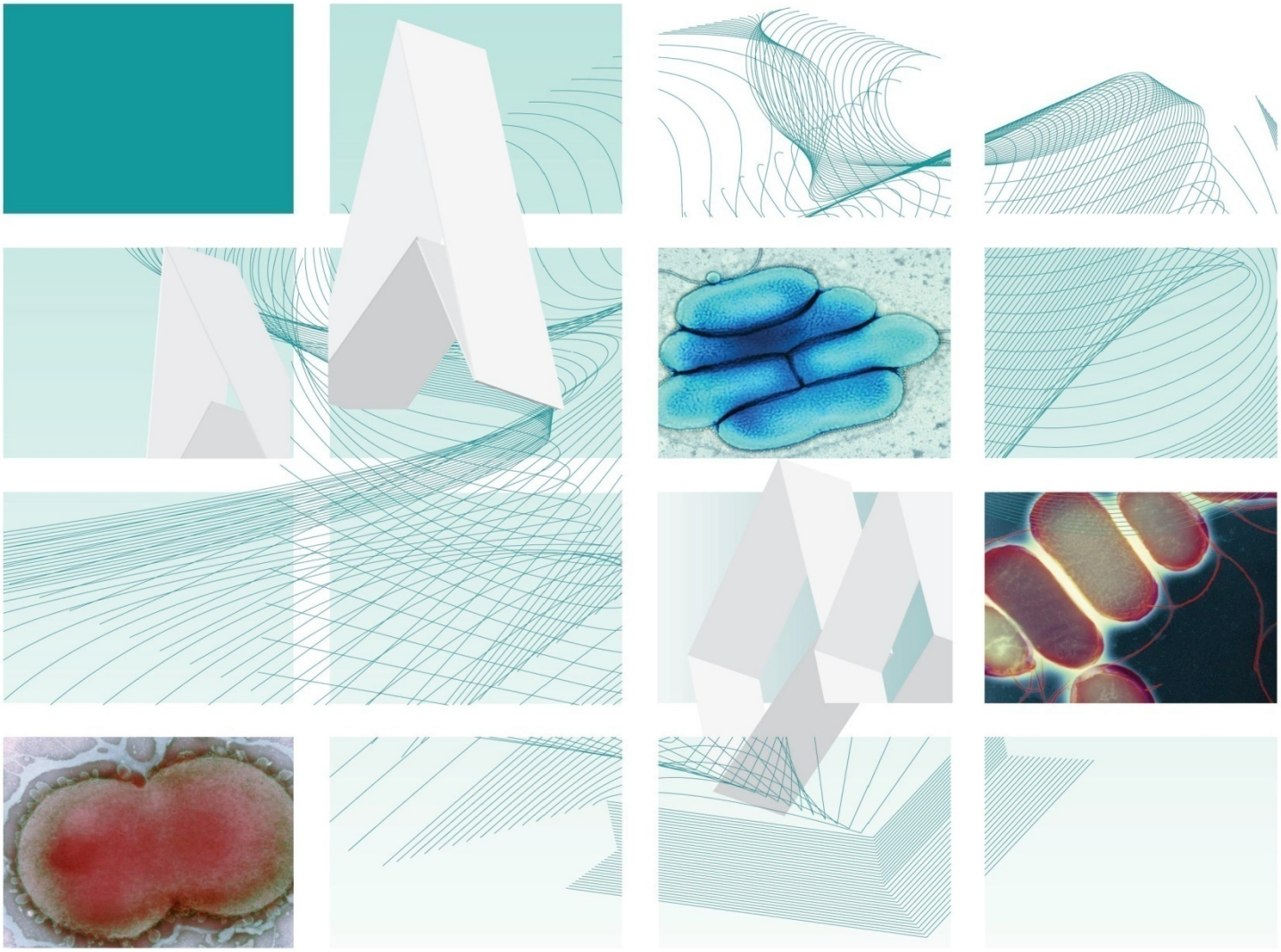
Public Health England

NHS

Ricerche Microbiologiche Standard del Regno Unito

IN REVISIONE

Ricerca sul Tratto Genitale e Campioni Associati



NICE accredited
www.nice.org.uk/accreditation

Emesso da Standards Unit, Microbiology Services, PHE

Batteriologia I B 28 I Emissione no: 4.4 I Data emissione:24.04.14 I Pagina 1 di 38

© Crown copyright 2014

Ringraziamenti

Le Procedure Standard del Regno Unito per le Ricerche Microbiologiche (SMI - Standards for Microbiology Investigations) sono sviluppate sotto l'egida della Public Health England (PHE) in collaborazione con il Servizio Sanitario Nazionale (NHS - National Health Service), la Sanità Pubblica del Galles e con le organizzazioni professionali i cui loghi sono di seguito elencati sul sito web http://www.hpa.org.uk/SMI/Partnerships. Le SMI sono sviluppate, revisionate e controllate da diversi gruppi di lavoro che sono supervisionati da un comitato direttivo (consultare http://www.hpa.org.uk/SMI/WorkingGroups).

Si ringraziano per contributi forniti i numerosi operatori dei laboratori clinici, gli specialisti e i laboratori di riferimento che hanno fornito informazioni e commenti durante lo sviluppo di questo documento. Si ringraziano i Revisori Medici per le modifiche apportate ai contenuti clinici.

IN REVISIONE

Per ulteriori informazioni contattare:

Standards Unit
Microbiology Services Division
Health Protection Agency
61 Colindale Avenue
London NW9 5EQ

E-mail: standards@phe.gov.uk

Website: http://www.hpa.org.uk/SMI

Le Procedure Standard del Regno Unito per le Ricerche Microbiologiche sono sviluppate con la collaborazione di:

Contenuti

RINGRAZIAMENTI 2

TABELLA MODIFICHE 4

SMI RU: SCOPO E OBIETTIVO 5

SCOPO DEL DOCUMENTO 7

SCOPO 7

INTRODUZIONE 7

INFORMAZIONE TECNICA/LIMITAZIONI 18

1 CONSIDERAZIONI SULLA SICUREZZA 20

2 PRELIEVO DEL CAMPIONE 20

3 TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE 22

4 PROCESSO/PROCEDURA SUL CAMPIONE 22

5 PROCEDURA DI REFERTAZIONE 30

6 NOTIFICA ALLA PHE O EQUIVALENTE 32

BIBLIOGRAFIA 33

IN REVISIONE

NICE accredited
www.nice.org.uk/accreditation

NICE ha accreditato la procedura usata dalla Public Health England per elaborare gli Standards for Microbiology Investigations. L'accreditamento è valido per 5 anni dal Luglio 2011. Informazioni più dettagliate sull'accreditamento possono essere consultate: www.nice.org.uk/accreditation.

Per ulteriori informazioni sul nostro accreditamento consultare: : www.nice.org.uk/accreditation

Tabella delle Modifiche

Ciascun metodo SMI possiede una registrazione separata delle correzioni. Quelle attuali sono specificate in questa pagina. Le precedenti modifiche sono disponibili presso la standards@hpa.org.uk.

I documenti nuovi o revisionati devono essere controllati in ciascun laboratorio in accordo con il sistema locale di gestione della qualità.

