091 7032039

EMAIL
direzionesanitaria@ausl6palermo.org

WEB
www.ausl6palermo.org

DATA 06/05/2010

PROT. N° 3558/DSA

Ai Direttori Medici Presidi Ospedalieri
ASP di Palermo
Loro Sedi

Oggetto: integrazione procedure CIO – nota protocollo n. 3115 del 20/04/2010.

Ad integrazione della procedura operativa aziendale "Sorveglianza delle Infezioni Ospedaliere basata sui dati di laboratorio, si inviano con la presente gli allegati alla procedura, trasmessi soltanto parzialmente con la precedente nota.

Il Presidente f.i. CIO
Dr. Antonino Di Benedetto



AL DIRETTORE UOC PATOLOGIA CLINICA
P.O. _____

MODULO DI RICHIESTA ESAMI MICROBIOLOGICI

Cognome _____ Nome _____ n° cartella clinica _____ data di nascita

_____ Reparto _____ Data di ricovero _____ diagnosi _____

PATOLOGIE ASSOCIATE:

TERAPIA ATB MOLECOLA:

DAL _____ AL _____

QUESITO CLINICO

TIPO DI CAMPIONE _____

ESAME RICHIESTO _____

ALTRI ACCERTAMENTI ESEGUITI

Il Dirigente Medico



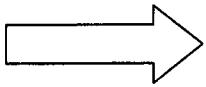
P.O. _____
U.O. Patologia Clinica

Prot. n° /L.A.

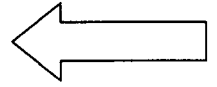
Data

AL DIRETTORE MEDICO DEL P.O. _____

AL RESPONSABILE DEL REPARTO DI _____



MODULO DI RILEVAZIONE GERMI SENTINELLA



PAZIENTE (n° cartella clinica): _____ REP: _____

CAMPIONE : _____

INVIATO IL : _____

MICROORGANISMO ISOLATO : _____

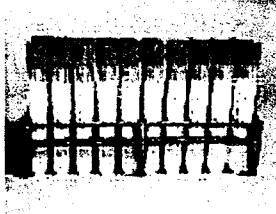
COMUNICAZIONE TELEFONICA AL SIG/DOTT: _____

DATA _____ ORA _____

firma

PROCEDURA TRASPORTO CAMPIONI BIOLOGICI

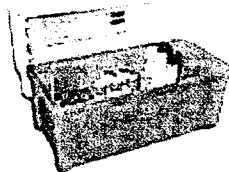
-A-



RECIPIENTE PRIMARIO

Il recipiente primario è la provetta. Le provette devono essere ben chiuse e correttamente posizionate in un portaprovette, i contenitori per le urine devono essere chiusi e posizionati verticalmente, eventuali piastre microbiologiche devono essere sigillate (per esempio con “parafilm”). La singola provetta può essere interita, eventualmente, dentro un apposito contenitore ermetico infrangibile. Le provette ed i contenitori devono essere ben identificati, con scrittura indelebile, codici a barre, ecc.; non posizionare alcun foglio d’accompagnamento attorno o a contatto con i campioni. Tale operazione deve essere fatta esclusivamente dal personale del laboratorio, nel rispetto delle BPL (buone pratiche di laboratorio).

-B-



UN 3373

IMBALLAGGIO SECONDARIO

Utilizzare per il trasporto con autoveicoli una cassetta con chiusura, resistente agli urti, lavabile e disinfettabile (ne esistono di diversi tipi, di vari materiali, anche refrigerate e non costose); mettere sul fondo della cassetta della carta assorbente e quindi posizionare stabilmente il portaprovette e gli altri campioni. La cassetta deve avere il simbolo di “rischio biologico” e la scritta “UN 3373” (necessaria per il trasporto su strada). Tale operazione deve essere fatta esclusivamente dal personale del laboratorio, nel rispetto delle BPL (buone pratiche di laboratorio).

I moduli di accompagnamento ai campioni biologici devono essere inseriti dentro un sacchetto di plastica e mai a contatto con i campioni biologici.

-C-



TRASPORTO E CONSEGNA

Consegnare la cassetta al trasportatore che dovrà sistemarla nel veicolo in modo fermo e sicuro (si potrebbe usare un elastico per fissarla al sedile). Evitare di esporre la cassetta ai raggi solari, evitare eccessive sollecitazioni, non aprirla per nessun motivo; inoltre, il trasportatore deve poter disporre di resistenti guanti da lavoro e di una polvere assorbente a base di cloro (va bene un qualunque prodotto commerciale per famiglia).

