

ASL N. 4 L'Aquila Ospedale San Salvatore	Procedura Operativa Standard	Rev 1.0
Dip. Patologia Clinica U.O. Medicina di Laboratorio	Urinocoltura	Ott. 2002
Settore Batteriologia tel 0862 368688		

1- Principio del test

Inoculo di un campione di urina in mezzi di coltura definiti per l'isolamento e la conta di patogeni del tratto urinario.

2- Applicazione clinica

Le urinocolture sono importanti per la diagnosi di infezione del tratto urinario (UTI), superiore o inferiore. IVU inferiore possono coinvolgere la vescica (cistite) o l'uretra (uretrite). La maggior parte delle infezioni hanno origine ascendente attraverso l'uretra e consistono di batteri della flora fecale normale che possono trovarsi nella regione peri- uretrale. Altre fonti di infezioni includono i cateteri urinari o alla strumentazione, che possono coinvolgere sia della flora fecale normale o batteri contaminanti presenti nel personale medico e assistenziale. IVU superiore includono infezioni dei reni (pielonefrite e glomerulonefrite) .Oltre a cio' , la pelvi renale puo' essere coinvolta (pielite), cosi' come gli ureteri .

3- Campione

RACCOLTA: Il campione di scelta per la realizzazione della urinocoltura è l'urina del mitto intermedio. I campioni da mitto primario non devono essere accettati per le urinocolture di routine, data la probabile presenza di batteri contaminanti provenienti da aree periuretrali e vaginali. Nella raccolta adeguata del mitto intermedio di urina, l'area periuretrale deve essere pulita con sapone, acqua sterile e pulita con garza sterile (facendo un movimento avanti-indietro). I primi millilitri del campione devono essere scartati (per asportare batteri che casualmente stanno nella uretra anteriore). L'urina del getto seguente (mitto intermedio) è intanto raccolta in un recipiente sterile fornito dal laboratorio (a becco largo con coperchio svitabile).

Campioni raccolti da cateteri urinari possono essere usati da urinocolture solamente se il paziente non può urinare spontaneamente o se il catetere è già inserito per una altra ragione medica. L'urina nella vescica è normalmente sterile e pertanto un campione proveniente da catetere urinario non deve contenere batteri. E' sconsigliabile inserire un catetere nel paziente per la raccolta di routine delle urine , dato il rischio di infezioni per il paziente.

La aspirazione sovrapubica può essere realizzata in in bambini e adolescenti giovani. Dato che è una tecnica invasiva , essa è realizzata quando assolutamente necessaria. La pelle è disinfettata sopra la vescica e l'area e' anestetizzata localmente. Una piccola incisione è fatta e l'ago è inserito nella vescica , raccogliendosi l'urina. Questo procedimento è riservato a pazienti che non possono essere cateterizzati quando un campione di urina è richiesta con urgenza.

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore: Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.

I campioni di urina non processati immediatamente dopo la raccolta devono essere refrigerati per minimizzare la moltiplicazione batterica.

Sempre se possibile , i campioni di urina devono essere raccolti la mattina.E' consigliabile informare il paziente , la notte prima, di astenersi da urinare fino alla raccolta del campione al mattino.

Per coloro che non hanno controllo della minzione (come nel caso dei bambini) si puo' fare uso del sacchetto collettore.Deve farsi pero' una attenta igiene del perineo , cosce, sedere e pancia , con acqua e sapone neutro.Il sacchettino collettore deve essere tolto ogni 30 minuti , nel caso non ci sia stata minzione, ripetendo l'igienizzazione del perineo.

Nei restanti casi (come per gli adulti) fare una igiene dei genitali esterni, con acqua e sapone neutro;asciugare con garza sterile e raccogliere il mitto intermedio, preferibilemnete della prima minzione del mattino.Se c'è giustificazione terapeutica o diagnostica della cateterizzazione del paziente , l'urina raccolta con questo procedimento puo' essere usata per la raccolta.In pazienti che hanno una cateterizzazione cronica con sistema aperto, esiste un elevato rischio di contaminazione della urina con flora colonizzatoria della uretra o del vaso collettore del sistema aperto.La puntura sovrapubica (che è una tecnica invasiva , pero' rapida, semplice e sicura) è indicata nei casi dubbi di infezione urinaria che presentano evidenze cliniche ,benchè normale colture rilevano un contagio basso di batteri.;nei neonati o bambini piccoli, quando si ha controindicazione di cateterizzazione o si sospetta infezioni da batteri anaerobi o funghi .Questo tipo di raccolta deve essere fatto soltanto da medici competenti..