IN REVISIONE

Modifica No/Data.	8/24.04.14
Emissione eliminata. no	4.3
Emissione inserita no.	
Sezione(i) interessate/Pagina no.	**Modifica.**
Documento intero .	Il documento è stato inserito in un nuovo formato che evidenzia il passaggio della Health Protection Agency alla Public Health England. Prima pagina ridisegnata. Rinominata la pagina di “Stato come Scopo” e Obiettivo ed aggiornata in modo appropriato. I loghi delle organizzazioni professionali sono stati revisionati ed aggiornati. Revisionati e aggiornati Standard di sicurezza e referenti delle denunce Il contenuto scientifico rimane invariato.

Modifica No/Data.	7/18.12.12
Emissione eliminata. no	4.2
Emissione inserita no.	4.1
Sezione(i) interessate/Pagina no.	**Modifica.**
Intero documento	Modifiche minori di formattzione
2.5.3.	Numero sezione tabella modificato

SMI del RU[#]: Scopo e Obiettivo

Utilizzatori delle SMI

Nel Regno Unito le SMI sono principalmente destinate come risorsa generale ai professionisti che operano nel campo della medicina di laboratorio e delle malattie infettive. Le SMI forniscono ai clinici informazioni in merito allo standard dei servizi di laboratorio riferibili alle ricerche per la diagnosi delle infezioni nei loro pazienti e le documentazioni forniscono indicazioni che facilitano la prenotazione elettronica di test appropriati. I documenti forniscono gli standard per le ricerche microbiologiche anche ai responsabili della sanità pubblica che devono considerarle come parte delle procedure da adottare per la salute sia clinica che pubblica per la propria popolazione.

IN REVISIONE

Informazioni di Base per le SMI

Le SMI comprendono algoritmi e procedure raccomandate che riguardano tutte le componenti del processo diagnostico dalla fase pre-analitica (sindrome clinica) alle diverse fasi analitiche (prove di laboratorio) e post-analitiche (interpretazione e comunicazione dei risultati).Gli algoritmi delle sindromi sono corredati da informazioni più dettagliate contenenti consigli sulle indagini per specifiche malattie e infezioni. Note orientative riguardano il contesto clinico, la diagnosi differenziale e indagini appropriate per particolari condizioni cliniche. Le note orientative descrivono metodologie di laboratorio essenziali che sono alla base della qualità, ad esempio la validazione della prova.

La standardizzazione del processo diagnostico conseguente all'adozione delle SMI consente di garantire in tutto il Regno Unito strategie d'indagine equivalenti nei diversi laboratori che è una condizione essenziale per interventi di sorveglianza della salute pubblica, e per le attività di ricerca e di sviluppo.

La standardizzazione delle procedure diagnostiche tramite l'applicazione delle SMI aiuta a garantire uniformità nelle stratefie di ricerca nei diversi laboratori nel RU ed è una condizione essenziale per la sorveglianza della salute pubblica , ricerca e sviluppo di attività.

Coinvolgimento delle Organizzazioni Professionali

Lo sviluppo delle SMI è condotto in condizione paritaria da PHE, NHS,Royal College of Patholoogists e organizzazioni professionali. L'elenco delle organizzazioni partecipanti può essere trovato su sito http://www.hpa.org.uk/SMI/Partnershipshttp. L'inclusione del logo di un'organizzazione in una SMI implica il sostegno degli obiettivi e del processo di preparazione del documento. I rappresentanti delle organizzazioni professionali fanno parte del Comitato Direttivo e dei Gruppi di Lavoro che sviluppano le SMI. Le opinioni dei partecipanti non sono necessariamente quelle espresse da tutta l'organizzazione che essi rappresentano. I rappresentanti agiscono da tramite con funzione di collegamento bi-direzionale per informazione e dialogo. Le attività di rappresentanza sono ricercate tramite un processo di consultazione. Le SMI sono sviluppate, revisionate e aggiornate tramite un ampio processo di consultazione.

Assicurazione di Qualità

La NHS Evidence ha accreditato la procedura usata dai SMI Working Groups per produrre le SMI. L'accreditamento è applicabile a tutte le linee guida emesse dall'Ottobre 2009. La procedura per lo sviluppo delle SMI è certificata dalla ISO 9001:2008. Le SMI rappresentano una procedura standard di buona qualità pratica alla quale si devono attenere per la propria attività tutti i laboratori di microbiologia clinica e di sanità pubblica del Regno Unito. Le SMI sono accreditate dal NICE

[#] Microbiologia è usato come termine generico per includere le due specialità di Microbiologia Medica riconosciute dal GMC (General Medical Council), (che comprende Batteriologia, Micologia e Parassitologia) e la Virologia Medica.

rappresentano gli standard minimi di attività, e neppure il più alto livello di complesse indagini di laboratorio. Utilizzando le SMI, i laboratori dovranno tenere conto delle esigenze locali e intraprendere ricerche addizionali qualora opportune. Le SMI aiutano i laboratori a soddisfare i requisiti dell'accreditamento con la promozione di procedure d'elevata qualità che possono essere verificate. Le SMI forniscono inoltre un punto di riferimento per lo sviluppo del metodo. Le prestazioni della SMI dipendono da personale ben addestrato e dalla qualità dei reagenti e delle attrezzature utilizzate. I laboratori dovrebbero assicurare che tutti i reagenti di tipo commerciale e quelli messi a punto in laboratorio siano stati validati e che i risultati siano idonei allo scopo. I laboratori devono partecipare a programmi di valutazione di qualità esterni ed eseguire le relative procedure del controllo di qualità interno.

Coinvolgimento del Paziente e della Comunità

Nello sviluppo delle SMI i rispettivi Gruppi di Lavoro sono impegnati per favorire il coinvolgimento dei pazienti e dell'opinione pubblica. Grazie al coinvolgendo pubblico, di operatori sanitari, ricercatori e organizzazioni di volontariato, la SMI risultante sarà strutturalmente valida e atta a soddisfare le esigenze dell'utente. L'opportunità di partecipazione per contribuire alla consultazione è estesa al pubblico con l'accesso libero al nostro sito web.

IN REVISIONE

Informazione della Gestione dei Dati Sensibili

La PHE è un'organizzazione che condivide 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. Lo sviluppo di metodi SMI è assoggetto agli obiettivi PHE di Uguaglianza http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb_C/1317133470313.

I Gruppi di Lavoro SMI sono impegnati a raggiungere gli obiettivi di parità di consultazione efficace con gli appartenenti al pubblico, i partner, le parti interessate ed i gruppi specialistici coinvolti.

Dichiarazione Legale

Mentre ogni cura è stata intrapresa per la preparazione delle SMI, la PHE e ogni altra organizzazione di sostegno, deve, per quanto possibile in base a qualunque legge vigente, escludere la responsabilità per tutte le perdite, costi, reclami, danni o spese derivanti da o connessi all'uso di una SMI o con qualsiasi informazione ivi contenuta. Se si apportano modifiche a una SMI, si deve porre in evidenza dove e da chi sono state effettuate tali modifiche.

Le conoscenze di base e la tassonomia microbica per la SMI sono le più complete possibili, al momento della pubblicazione. Eventuali omissioni e nuove informazioni saranno considerate nel corso della revisione successiva. Queste procedure standard (SMI) possono essere sostituite solo da revisioni dello standard, azione legislativa, o in seguito ad indicazioni da parte dell'ente accreditato NICE.