Non lasciare la cassetta incostudita, cercare di raggiungere la destinazione senza indugi e nel tempo più breve possibile.

Una volta a destinazione la cassetta deve essere aperta, esclusivamente, dal personale del laboratorio ricevente che provvederà a manipolare i campioni biologici e la relativa modulistica d' accompagnamento.



COMITATO PER LA LOTTA ALLE INFEZIONI OSPEDALIERE

PROCEDURA PER IL PRELIEVO DI SANGUE PER EMOCOLTURA

- 1 -

- EFFETTUARE IL PRELIEVO SUBITO PRIMA DELL' INIZIO DELLA TERAPIA ANTIBIOTICA O SE GIA' IN CORSO, PRIMA DELLA SUCCESSIVA SOMMINISTRAZIONE
- EFFETTUARE TRE PRELIEVI, UNO OGNI 15-30 MINUTI DALL' INIZIO DEL RIALZO TERMICO E/O DEI BRIVIDI
- RIPETERE IL GIORNO SUCCESSIVO IN CASI PARTICOLARI (TERAPIA ANTIBIOTICA, ENDOCARDITE SUBACUTA, ...)

- 2 -

- DETERGERE ACCURATAMENTE LE MANI USANDO SOLUZIONI ANTISETTICHE PRIMA DI EFFETTUARE IL PRELIEVO
- USARE I DPI (DISPOSITIVI DI PROTEZIONE INDIVIDUALI)
- DISINFETTARE IL PUNTO PRELIEVO CON CLOREXIDINA AL 2% O IODOPOVIDONE

- 3 -

- DISINFETTARE IL TAPPO IN GOMMA DEL FLACONE, DOPO AVER RIMOSSO LA PROTEZIONE, CON ALCOOL AL 70% O IODOPOVIDONE

- 4 -

- ESEGUIRE IL PRELIEVO CON SISTEMI "VACUTAINER" O CON SIRINGA STERILE DA 20 CC
- IMMETTERE IN OGNI FLACONE DA 5 A 10 ML DI SANGUE ED OMOGENEIZZARE DELICATAMENTE PER INVERSIONE DEI FLACONI
- IDENTIFICARE CORRETTAMENTE I FLACONI (BARCODE O ALTRO SISTEMA) E INDICARE IL NUMERO DEL PRELIEVO, I, II O III

- 5 -

- INVIARE IMMEDIATAMENTE AL LABORATORIO
- IN CASO CONTRARIO, CONSERVARE A TEMPERATURA AMBIENTE FINO A 24 ORE (NON REFRIGERARE IL CAMPIONE)



COMITATO PER LA LOTTA ALLE INFEZIONI OSPEDALIERE

EMOCOLTURA

L'emocultura è un'indagine finalizzata alla ricerca di germi responsabili di setticemie, tramite coltura di prelievi di sangue.

MATERIALI E METODI

Per l'esecuzione dell'emocultura è previsto l'utilizzo di due flaconi per uno stesso paziente.

- Flacone per microrganismi aerobi difasico (brodo arricchito di fattori di crescita, ed agar che ricopre una delle due facce del flacone), che permette la crescita ottimale dei principali microrganismi aerobi: batteri e lieviti.
- Flacone per anaerobi che permette una crescita ottimale dei principali microrganismi anaerobi riscontrati nelle setticemie.

Ambedue i flaconi sono a pressione negativa.

ESECUZIONE DEL PRELIEVO

Secondo procedura aziendale

TECNICHE DI ESECUZIONE DELLA METODICA

Allentare il tappo dal flacone per aerobi neutralizzando la pressione negativa e richiudere, quindi, seminare la superficie agarizzata per *inondazione* ponendo il contenitore in posizione orizzontale per circa 1 – 2 m', e Incubare entrambi i flaconi a 37° C in termostato.

Ogni 24 ore dall'esecuzione del prelievo va effettuato il controllo visivo al fine di evidenziare eventuali variazioni per almeno 7 giorni (In alcuni casi – brucellosi- può essere necessario prolungare l'incubazione e l'osservazione fino a 15 giorni), procedendo, ogni 48 ore, ad ulteriore *inondazione* dell'agar del flacone bifasico, in assenza di evidenza di crescita.