Raccolta di urina per l'esame diretto e/o culturale dei bastoncelli alcool acido resistenti (BAAR) o del bacillo di Koch (BK): il, paziente deve raccogliere 3 o 5 campioni , in giorni consecutivi , di tutto il volume della prima minzione del mattino , dopo pulizia dei genitali esterni.

4- Standard, Controlli, Reagenti

Per la urinocoltura di routine usiamo il Dip Slide Uritest/Malto confezione da 10 test della Liofilchem .Esso comprende 3 terreni:Mac Conkey Agar per l'isolamento degli enterobatteri e pseudomonas, Malto agar per i lieviti e CLED agar per la carica batterica e l'isolamento di streptococchi e stafilococchi.

CARATTERISTICHE COLTURALI

TERRENI	MORFOLOGIA	E.COLI	PROTEUS	KLEBSIELLA	CANDIDA	PSEUDOMONAS	ENTEROCOCCHI	STAFILOCOCCI
MAC CONKEY AGAR	Aspetto colonie	Rosse convesse	Trasparenti irregolari	Rosa larghe mucose		Trasparenti irregolari		
	Colore terreno	Rosso	Incolore	Rosa/rosso		Incolore		
CLED AGAR	Aspetto colonie	Gialle regolari	Verdi irregolari	Gialle mucoidi	Bianche convesse	Incolori convesse	Gialle regolari	Gialle regolari

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore:Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.

	Colore terreno	Giallo	Blu/verde	Giallo	Verde	Verde	Giallo	Giallo
MALTO AGAR	Aspetto colonie	Piccole	Piccole	Piccole	Bianche convesse	Bianche convesse	Piccole bianche	Piccole bianche
	Colore terreno	Bianche	Bianche	Bianche	giallo	giallo		

Per la coltura del BK, si utilizza di routine il seguente mezzo:

MEZZO PER IL BK (Bacilo di Koch) -Lowenst in-Jensen:

Mezzo di cultura per la dimostrazione dei micobatteri causa di micobatteri:

Il mezzo di coltura   di colore verde-chiaro utilizzato sempre in tubi disposti a forma inclinata , chiusi ermeticamente (con tappo a vite) dopo l'aggiunta del materiale biologico da investigare..Incubazione per almeno 4 settimane a 37 C .Controllare dopo 10-14 giorni e poi settimanalmente .

COLONIE	MICRORGANISMI
Opache, rugose, quasi sempre gialle ma a volte senza pigmentazione	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Rugose con pigmentazione arancio (quando esposte alla luce)	<i>Mycobacterium kansasii-marinum</i>

5- Strumentazione

Le identificazioni biochimiche dei microrganismi isolati, cos  come la realizzazione degli antibiogrammi sono fatte con metodi automatici (AutoScan 4 - Dade Behring).

6- Procedimento dettagliato

SEMINA DI ROUTINE: svitare il tappo contenente lo slide con i terreni di coltura.Evitare qualsiasi contatto con le superfici dell'agar.Immergere lo slide con i terreni nel bicchiere contenente l'urina per l'indagine batteriologica.Sgocciolare l'eccesso di urina facendo poggiare l'estremit  dello slide su carta assorbente.Inserire ed avvitare lo slide nell'apposito contenitore ed incubare a 35 C-37 C per 18-24 ore in termostato.Dopo la incubazione valutare la crescita delle colonie batteriche sui terreni dello slide e risalire alla carica batterica totale (CLED agar).In alternativa in mancanza degli slide seminare con ansa calibrata da 1 L 2 terreni:un agar TSA e un agar Mac Conkey.

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore:Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.

SEMINA PER LA COLTURA DEL BK: Ogni campione di urina deve essere seminata in terreno Lowenstein Jensen dopo specifico trattamento (si rimanda al documento coltura dei micobatteri) e incubata in termostato batteriologico a (35-37°C) per almeno 40 giorni prima di essere scarta come negativa.