Le SMI sono assoggettate a diritti d'autore che dovrebbero essere riconosci

Citazione Suggerita per questo Documento

Public Health England. (2014). Investigation of Genital Tract and Associated Specimens. UK Standards for Microbiology Investigations. B 28 Emssione 4.4 . http://www.hpa.org.uk/SMI/pdf

Scopo del Documento

Tipo di campione

Tampone vaginale alto (TVA), secrezione vaginale, tampone vulvare, tampone labiale, tampone cervicale, tampone endocervicale, tampone del pene, tampone uretrale, liquido seminale, tempodi per screening *N. gonorrhoeae*, aspirati da ghiandola di Bartolini, tuba ovaio, liquido dal cavo di Duglas, dispositivo contraccettivo intra-uterino (DCIU), prodotti del concepimento

Scopo

IN REVISIONE

Questa SMI descrive l'esame dei campioni genitali per la ricerca di Neisseria gonorrhoeae, lieviti, streptococchi β-emolitici ed altri tipi di microrganismi specifici (incluso Trichomonas vaginalis), e l'esame microscopico per la diagnosi di vaginosi batterica (VB).

Questa SMi deve essere usata congiuntamente alle altre

Introduzione

Campioni appropriati sono difficili da prelevare, in modo particolare dalle donne, e spesso si ricevono materiali raccolti in modo non corretto o adeguato. Nella procedura di raccolta dei campioni è importante evitare la contaminazione con la flora fecale.

Questa SMI è basata sui seguenti argomenti:

Infezioni sessualmente trasmesse (IST)

Infezioni vaginali diverse dalle IST

Altre infezioni del tratto genitale femminile

Infezioni (diverse dalle IST) del tratto genitale maschile

Infezioni Sessualmente Trasmesse

Un certo numero di microrganismi sessualmente trasmessi causa infezioni in un elevato numero di sindromi cliniche. Nel caso di diagnosi di una specifica IST , si raccomanda di verificare la possibilità di altri tipi di infezione. Lo screening ha il compito di aiutare il controllo di gonorrea, sifilide, infezione da clamidie e da virus dell'immunodeficienza umana (HIV).

Gonorrea[1,2]

La *Neisseria gonorrhoeae* causa un ampio spettro di sindromi cliniche nell'uomo, nella donna e nei neonati.

Infezione gonococcica locale nell'uomo

Infezione gonococcica locale nell'uomo: Le infezioni gonococciche locali sono presenti più frequentemente come uretrite sintomatica con secrezione uretrale purulenta e disuria. La più frequente complicanza è rappresentata dall'epididimite acuta, ed in rari casi, l'uretrite può essere complicata da cellulite gonococcica, linfangite del pene, od ascessi periuretrali.

Il prelievo di un campione idoneo è iportantr per assicurare una ricerca ottimale. Il migglio campione è rappresentato dal secreto uretrale. Nei maschi asintomatici si può ricorrere a un tampone uretrale

Infezione gonococcica locale nella donna

L'infezione gonococcica localle nella donna interresa principalmente la cervice. La cervicite gonococcica è spesso asintomatica, ma può determinare aumento della secrezione vaginale, prurito vaginale o disuria. L'uretra è frequentemente coinvolta nelle femmine che hanno subito un'isterectomia. La principale complicanza dell'infezione gonococcica nelle femmine è rappresentata da una malattia infiammatoria pelvica (MIP) che può condurre ad infertilità. I campioni preferiti sono rappresentati da tamponi endocervicali ed uretrali.

Gonorrea anorettale:

La gonorrea anorettale può essere una complicanza asintomatica nelle donne con gonorrea cervicale. Donne e maschi omosessuali che praticano rapporti anali con soggetti infetti sono a rischio di sviluppare la gonorrea anale. La maggior parte degli uomini con gonorrea anale è asintomatica sebbene alcuni sviluppino una proctite sintomatica. I maschi omosessuali attivi con proctite sintomatica possono essere infettati da numerosi altri patogeni. Devono essere prelevati campioni rettali per la ricerca di *N. gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* e virus[3].

IN REVISIONE

Infezione mucosa asintomatica

L'infezione mucosa asintomatica si può manifestare in ogni sede mucosa quale uretra, cervice, retto e faringe. Queste infezioni sono rilevate dagli esami di screening dei pazienti che dichiarano anamnesi appropriate, sintomi e manifestazioni che suggeriscono un'esposizione. Di può prelevare un tampone faringeo per la ricerca di *N. gonorrhoeae* se la storia clinica è positiva per rapporti orogenitali

Infezione gonococcica disseminata (IGD)

L'infezione gonococcica disseminata (IGD) rappresenta una complicanza rara della gonorrea. Qesta presenta una o più delle seguenti manifestazioni cliniche[4]:

- artralgia (dolore articolare)
- poliartrite asimmetrica
- eruzioni cutanee (spesso in forma di pustole)
- mialgia (dolore muscolare)
- artrite settica
- tenosinovite (infiammazione della guaina tendinea)

Nella maggior parte dei casi di IGD è presente un'infezione delle mucose che può essere asintomatica. Dovrebbero essere esaminate tutte le mucose a rischio potenziale per *N. gonorrhoeae*. Per la diagnosi possono risultare utili le emocolture e l'esame dei liquidi quali quelli articolari. La dermatite conseguente a IGD è caratterizzata da un numero ridotto di lesioni cutanee localizzate principalmente alle estremità. La IGD può essere complicata dal coinvolgimento delle valvole cardiache o delle meningi con espressione clinica di endocardite o di meningite. La manifestazione più frequente della IGD è rappresentata dalla sindrome artritica-dermatitica[5]. Sono molto rare le manifestazioni di IGD con complicanze meningee[6].

La trasmissione sessuale di *N. meningitidis* può causare infezioni delle basse vie genitali nell'uomo e nella donna, ma di solito si realizza una colonizzazione asintomatica.

I terreni per l'isolamento di *N. gonorrhoeae* possono presentare una crescita rigogliosa di lieviti. Inoltre, è' stato dimostrato che *C. albicans* può produrre un fattore solubile che inibisce la crescita di *N. gonorrhoeae*[7]. Pertanto questa SMI raccomanda l'uso di terreni selettivi contenenti agenti antifungini

Tricomoniasi[8]

La triconomiasi è causata da un protozoo flagellato, *T. vaginalis*, solitamente acquisito per contatto sessuale. La sintomatologia include un aumento della secrezione vaginale, prurito e disuria. Un aspetto eritematoso, friabile della cervice, punteggiata da aree con essudato (cervice a fragola) è patognomonico per *T. vaginalis*. Si può realizzare una condizione di portatore a lungo termine, con sintomatologia silente per anni dopo un iniziale rapporto sessuale. L'infezione da *T.vaginalis* in gravidanza è stata associata a basso peso alla nascita e parto pretermine[9]. La prevalenza del *T. vaginalis* permane ad un livello costantemente basso nei casi osservati nei Consultori per malattie Genito Urinarie[10].