LETTURA ED INTERPRETAZIONE

La periodica osservazione dei campioni può essere interpretata come positiva nel caso in cui si evidenzino uno o più dei seguenti eventi:

- Sull'agar presenza di colonie e/o produzione di gas
- Nel brodo comparsa di torbidità, di deposito e/o emolisi

Tali evidenze impongono una subcoltura dall'agar e/o dal brodo su terreni in piastra idonei all'isolamento (agar sangue, agar cioccolato arricchito, Mac Conkey, Sabouraud + caf): si rimuove il tappo del flacone sede di crescita, rispettando le



COMITATO PER LA LOTTA ALLE INFEZIONI OSPEDALIERE

norme di sterilità per il campione e di sicurezza per l'operatore (cappa a flusso laminare, DPI, becco Bunsen), prelevando la brodocultura con pipetta monouso sterile e/o le colonie presenti sull'agar con ansa sterile, distribuendo il materiale su piastra.

Le piastre inoculate vanno incubate in aerobiosi e/o anaerobiosi a 37° C in termostato.

L'identificazione del microrganismo isolato deve essere eseguita successivamente utilizzando test biochimici.



COMITATO PER LA LOTTA ALLE INFEZIONI OSPEDALIERE
ANTIBIOGRAMMA

Saggio in vitro delle sensibilità/resistenze batteriche agli antibiotici, il cui risultato viene espresso in termini qualitativi come sensibilità o resistenza del ceppo isolato nei confronti della concentrazione dell'antibiotico testato (Sens./Intermedio/Resist.). Una valutazione più accurata prevede l'effettuazione della MIC che consente di modulare il farmaco in vivo.

Si basa sull'uso di gallerie, contenenti un terreno semisolido e concentrazioni di antimicrobici che corrispondono alle concentrazioni break-point stabilite dal CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute).

PRINCIPIO

La galleria consiste in sedici coppie di cupole, la prima coppia senza antibiotico (controllo crescita), le altre 14 contengono antibiotici ad una o due concentrazioni.

Il germe in esame è posto in sospensione in un terreno di coltura e quindi inoculato nella galleria, dopo 18 – 24 ore di incubazione a 37° C la lettura della crescita batterica può essere fatta sia visivamente sia in automazione con la strumentazione apposita; i risultati ottenuti classificano il ceppo come sensibile (S), intermedio (I), resistente (R).

Le gallerie utilizzate sono differenziate in rapporto al germe in esame: enterobatteri, Pseudomonas e microrganismi gram negativi non fermentanti, enterococchi, stafilococchi, streptococchi, neisserie, emofili, microrganismi anaerobi e miceti.

PROCEDIMENTO

Si prepari una sospensione batterica di opacità misurata in Mc Farland che varia in rapporto alla galleria in allestimento e si inoculi un terreno semisolido di crescita (Mueller-Hinton addizionato di Ca ed Mg, glucosio e agar 0,15%), con la sospensione batterica; la concentrazione dell'inoculo varia in rapporto al tipo di galleria come specificato su ciascuna confezione.

La preparazione delle gallerie può essere fatta manualmente o con un sistema semi automatico (135 microL per cupola); segue l'incubazione per 18- 24 ore a 37° C, senza CO₂.

Si raccomanda di effettuare il test sull'*isolato* in cultura pura, effettuando dalla piastra madre una subcultura, su terreno adatto, a partire da una singola colonia

LETTURA

La crescita in presenza di entrambe le concentrazioni di antibiotico indica Resistenza, ove si osservi crescita esclusivamente in presenza della concentrazione più bassa si avrà una sensibilità Intermedia, mentre l'assenza di crescita in entrambe le concentrazioni indicherà Sensibilità del germe all'antibiotico testato.

Le concentrazioni break-point sono quelle stabilite dal CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute)



ASL SANITARIA PROVINCIALE
Sede legale: Via G. Cusmano, 24 - 90141 PALERMO
C.F. e P.I.V.A.: 05841760829

Presidio Ospedaliero G.F.Ingrassia-Distretto 3
Unità Operativa Patologia Clinica
Corso Calatafimi, 1002
90100 Palermo
Tel/fax: 0917033665 Tel: 0917033666-67

SISTEMA DI SORVEGLIANZA BASATO SUI DATI DI LABORATORIO

Partendo da materiale biologico idoneo per sede di prelievo, modalità, tempi di raccolta ed invio al Laboratorio, (Bal, espettorato, urine 2° mitto, emocultura etc), il laboratorio di microbiologia attua il sistema di sorveglianza basandosi su alcuni eventi sentinella:

- microrganismi particolari : elenco A
- aumento dell'antibiotico resistenza
- positività su matrici nobili (sangue, liquor)

METODOLOGIA

Sull'isolato microbiologico, dopo una corretta identificazione biochimica, si devono effettuare i test di sensibilità agli antibiotici in vitro.

