

CP.10**L' ESECUZIONE DEGLI ESAMI:
METODI CONVENZIONALI
ED AUTOMATIZZATI****Massai M.**

Quando un campione di feci giunge in laboratorio è importante accertarsi in primo luogo della sua idoneità sia per ciò che riguarda l'anagrafica sia per il tipo di contenitore utilizzato per la conservazione e il trasporto del materiale in esame, ed infine della sua integrità. Bisogna verificare che il campione sia in quantità sufficiente per consentire l'esecuzione dell'esame ma non troppo abbondante per non creare rischio di fuoriuscita al momento della apertura, non deve inoltre essere contaminato da urine o da altri liquidi che, modificando il pH, riducono la possibilità di sopravvivenza di alcuni patogeni; infine è importante verificare la congruità e appropriatezza della richiesta ricorrendo, quando è necessario, al colloquio con il clinico per i necessari chiarimenti.

L'esame microbiologico delle feci non differisce da quello di altri materiali biologici, richiede quindi l'applicazione di alcune fondamentali norme di sicurezza (ad es. l'utilizzo di cappe a flusso laminare, l'uso idoneo di guanti a perdere) come ampiamente previsto dalla normativa vigente e di alcuni principi di ergonomia come una giusta organizzazione del banco di lavoro, una corretta illuminazione ed il mantenimento di una idonea postura, piccoli accorgimenti che consentono una migliore produttività con un più basso dispendio energetico.

Per la diagnosi delle enteriti acute batteriche l'esame di routine è rappresentato dalla coprocultura cioè la semina delle feci - fresche o conservate in idoneo terreno di trasporto - su terreni selettivi che consentono una prima identificazione presuntiva di colonie sospette. Saranno descritti l'iter diagnostico per i principali patogeni, la tecnica di semina, le precauzioni per il contenimento del rischio biologico e chimico, i principali terreni tradizionali e brodi di arricchimento in uso nel nostro laboratorio ed i principali disponibili in commercio nonché alcuni terreni cromogenici da utilizzare a fianco o in sostituzione dei terreni tradizionali. Da ricordare anche la possibile utilità di un esame microscopico che talora può dare informazioni tempestive circa la presenza di alcuni patogeni con morfologia tipica o di una forte presenza di leucociti come segno di una forma di tipo invasiva. Il nostro protocollo, in accordo con la epidemiologia del territorio e con il nomenclatore regionale, prevede la ricerca routinaria per coprocultura di *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* e di *Campylobacter spp.*, ma su richiesta del clinico l'indagine si può estendere ad altri patogeni meno frequenti come *E. coli* (EPEC, VTEC; ecc.), *Y. enterocolitica*,

Aeromonas e *Plesiomonas spp.*, *Vibrionaceae* ecc. In caso di forme diarroiche in pazienti ospedalizzati viene accertata di routine la responsabilità del *Clostridium difficile* ed altri patogeni sempre su specifica richiesta del medico curante. In caso di eventi epidemici in corso di tossinfezione alimentare, dietro segnalazione del servizio di igiene pubblica, allarghiamo la ricerca anche agli altri microrganismi possibilmente coinvolti come *C. Perfringens*, *B. cereus* ecc.

Attualmente è disponibile in commercio un sistema (Robobact) per la semina in automatico dei materiali biologici applicabile ad una routine tipica di un laboratorio di microbiologia clinica. Questo sistema consente di effettuare la semina del materiale senza aprire i contenitori di raccolta previa coltura di arricchimento in brodo; lo strumento è costituito da una parte strumentale - moduli di semina ed incubazione con atmosfera normale o modificata (microaerofilia) - e da vari set sia di raccolta che di semina diversi a seconda dell'indagine microbiologica da eseguire. Il sistema consente una ampia scelta di terreni di trasporto, arricchimento e selettivi ed una altrettanto ampia gamma di terreni agarizzati. Fa parte dello strumento anche un modulo di gestione che può essere collegato al sistema informatizzato del laboratorio ciò consente di effettuare direttamente sia il check-in che l'immissione dei risultati. Verrà descritta la nostra esperienza con questo sistema con prove effettuate in doppio con il metodo tradizionale di semina e verranno riportati anche i risultati preliminari di prove da noi effettuate con Robobact nel corso di uno studio multicentrico dove il sistema risultò valido come performance microbiologica (capacità e qualità della semina), sicurezza e facilità d'uso ma dove si evidenziò la necessità di ottimizzare la fase di arricchimento in brodo per evitare false negatività nei campioni con una bassa concentrazione dei microrganismi patogeni.

Verranno illustrate e commentate da un punto di vista pratico e con particolare riguardo anche alle precauzioni di contenimento biologico e chimico, anche le tecniche più utilizzate nei laboratori di grossa routine per la diagnostica delle infezioni da virus enteritogeni e per le forme di parassitosi intestinali. Principalmente verranno presi in considerazione metodi che si basano su test al lattice, test immunoenzimatici ed immunocromatografici per la diagnostica virale e quelli microscopici con arricchimento, immunoenzimatici ed immunocromatografici, per la diagnostica parassitologica.