Per la ricerca del *T. vaginalis* sono state comparate varie tecniche, inclusa la coltura seguita dall'esame microscopico, la microscopia diretta ed i metodi immunodiagnostici[11-15]. La microscopia con preparazione ha rappresentato il metodo diagnostico più diffuso negli accertamenti di screening[16,17]. Quest'ultimo, utilizzando una preparazione a goccia è molto specifico e di facile esecuzione, ma non rileva circa il 30 – 50% delle infezioni da TV (anche quando eseguito in prossimità della paziente) se confrontato con l'esame colturale che è considerato lo " standard di riferimento" [12,13]. Gli strisci colorati con arancio di acridina sono stati riscontrati leggermente più sensibili rispetto ai preparati a goccia non colorati[14].

IN REVISIONE

I metodi colturali tradizionali sono lunghi e richiedono impegno, ma è stato descritto un metodo in piastra microtitre con lettura al microscopio rovesciato, che è risultato economico e senza alcuna perdita di sensibilità[13].

Questa SMI raccomanda l'esame colturale selettivo per pazienti con sospetto clinico di infezione da *T. vaginalis*, nelle altre (IST) diagnosticate o sospettate, in gravidanza e per altri gruppi di soggetti, in accordo con i protocolli locali. Questi possono variare in funzione della prevalenza locale.

Ulcere genitali

Le ulcere genitali:sono più frequentemente causate da[18]:

- Herpes simplex virus (HSV)
- *C. trachomatis* (linfogranuloma venereo)
- *Treponema pallidum* (sifilide)
- *Calymmobacterium granulomatis* (granuloma inguinale)
- *Haemophilus ducreyi* (cancroide)

Le ricerche per HSV, *T. pallidum*, e *C. trachomatis* non sono comprese in questa SMI.

Sui genitali lo *Staphylococcus aureus* e gli streptococchi di gruppo A di Lancefield possono causare pustole sensibili simili ad ulcere, ed anche linfoadenopatia inguinale e dolore[18].

Cancroide

Nei paesi tropicali il cancroide è un'importante causa di ulcerazione genitale, la sua incidenza e aumentata in modo drammatico nel Nord America durante gli ultimi anni "80". E' causato dall'*H. ducreyi* che penetra nell'epitelio attraverso una sua rottura[19]. Le ulcere del cancroide sono a sede vascolare, dolenti e la base granulomatosa sanguina facilmente.

Le lesioni si manifestano sui genitali e nell'area circostante[18,20]. Oltre alle ulcere genitali, si può manifestare una dolorosa linfoadenopatia inguinale (bubboni) in circa il 50% dei casi[19].

Le lesioni si manifestano sui genitali e nell'area circostante[18,20]. Oltre alle ulcere genitali, si può manifestare una dolorosa linfoadenopatia inguinale (bubboni) in circa il 50% dei casi[19]. Sembrano rari i portatori asintomatici. L'infezione si può manifestare raramente come uretrite isolata senza ulcere genitali[21].

L'incidenza del cancroide sta crescendo in numerose aree, sebbene la diagnosi sia spesso affidata ai soli rilievi clinici e pertanto può essere inaccurata[19]. Il concoide, come altre malattie sessualmente trasmesse, si ritiene possa essere un importante co-fattore nella trasmissione del virus HIV ai tropici[22].

L'esame con la colorazione Gram del materiale prelevato dalle ulcere genitali presenta scarsa sensibilità e specificità[19,20]. I risultati ottenuti con l'immunofluorescenza e con le tecniche molecolari sono incoraggianti ma richiedono ulteriori valutazioni[23].

L'isolamento dell'*H. ducreyi* è alquanto difficile e richiede agar selettivi[19,22-24], sebbene siano stati segnalati isolamenti superiori all'80%.

IN REVISIONE

C. granulomatis[25]

L'infezione da *C. granulomatis* è rara e riscontrata solo in alcune parti dei tropici. Il microrganismo raramente si sviluppa in vitro e l'esame colturale non è praticabile di routine. E' dimostrabile con colorazione Giemsa o Wright su materiale da raschiamento del margine dell'ulcera. Si tratta di un battere Gram negativo capsulato. I microrganismi o "corpi di Donovan" appaiono come agglomerati di color blu o nero con morfologia a "spilla da balia" all'interno dei polimorfonucleati. La lesione primaria inizia con una formazione nodulare indurita che si erode formando un granuloma ricoperto da un'ulcera. Le lesioni si manifestano nelle pieghe dello scroto, cosce, labbra e vagina.

Verruche genitali

Le verruche genitali sono espressione di un'infezione venerea causata dal papilloma virus umano (HPV)[26]. La condizione di portatore sub-clinico di HPV è frequente e supera la prevalenza di quelli con verruche evidenti[27]. Queste si possono manifestare con verruche piane che possono sviluppare un carcinoma *in situ*, o possono estrinsecarsi sopra la cute in modo papillomatoso ed essere dotate di un abbondante rete capillare. Nelle donne le verruche sono localizzate più frequentemente nella parte posteriore dell'accesso vaginale e sulle labbra e meno frequentemente nell'area perineale. Nei soggetti non circoncisi la zona prepuziale è quella più frequentemente coinvolta dall'infezione[27].

Pure i bambini sono a rischio di acquisizione di infezioni sessualmente trasmesse[28-34]. Poiché la presenza di un microrganismo sessualmente trasmesso riscontrato dopo il periodo neonatale è particolarmente suggestiva di un abuso sessuale, questa evenienza deve essere sempre accertata, sono note comunque eccezioni. L'infezione rettale o genitale da *C. trachomatis* nei bambini in tenera età potrebbe essere il risultato di un'infezione perinatale acquisita che può persistere anche per 3 anni. In modo analogo, le verruche anogenitali possono essere presenti nei bambini in fase prepuberale come conseguenza di una trasmissione perinatale, o di autoinoculo da comuni verruche delle mani. La vaginosi batterica è stata riscontrata in bambine che hanno o non hanno subito abusi.

I campioni per ricerche forensi o di medicina legale sono un argomento che esula dalla presente SMI e devono essere analizzati secondo i protocolli locali. Quando si devono indagare campioni da possibili casi di violenze o abusi sessuali è opportuno utilizzare la procedura che segue una "catena dell'evidenza". In questi casi devono essere raccolti appropriati campioni per le ricerche di *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, e per la presenza di *T. vaginalis* e clue cells[35].

Infezioni Vaginali (diverse dalle IST)

Flora vaginale normale

La f Flora vaginale normale è costituita da un ampio spettro di microrganismi, che comprende specie

Lactobacillus, streptococchi, enterococchi e stafilococchi coagulasi-negativi[36-39]i. Come parte della flora normale possono essere presenti anaerobi, quali le specie *Bacteroides*, cocchi anaerobi, *Gardnerella vaginalis*, lieviti, coliformi, *Ureaplasma urealyticum* e specie di *Mycoplasma*, ma questi possono anche essere coinvolti nelle infezioni vaginali.