L'elenco degli antibiotici da saggiare viene spesso deciso unilateralmente dal Laboratorio di microbiologia, perché il sistema analitico utilizzato, non consente larghe alternative: uso di gallerie predeterminate che "saggiano" molecole capostipiti" per le varie classi di antibiotici, ma in ogni caso secondo requisiti rigorosi dettati dalla CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute).

Il risultato degli ATB viene espresso in termini qualitativi come sensibilità o resistenza del ceppo isolato nei confronti della concentrazione dell' antibiotico.

Una valutazione più accurata prevede l'effettuazione della MIC che consente di modulare il farmaco in vivo.

Il prodotto del laboratorio di microbiologia è il referto che va inviato tempestivamente sia al reparto che al G.O. preceduto eventualmente da una comunicazione telefonica.

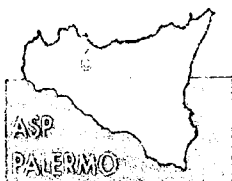
COSA RICHIEDE

- 1) collaborazione e comunicazione continua tra il Microbiologo, il Reparto e il G.O.
- 2) codifica condivisa e riconosciuta dai Reparti, degli interventi successivi ad ogni segnalazione.

A COSA SERVE

- 1) ad allertare i Reparti e il G.O., per favorire interventi immediati di prevenzione, se necessari.
- 2) a calcolare annualmente i tassi di circolazione di patogeni responsabili di I.O. e, in ogni caso, a conoscere la "ecologia microbica" locale di ogni nosocomio, per l'impostazione di una strategia terapeutica ottimale.

- Staphylococcus aureus MRSA
- Staphylococcus spp (coagulasi negativo) MRSA
- Enterococchi vancomicina-resistenti
- Pseudomonas aeruginosa multiresistente (imipenem, ceftazidime)
- Gram - (E. coli, Klebsiella spp, Enterobacter spp) resistenti alle cefalosporine
- Stenotrophomonas maltophilia
- Acinetobacter spp.



AZIENDA SANITARIA PROVINCIALE

Sede legale: Via G. Cusmano, 24 - 90141 PALERMO
C.F. e P. I.V.A.: 05841760829

PRESIDIO OSPEDALIERO G.F. INGRASSIA

U.O. PATOLOGIA CLINICA

DIRETTORE: DOTT. AGNESE BARABINO

SISTEMA DI SORVEGLIANZA BASATO SUI DATI DI LABORATORIO PROCEDURE PER LE MODALITA' DI RACCOLTA DI CAMPIONI BIOLOGICI

- URINA
- BRONCOASPIRATO
- ESPETTORATO



AZIENDA SANITARIA PROVINCIALE

Sede legale: Via G. Cusmano, 24 - 90141 PALERMO
C.F. e P. I.V.A.: 05841760829

PRESIDIO OSPEDALIERO G.F. INGRASSIA

U.O. PATOLOGIA CLINICA

DIRETTORE: DOTT. AGNESE BARABINO

URINA

Materiale per la raccolta

- - contenitore sterile a bocca larga con tappo a vite
- - sacchetto sterile adesivo per la prima infanzia
- - detergente, garze sterili
- - catetere vescicale

Modalità di raccolta

- il paziente procederà al lavaggio delle mani e ad accurato lavaggio dei genitali
- spiegare al paziente la corretta procedura per la raccolta del campione: la prima minzione del mattino o almeno tre ore dopo l'ultima minzione
- scartare il primo getto e senza interrompere la minzione, raccogliere direttamente il mitto intermedio nell'apposito contenitore
- raccogliere almeno 10 ml, e richiudere il tappo a vite controllando che non fuoriesca l'urina, evitando di inquinare la parte interna del contenitore con le mani.

Modalità di raccolta in bambini non collaboranti :

- Procedere ad un accurato lavaggio dei genitali e asciugare tamponando con garze sterili
- Applicare correttamente il sacchetto per la raccolta, mantenendolo in situ per circa 30 '
- Avvenuta la minzione, rimuovere il sacchetto e chiuderlo accuratamente.