7- Calcoli

Non applicati

8- Controllo di qualità

settimanalmente sono incoltati batteri con profili fenotipici conosciuti per la verifica delle efficacia dei mezzi di coltura utilizzati.

9- Valori di riferimento, Interpretazione, valori critici

SIGNIFICATIVITA': in via generale si usano le seguenti convenzioni:

- sopra di 100.000 UFC/mL = indizio di infezione;
- da 10.000 a 90.000 UFC/mL = sospetta infezione ;
- da zero a 9-000UFC/mL = senza significato clinico, contaminazione

Si deve considerare pero' che qualunque isolamento di batteri gram negativi a partire della puntura sovrapubica è significativo. Per cocchi Gram-positivi specialmente stafilococchi , solamnete contagi $\geq 10^3$ devono essere considerati significativi, una volta che questi germi possono essere contaminanti della pelle durante il procedimento di puntura. nel caso di pazienti pediatrici , è fondamentale stabilire criteri di interpretazione sulla base del tipo di campione e sesso del paziente. Rispetto alla puntura sovrapubica , si suggerisce lo stesso criterio utilizzato per i pazienti adulti..

INTERPRETAZIONE: Ogni interpretazione deve essere fatta assieme ad altri dati importanti del paziente come: età, sesso, presenza di sintomi clinici, presenza di fattori predisponenti , infezioni urinarie anteriori e terapie anteriori o attuali (principalmente uso di antibiotici)

Coltura monomicrobica: flora unica o predominio al 90% di un microrganismo in coltura mista;

Coltura polimicrobica: si riferisce alla presenza di 2 o piu' tipi di germe con carica $\geq 10^5$ UFC/mL e in proporzioni simili. Il predominio di un germe in un campione in proporzione di 90% deve essere assunto come coltura monomicrobica. Una IVU mista prodotta da 2 o piu' batteri , è estremamente infrequente (< 0,3%) in pazienti ambulatoriali senza sondini. D'altro lato , questo tipo di infezione è piu' frequente in pazienti con sonde ospedalizzate e in altri pazienti con determinate patologie che interessano il tratto urinario. Tutta la IVU microbica deve essere documentata con, per lo meno, 2 campioni, da cui siano isolati 2 o piu' tipi di germi con carica $\geq 10^5$ UFC/mL ddi ognuna. In assenza di reazione infiammatoria deve sempre sospettarsi una probabile contaminazione.

10- Linearità e limite di rilevamento

Non applicato

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore: Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.

11- Limitazioni del metodo

Paziente che usa antibiotici, raccolta impropria, uso di mezzi di coltura disidratati, temperatura di incubazione differente da 35-37°C.

12- Referimenti bibliografici

1. Clarridge JE, Pezzlo MT, Vosti KL: Laboratory diagnosis of urinary tract infections. Cumitech 2A. Washington, DC, ASM Press, 1987.
2. Fairley KF, Carson NE, Gutch RC, et al: Site of infection in acute urinary tract infection in general practice. *Lancet* 2:615-618, 1971.
3. Johnson JR, Stamm WE: Diagnosis and treatment of acute urinary tract infections. *Infect Dis Clin North Am* 1:773-791, 1987. [Erratum, *Infect Dis Clin North Am* 4:xii, 1990.]
4. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, et al: The *Enterobacteriaceae*. In Koneman EW, et al (eds): A Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, ed 4. Philadelphia, JB Lippincott Co., 1992, pp 105-184.
5. Pappas PG: Laboratory in the diagnosis and management of urinary tract infections. *Med Clin North Am* 75:313-325, 1991.
6. Patton JP, Nash DB, Abrutyn E: Urinary tract infection: Economic considerations. *Med Clin North Am* 75:495-513, 1991.
7. Platt R, Polk BF, Murdock B, et al: Risk factors for nosocomial urinary tract infection. *Am J Epidemiol* 124:977-985, 1986.
8. Roberts AP, Phillips R: Bacteria causing symptomatic urinary tract infection or bacteriuria. *J Clin Pathol* 32:492-496, 1979.
9. Sobel JD, Kaye D: Urinary tract infections. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Principles and Practice of Infectious Diseases, ed 4. New York, Churchill Livingstone, 1995, pp 662-690.
10. Stamm WE, Hooton TH: Management of urinary tract infections in adults. *N Engl J Med* 329:1328-1334, 1993.

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore: Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.