Candidosi vaginale

La candidosi vaginale si manifesta quando le modificazioni dell'ambiente vaginale permettono la proliferazione dlieviti (che sono spesso presenti come commensali). Aumentati livelli di estrogeni favoriscono la loro crescita. Una crescita eccessiva di lieviti è spesso osservata nelle seguenti situazioni cliniche:

IN REVISIONE

- Dopo terapia antibiotica
- Diabete mellito
- Immunosoppressione
- Obesità
- Gravidanza
- Uso di contraccettivi orali

Sebbene la *Candida albicans* sia isolata nell'80-90% dei casi di candidosi vaginale, si riscontrano anche altri lieviti che assommano al

10-15% dei casi ed includono[40]:

- *Candida krusei*
- *Candida kefyr*
- *Candida tropicalis*
- *Candida glabrata*

I casi di solito si presentano con prurito, disuria e secrezione biancastra, sebbene talvolta sia presente eritema della mucosa e dolenzia. Infezioni con specie diverse dalla albicans possono dar luogo a trattamenti inefficaci e causare successive infezioni persistenti.

Questa SMi raccomanda la coltura di routine dei lieviti in tutti i tamponi vaginali, endocervicali ed uretrali.

Vaginite[41] :

La vaginite può essere causata dalle specie di *Candida* e da *T. vaginalis*. Nelle bambine sono comuni le infezioni causate da streptococchi β-emolitici e *S. aureus*[42]. Gli streptococchi di gruppo A di Lancefield possono causare vaginiti e secrezioni vaginali purulente nelle femmine adulte[43].

La vaginite atrofica[44] è una condizione rara e di solito è associata all'età senile. La maggior parte delle donne con atrofia di grado lieve o moderato sono asintomatiche. La riduzione degli estrogeni endogeni provoca l'assottigliamento dell'epitelio, contribuendo alla riduzione della produzione di acido lattico e all'aumento del pH vaginale. Questa condizione causa una sovracrescita della flora mista e la scomparsa dei lattobacilli. La secrezione vaginale contiene leucociti polimorfonucleati e piccole cellule epiteliali rotondeggianti basali.

Vulvovaginite

La vulvovaginite si manifesta prevalentemente nelle femmine in età prepuberale, ma può comparire a qualsiasi età. Può essere associata a scarsa igiene, irritazione cutanea da saponi, o a

portatrici faringee di streptococchi. I sintomi includono irritazione, dolenzia e secrezione. Gli agenti causali includono[18, 45-47]:

- Streptococco gruppo A di Lancefield
- *Staphylococcus aureus*
- *C. albicans*
- *Haemophilus influenzae*
- *N. gonorrhoeae*

Altri batteri non usali possono causare vulvovaginite[48] incluse specie di *Salmonella* e *Shigella*. Le infestazioni da vermi filamentosi possono predisporre alla vulvovaginite (consultare B 31 Investigation of Specimens Other Than Blood for Parasites).

IN REVISIONE

Vaginosi batterica (VB):

La vaginosi batterica (VB) è caratterizzata da un aumento degli anaerobi e da una diminuzione delle specie *Lactobacillus*[49,50].

La VB è stata in passato considerata una lieve anomalia. Ora essa è considerata una manifestazione associata ad una varietà di infezioni e complicanze del tratto genitale includenti[49, 51].

- Amniosite
- endometrite postpartum e febbre
- parto pretermine e basso peso alla nascita
- rottura prematura delle membrane (RPM)
- sepsi vaginale successiva ad isterectomia
- malattia pelvica infiammatoria (MPI)
- infezioni del tratto urinario
- La VB può essere diagnosticata clinicamente se sono soddisfatte tre delle quattro condizioni di seguito riportate[52]:
- secrezione grigio biancastra, fluida ed omogenea
- secrezione vaginale con pH > 4.5
- positività della prova olfattiva per le amine (rilascio di odore di amine di pesce quando la secrezione è miscelata con idrossido di potassio al 5-10%)
- presenza di clue cells all'esame microscopico

La flora vaginale normale è costituita da specie di *Lactobacillus* isolate o associate ad un ridotto numero di morfotipi di *G. vaginalis*. La variazione della flora vaginale associata alla VB è caratterizzata da una diminuzione del numero dei lattobacilli che sono sostituiti da una flora mista aerobica, anaerobica e specie microaerofile[55]. Sono coinvolti diversi gruppi di microrganismi, molti dei quali presentano difficoltà di crescita. I microrganismi associati alla VB includono[49,51,53]:

- Specie *Prevotella*
- *G. vaginalis*
- Specie *Mobiluncus*

- Specie *Peptostreptococcus*
- *M. hominis*

Sebbene la *G. vaginalis* sia frequentemente riscontrata in numerose pazienti con VB, il microrganismo può essere isolato fino nel 60% delle donne asintomatiche. Nella diagnosi di VB è più importante l'esame diretto delle secrezioni vaginali dell'isolamento della *G. vaginalis* da questi campioni [54] .

E' stato segnalato che l'esame degli strisci colorati con Gram può essere utile nella diagnosi di VB[52] e sono stati descritti i criteri di riferimento per i morfotipi[50,54,55]. Negli strisci da pazienti con VB, le caratteristici clue cells sono associate a flora mista costituita da un grandissimo numero di piccoli bastoncini Gram negativi (prevalentemente di specie di *Prevotella*), bastoncini a Gram variabile e coccobacilli (principalmente *G. vaginalis*) in assenza di grandi bastoncini Gram positivi (specie *Lactobacillus*). Possono essere presenti anche bastoncini ricurvi a Gram variabile (specie *Mobiluncus*)

IN REVISIONE

Le clue cells sono cellule epiteliali cui sono adesi in gran numero bastoncini a Gram variabile, che mascherano i limiti cellulari. Sono ritenute altamente specifiche (quasi il 100%) ma non così sensibili per il rilievo della VB[56] come quando si utilizzano altre informazioni desumibili dal Gram. Utilizzando le indicazioni originali di Amsel le clue cells sono significative solo se sono soddisfatte due di tre altre condizioni (secrezione grigio biancastra, pH > 4.5 e positività della prova per le amine).

La colorazione di Gram (utilizzando le indicazioni di Nugent o di Hay) su strisci vaginali è il metodo più sensibile per la diagnosi di laboratorio della VB[50,52,54,55] perché rileva le clue cells e le modificazioni dei morfotipi batterici a queste associate. Il rilievo delle clue cells non è necessario per porre diagnosi di VB. Una delle indicazioni chiave è rappresentata dall'assenza dei tipici lattobacilli e la loro sostituzione con bastoncini Gram negativi od a Gram variabile[39]. Comunque uno studio ha definito che la colorazione con arancio di acridina o una preparazione umida con goccia sono metodi più sensibili per il rilievo delle clue cells rispetto alla colorazione Gram[57]. Il solo rilievo delle clou cells, seppure altamente specifico, non è così sensibile come il rilievo dei differenti morfotipi rilevati con la colorazione Gram[56].

Per l'accertamento della VB sui campioni prelevati a tutte le donne in età fertile con tamponi vaginali questa SMI raccomanda l'esame dello striscio con colorazione di Gram.

Sindrome da shock tossico (SST)

La sindrome da shock tossico (SST) è una malattia multi-sistemica acuta caratterizzata da febbre, ipotensione, eruzione cutanea eritematosa, diarrea e desquamazione cutanea alla guarigione[58]. La SST è' causata da una tossina prodotta dallo *S. aureus*. L'isolamento da una membrana mucosa di *S. aureus* che produce la tossina è di notevole supporto per una diagnosi positiva. E' nota una malattia simile alla SST causata dallo streptococco di gruppo A di Lancefield.