Modalità di raccolta tramite catetere vescicale (con sacca monouso):

- Clampare il catetere vescicale, in prossimità della connessione con la sacca un'ora prima del prelievo
- Disinfettare esternamente il catetere
- Aprire asetticamente il contenitore per la raccolta delle urine
- Scollegare il catetere dal tubo di raccordo, proteggendo quest'ultimo con garza sterile e fare uscire le prime gocce di urina in un contenitore a perdere
- Immettere l'urina nel contenitore sterile (circa 10 ml)

Modalità di raccolta tramite catetere vescicale (sistema a circuito chiuso)

- Clampare a valle della valvola perforabile di prelievo circa un'ora prima del prelievo
- Disinfettare il punto prelievo
- Prelevare con siringa sterile dalla valvola perforabile circa 5 cc. di urina ed eliminarla
- Con altra siringa sterile da almeno 10 cc. prelevare la quantità idonea ed immetterla



AZIENDA SANITARIA PROVINCIALE

Sede legale: Via G. Cusmano, 24 - 90141 PALERMO
C.F. e P. I.V.A.: 05841760829

PRESIDIO OSPEDALIERO G.F. INGRASSIA

U.O. PATOLOGIA CLINICA

DIRETTORE: DOTT. AGNESE BARABINO

nel contenitore sterile con tappo a vite rispettando le buone norme di sterilità

N.B. Non eseguire in alcun caso prelievo delle urine dalla sacca
Lavarsi le mani ed indossare guanti sterili prima di ogni manovra

Modalità di raccolta campione urine per ricerca micobatteri

"PRIMO MITTO" per tre giorni consecutivi (Prima minzione)

I tre campioni devono essere posti in tre diversi contenitori sterili apponendo su di essi, oltre ai dati anagrafici del paziente anche la dicitura "BK"

conservazione

- Inviare se possibile al più presto il campione in Laboratorio,
- La dove non è possibile conservare il campione raccolto ad una temperatura di + 4° (frigo) per un periodo massimo di 24 ore.



AZIENDA SANITARIA PROVINCIALE

Sede legale: Via G. Cusmano, 24 - 90141 PALERMO
C.F. e P. I.V.A.: 05841760829

PRESIDIO OSPEDALIERO G.F. INGRASSIA

U.O. PATOLOGIA CLINICA

DIRETTORE: DOTT. AGNESE BARABINO

BRONCOASPIRATO

Materiale per la raccolta:

- - set sterile monouso con l'apposita provetta per la raccolta del materiale
- - guanti sterili o pinza sterile

Modalità di raccolta

- Lavarsi le mani ed indossare mascherina e guanti sterili
- Aprire la confezione del sondino evitando contaminazioni
- Sfilare il sondino dalla confezione e connetterlo all'aspiratore
- Disinfettare il cono del tubo endotracheale
- Introdurre il catetere nella cannula
- Azionare l'aspiratore regolato ad una aspirazione massima di 120 mmHg
- Aspirare ad intermittenza per periodi non superiori a 10 secondi, ritirando il catetere con movimenti rotatori
- Chiudere il sistema di aspirazione

Conservazione:

- inviare al laboratorio immediatamente
- in caso di impossibilità si può conservare il campione prelevato per due ore a temperatura ambiente oppure a +4° (in frigo) fino a 24 ore;
- per la ricerca dei micobatteri si può conservare il campione fino a 48 ore a +4°C (in frigo)

N.B Nel modulo di richiesta specificare il tipo di ricerca (germi comuni, miceti, micobatteri, ...)



AZIENDA SANITARIA PROVINCIALE

Sede legale: Via G. Cusmano, 24 - 90141 PALERMO
C.F. e P. I.V.A.: 05841760829

PRESIDIO OSPEDALIERO G.F. INGRASSIA

U.O. PATOLOGIA CLINICA

DIRETTORE: DOTT. AGNESE BARABINO

ESPETTORATO

Materiale per la raccolta

- - contenitore sterile a bocca larga con tappo a vite (tipo urinocoltura)

Modalità di raccolta

- al mattino a digiuno, dopo corretta pulizia del cavo orale, fare eseguire gargarismi con acqua distillata sterile
- quindi far espettorare direttamente il paziente nel contenitore sterile senza inquinarlo
- inviare in laboratorio immediatamente
- in caso di impossibilità si può conservare il campione prelevato per due ore a temperatura ambiente
- per la ricerca dei micobatteri si può conservare il campione fino a 48 ore a + 4°C (in frigo)

N.B Nel modulo di richiesta specificare il tipo di ricerca (germi comuni, miceti, micobatteri, ...), in caso di sospetta infezione tubercolare sono necessari tre prelievi di espettorato effettuato per tre mattine consecutive