La SST può essere associata a:

- uso di tampone
- parto o altre ferite chirurgiche
- dispositivi di contraccezione
- colonizzazione cervico-vaginale da *S. aureus*

Streptococco di gruppo B di Lancefield

Lo Streptococco di gruppo B di Lancefield colonizza normalmente la vagina di molte donne. In gravidanza questo microrganismo può infettare il liquido amniotico (consultare

B 26- Investigation of Fluids from Normally Sterile Sites) con eventuale comparsa di sepsi neonatale, polmonite e meningite. In accordo col protocollo locale, le pazienti giudicate a elevato rischio d'infezione da streptococco di gruppo B possono essere controllate per la condizione di portatore. L'obiettivo è raggiunto nel modo migliore con procedure di selezione/arricchimento adottate su tamponi di origine vaginale e anorettale[59-61].

Le condizioni compatibili con un rischio elevato di infezioni includono:

- febbre durante il parto
- parto prematuro
- RPM
- Neonati precedentemente infetti

IN REVISIONE

Listeria monocytogenes

Listeria monocytogenes può causare gravi infezioni in gravidanza, nei neonati e nei pazienti immunodepressi[62,63]. In gravidanza la setticemia causata da *L. monocytogenes* si manifesta come malattia acuta febbrile che può danneggiare il feto[62]. Può evolvere in infezione sistemica (granulomatosi infantisettica), parto precoce e meningite neonatale. I prodotti del concepimento, la placenta ed i tamponi di controllo del neonato dovrebbero essere indagati per questo microrganismo. Non si esegue di routine l'esame colturale del tampone vaginale per la *L. monocytogenes* sebbene sia utile nei casi sospetti[64]. Sono consigliate le emocolture. Le diagnosi sierologiche non trovano indicazione nella diagnosi di listeriosi[63].

Aborto settico

L'aborto settico può determinare una grave condizione di morbilità materna e può risultare fatale[62]. La perforazione uterina e la presenza di residui necrotici con ritenzione della placenta possono favorire'infezioni. La maggior parte di queste è causata da anaerobi.

Le sepsi da clostridi che complicano l'aborto sono potenzialmente letali. In alcune donne le specie *Clostridium* fanno parte della flora vaginale normale.

Altre Infezioni del Tratto Vaginale Femminile

Bartolinite[62]

La Bartolinite è un'infezione delle ghiandole di Bartolini, piccole ghiandole che nelle donne adulte producono muco su ciascun lato dell'orificio vaginale. L'infezione si manifesta in due stadi. Nel primo si sviluppa un'infezione acuta del dotto e dell'involucro della ghiandola. Nel secondo si forma un ascesso associato all'ostruzione della ghiandola.

I microrganismi che causano l'infezione della ghiandola di Bartolini includono[62,65]:

- Anaerobi
- *N. gonorrhoeae*
- Streptococchi
- Enterobacteriaceae
- *C. trachomatis*
- *H. influenzae*
- *S. aureus*

- altre specie di *Neisseria*
- *M. hominis*

Cervicite mucopurulenta:

La cervivite mucopurulenta è un'infiammazione dell'epitelio colonnare della cervice. Gli agenti causali includono[41]:

- *C. trachomatis*
- HSV
- *N. gonorrhoeae*

Altri microrganismi quali *U. urealyticum*, *M. hominis* e quelli correlati alla VB non sono stati consistentemente associati alla cervicite mucopurulenta, suggerendo solo un debole associazione o la loro dipendenza dalla presenza di altri microrganismi[41].

IN REVISIONE

La cervicite è importante perché sorgente di microrganismi patogeni che possono infettare l'endometrio e l'endosalpinge. La loro risalita durante la gravidanza può causare corionamniosite, rottura prematura delle membrane, infezioni puerperali e neonatali.

Strisci con colorazione di Gram sono utilizzati per valutare la presenza di leucociti polimorfonucleati[66]. La cervicite mucopurulenta è caratterizzata dalla presenza di essudato endocervicale contenente PMN. E' prodotta una evidente secrezione giallastra

Endometrite

L'endometrite è un'infiammazione dell'endometrio, rivestimento più interno dell'utero. I microrganismi che possono causare questa infezione includono:

- *C. trachomatis*
- *N. gonorrhoeae*
- Endometrite postpartum *Mycobacterium tuberculosis*
- HSV

Endometrite postpartum

Endometrite postpartum – la maggior parte delle infezioni sono causate dalla flora vulvovaginale che risale nell'utero. Le infezioni sono spesso polimicrobiche causate da[67].:

- Streptococchi β-emolitici
- *S. aureus*
- Enterococchi
- Anaerobi
- *C. trachomatis*
- Enterobacteriaceae
- *G. vaginalis*
- *M. hominis*

I fattori di rischio includono:

- infezione del liquido amniotico

- taglio cesareo
- monitoraggio fetale invasivo
- rottura prolungata delle membrane
- esami vaginali

I campioni idonei includono un tampone del segmento inferiore dell'utero o della cervice.

Salpingite

La salpingite è un'infiammazione delle tube uterine (di Fallopio). L'infezione talvolta è di tipo polimicrobico sostenuta da[68].

- *C. trachomatis*
- *N. gonorrhoeae*
- Flora mista anaerobia, anaerobi facoltativi e batteri aerobi
- *M. hominis*

IN REVISIONE

I campioni raccolti dalle tube di Fallopio sono maggiormente rappresentativi dei tamponi endocervicali. I tamponi endocervicali possono essere utili ma richiedono particolare attenzione nell'interpretazione dei risultati. Le salpingiti acute possono generare sequele quali dolenzia addominale cronica ed aumento del rischio di gravidanze ectopiche.

Malattia infiammatoria pelvica (MIP)

La Malattia infiammatoria pelvica (MIP) è la definizione riferita a endometriti, salpingiti, peritoniti pelviche o ad una combinazione di queste patologie. I sintomi includono dispareunia, sanguinamento intermestruale e crampi all'addome inferiore.

Molte donne che sviluppano una MIP soffrono di sequele a lungo termine quali:

- dolore pelvico cronico
- gravidanza ectopica
- Infertilità
- piosalpingite (raccolta di pus nella tuba di Fallopio)
- ascesso tubo ovario (ATO)

La MIP è spesso una malattia di tipo polimicrobico[69,70]. Le donne con MIP gonococcica possono inoltre essere infettate da *C. trachomatis*.

I campioni preferiti per la diagnosi di MIP sono gli aspirati prelevati dalla tuba di Fallopio o un ATO, o liquido peritoneale (l'esame del liquido peritoneale è descritto nella B 26- Investigation of Fluids from Normally Sterile Sites). I tamponi con il pus o con i liquidi possono essere accettati ma, ove possibile, dovrebbero essere inviati campioni di pus o liquidi. I tamponi sono processati nello stesso modo del pus/liquido.

I microrganismi che causano la MIP comprendono:

- *C. trachomatis*
- *N. gonorrhoeae*
- Anaerobi
- Streptococco gruppo B di Lancefield

- altri streptococchi
- *Escherichia coli*
- *G. vaginalis*
- *Actinomyces israelii*
- *M. hominis*
- *H. influenzae*

Dispositivi intrauterini anticoncezionali (DIUA)

Dispositivi intrauterini anticoncezionali (DIUA) - la presenza di DIUA può essere associata a MIP[71]. Le infezioni possono essere di tipo polimicrobico con isolamento di microrganismi Gram positivi e Gram negativi aerobi ed anaerobi. Le specie *Actinomyces*, in modo particolare *A. israelii*, possono essere isolati significativi. Questa MSI raccomanda che i DIUA siano correttamente sottoposti ad esame colturale solo quando esistono indicazioni cliniche di MIP o di altre condizioni infiammatorie

IN REVISIONE

Infezioni (diverse da quelle ST) del Tratto Genitale Maschile

Prostatite

La prostatite è l'infiammazione della prostata. Infezioni acute e croniche possono essere causate da Enterobacteriaceae, *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* e streptococchi. Il *Cryptococcus neoformans* può essere isolato dalla prostata nei pazienti positivi per HIV e questa rappresenta una sede importante per la persistenza e per la potenziale origine di ricadute La diagnosi è posta esaminando l'urina da mitto intermedio e la quota finale o anche la secrezione prostatica indotta (consultare B 41 - Investigation of Urine).

Epididimite

L'epididimite è l'infiammazione dell'epididimo. Si manifesta in conseguenza a trauma o irritazione chimica associata a reflusso urinario, o più frequentemente come complicanza di un'infezione uretrale od urinaria. La diagnosi è ottenuta di consuetudine con l'esame delle urine o dei tamponi uretrali. I microrganismi che causano l'infezione includono[72]:

- *C. trachomatis*
- Enterobacteriaceae
- *Neisseria gonorrhoeae*
- Pseudomonas
- *M. tuberculosis*

Orchite

L'orchite è un'infiammazione del testicolo. Di solito è causata da un'infezione virale di origine ematica, la più frequente fra queste è la parotite. Le infezioni batteriche sono di solito conseguenti a diffusione per contiguità. La diagnosi può essere posta esaminando le urine. Gli agenti causali includono[72]:

- Enterobacteriaceae
- pseudomonadi
- stafilococchi

- streptococchi
- *M. tuberculosis*

Balanite:

La balanite è l'infezione del glande del pene[73].

Balanopostite

La balano postite è **l'**infezione del prepuzio e del glande del pene.

L'irritazione è dovuta allo smegma, alla secrezione uretrale o ad altre cause che possono giocare un ruolo nell'eziologia di queste due condizioni.

I microrganismi che causano la balanite o la balanopostite includono[73-76]:

- Lieviti
- HSV
- Streptococco di gruppo A di Lancefield
- *S. aureus*
- streptococco di gruppo B di Lancefield
- Anaerobi

IN REVISIONE

Candida

Le specie Candida possono essere isolate in caso di mughetto del pene.

L'uretrite nell'uomo è principalmente causata da[72]:

- *N. gonorrhoeae*
- *C. trachomatis*
- *U. urealyticum*

Le specie *Haemophilus* quali *H. influenzae* e *H. parainfluenzae* sono state isolate dalle secrezioni uretrali[79]

Informazione Tecnica/Limitazioni

Limitazioni delle SMi del RU

Le raccomandazioni formulate nelle SMI del RU sono basate su prove (ad esempio sensibilità e specificità), se disponibili, opinioni degli esperti e pragmatismo, tenendo in considerazione anche le risorse disponibili. I laboratori dovranno tenere in considerazione le esigenze locali e intraprendere ricerche addizionali, se appropriato. Prima del loro uso, i laboratori devono assicurare che tutti i saggi commerciali e in-house sono stati validati e sono idonei allo scopo

Terreni Selettivi nelle Procedure di Screening

I terreni selettivi che non consentono la crescita di tutti i ceppi dei microrganismi circolanti possono essere raccomandati sulla base delle evidenze disponibili. Un equilibrio deve pertanto essere ricercato tra evidenze disponibili e risorse necessarie quando si usa più di una piastra di terreno.

Contenitori per campioni [78,79]

Le SMI usano Il termine " contenitore a chiusura ermetica con marchiatura CE ” per descrivere quelli contrassegnati con la marchiatura CE per la raccolta e il trasporto dei campioni clinici. I requisiti per i contenitori dei campioni sono riportati nella Direttiva UE per i Dispositivi Sanitari Diagnostici in vitro (98/79/CE allegato 1 B 2.1) in cui si stabilisce:" La progettazione deve consentire un'agevole manipolazione e, se necessario, ridurre per quanto possibile la contaminazione dei, e perdite dal dispositivo durante l'uso e, nel caso di recipienti per campioni, il rischio di contaminazione degli stessi. Le procedure di fabbricazione devono essere adatte a questi scopi".

IN REVISIONE

1 Considerazioni sulla Sicurezza[78-94]

1.1 Prelievo del Campione, Trasporto e Conservazione[78-83]

Usare tecnica asettica

Raccogliere in appropriati contenitori marcati CE a tenuta ermetica i campioni e di trasportarli in sacchetti di plastica sigillati.

Raccogliere i campioni in appropriati contenitori impermeabili con marchitura CE.

E' essenziale la conformità alle normative postali e dei trasporti.

IN REVISIONE

1,2 Procedurra sul Campione[78-94]

Livello di Contenimento 2.

Le procedure di laboratorio che possono generare aerosol infettive devono essere condotte in cabina microbiologica di sicurezza[86].

Fare riferimento alle attuali linee guida per la manipolazione sicura di tutti i microrganismi documentati in questa SMI.

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

2 Prelievo del Campione

2.1 Tipo di Campione

Tampone vaginale alto (TVA), secrezione vaginale, tampone vulvare, tampone labiale, tampone cervicale, tampone endocervicale, tampone del pene, tampone uretrale, liquido seminale, tempodi per screening *N. gonorrhoeae*, aspirati da ghiandola di Bartolini, tuba ovaio, liquido dal cavo di Duglas, dispositivo contraccettivo intra-uterino (DCIU), prodotti del concepimento

2.2 Tempo Ottimale e Metodo di Prelievo[95]

Per considerazioni sulla sicurezza fare riferimento alla Sezione 1.1

Prelevare i campioni preferibilmente prima dell'inizio della terapia antimicrobia[95].

In teoria, la semina dei campioni per *N. gonorrhoeae* dovrebbe essere eseguita direttamente nel terreno di coltura al letto del paziente con incubazione senza ritardi. Il tempo di trasporto deve essere il più breve possibile.

Per *H. ducrey* la semina diretta del campione consente un riscontro ottimale.

Se non altrimenti specificato, i tamponi per colture batteriche e fungine devono essere inseriti in terreno di trasporto di Amies contenente carbone[96-100].

Raccogliere i campioni diversi dai tamponi in appropriati contenitori impermeabili con marchiatura CE inseriti in sacchetti di plastica sigillati.

Tamponi tratto genitale

Il tampone cervicale e quello vaginale profondo devono essere eseguiti con l'ausilio di uno speculum. E' importante evitare la contaminazione vulvare del tampone. Per il *Trichomonas*, deve

essere tamponato il fornice posteriore, includendo ogni placca evidente di candida. Se si sospetta un'infezione pelvica, inclusa la gonorrea, si deve tamponare l'ostio cervicale

Per diagnosi specifiche di VB, si raccomanda di inviare, oltre al tampone, uno striscio di secrezione vaginale asciugato all'aria

Per la ricerca di virus o di *C. trachomatis* devono essere raccolti campioni separati negli appositi terreni di trasporto

Tampone vaginale profondo

Dopo l'introduzione dello speculum in vagina, il tampone deve essere ruotato esercitando un'adeguata pressione sulla superficie vaginale interna. Il tampone deve essere poi inserito in terreno di trasporto di Amies con carbone[97].

IN REVISIONE

Tamponi cervicali

Dopo l'introduzione dello speculum in vagina, il tampone deve essere ruotato all'interno dell'endocervice. Il tampone deve poi essere inserito nel terreno di trasporto di Amies con carbone[97].

Tamponi uretrali

Devono essere evitate contaminazioni con microrganismi della vulva o del prepuzio. Sono disponibili sottili tamponi per la raccolta dei campioni

I pazienti non dovrebbero avere urinato da almeno 1 ora. Per i maschi, se non è evidente alcuna secrezione, si devono eseguire tentativi di "spremitura" per ottenere essudato dal pene. Il tampone è introdotto in modo apprpriato nel meato uretrale e ruotato. Il tampone deve essere inserito in terreno di trasporto di Amies con carbone[97].

Dispositivi contraccettivi intra-uterini (DCIU)

Deve essere inviato l'intero dispositivo

Tampone rettale

I tamponi rettali sono raccolti per via proctoscopica

Tampone faringeo

Il tampone faringeo dovrebbe prelevare materiale dall'area tonsillare e/o dalla parete posteriore del faringe evitando il contatto con la lingua e l'uvula

Liquidi e pus

Questi materiali sono raccolti in corso di interventi chirurgici dalle tube di Fallopio, tube ovariche e ascessi delle ghiandole di Bartolini ecc.

2.3 Quantità ottimale e Numero Appropriato di Campioni[95]

Liquidi e pus – preferibilmente un volume minimo di 1 mL.

Numero e frequenza di prelievo del campione dipendono dalla condizione clinica del paziente.

3 Trasporto e Conservazione del Campione[78,79]

3.1 Condizioni Ottimali di Trasporto e Conservazione

Per considerazioni sulla sicurezza fare riferimento alla Sezione1.1.

I campioni devono essere trasportati il più presto possibile[95].

Se la procedura è ritardata e preferibile la refrigerazione alla conservazione a temperatura ambiente[95].

4 Processo/Procedura sul Campione[78,79]

IN REVISIONE

4.1 Selezione della prova

Gli accertamenti per *C. trachomatis* e virus possono anche essere eseguiti su campioni del tratto genitale con tamponi e terreni di trasporto appropriati per i microrganismi da ricercare

Microscopia per VB

La colorazione Gram di uno striscio della secrezione vaginale è il metodo raccomandato per la ricerca di VB

Oppure

Per la ricerca delle clue cells possono essere utilizzati preparati a striscio su vetrino o a goccia colorati con arancio di acridina; questi ultimi non sono sensibili come gli strisci colorati con Gram[50 52] e non sono raccomandati per ottenere i migliori risultati. Se sono evidenziate clue cells o altre anomalie (quali l'assenza di lattobacilli e/o la presenza di numerosi bastoncini di piccole dimensioni), deve essere allestito un nuovo striscio (preferibilmente dalla secrezione vaginale), colorato con Gram, ed esaminato secondo i criteri di valutazione di Nugent o Hay (consultare la sezione 5.1)

Coltura per TV

Eseguire la ricerca su campioni di soggetti clinicamente sospetti per *T. vaginalis* od altre malattie sessualmente trasmesse (consultare 4.3.1), ed in tutte le donne in gravidanza. Gli accertamenti di routine possono essere giustificati in aree ad elevata prevalenza

Esame microscopico per TV

Quando si eseguono screening di routine per la ricerca di TV possono essere utilizzati strisci o preparati a goccia e la colorazione con arancio di acridina. In ogni modo, questi metodi sono meno sensibili dell'esame colturale e non sono raccomandati per ottenere i migliori risultati[14,15]

4.2 Aspetto

N/D

4.3 Preparazione del Campione

Per considerazioni sulla sicurezza fare riferimento alla Sezione 1.2.

4.3.1 Pre trattamento

Prodotti del concepimento

Macinare ed omogeneizzare i campioni con una macina sterile (tubo di Griffiths o alternative infrangibili), forbici sterili e capsule di petri, o un pestello e mortaio. L'aggiunta di piccole quantità di acqua sterile, filtrata, fisiologica, peptone o brodo aiuteranno il processo di omogeneizzazione

Tutte le macine od omogeneizzazioni devono essere eseguite in cabina microbiologica di sicurezza.

Aspirati e liquidi

Se il campione ricevuto è sufficiente, centrifugare a 1500 x g per 10 minuti

Decantare il sopranatante lasciando approssimativamente 0.5 ml

Risospendere il deposito nel restante liquido

IN REVISIONE

4.3.2 Procedura sul campione

Coltura per TV

Da eseguire su campioni di pazienti con sospetto clinico di *T. vaginalis* od altre infezioni sessualmente trasmesse.

Metodo 1

Riporre il tampone in una piccola provetta contenente terreno liquido per l'esame colturale per *Trichomonas*. Se non è stato inviato un tampone separato, la semina nella piccola provetta che contiene farmaci antimicrobici, deve essere eseguita dopo aver inoculato le piastre.

Incubare in aria a 35-37°C per 40-48 ore

Non miscelare la coltura al termine dell'incubazione. Raccogliere dal fondo con una pipetta parte del deposito della provetta

Depositare una goccia di questo materiale su un vetrino da microscopio pulito e ricoprire con copri oggetto

Ricercare la presenza di forme mobili di trichomonadi usando un obiettivo a basso ingrandimento.

Metodo 2[13]

Distribuire con pipetta 100 µl di terreno di coltura per *Trichomonas* in ciascuno dei 96 pozzetti a fondo piatto di una piastra microtiter.

Agitare delicatamente il tampone con la secrezione genitale in un pozzetto opportunamente identificato

Aggiungere altri 200 µl di terreno di coltura a ciascun pozzetto, ricoprire con chiusura ermetica trasparente ed incubare in aria a 35-37°C per 40-48 ore

Esaminare a 16-48 ore, senza rimuovere la chiusura ermetica, per la presenza di trichomonadi utilizzando un microscopio rovesciato a basso ingrandimento

Nota: Non rimuovere il dispositivo di chiusura ermetica dopo la sua applicazione in quanto nei pozzetti potrebbe verificarsi una contaminazione crociata. Per questo motivo, si consiglia di approntare le colture con questo metodo a lotti verso la fine del turno lavorativo. L'esame microscopico dovrebbe essere eseguito attraverso il dispositivo di chiusura

4.4 Microscopia

4.4.1 Standard

Nota: Il campione preferito è rappresentato da uno striscio diretto e sottile da essudato/secrezione della paziente.

Nota: Gli strisci eseguiti con tamponi trasportati in terreno con carbone non rappresentano il miglior materiale per l'esame di campioni da soggetti con sospetta gonorrea.

Microscopia per VB

Tamponi vaginali

Tamponi vaginali da donne in età fertile con diagnosi di secrezione vaginale, eseguire:

O

Colorazione Gram ed applicare i criteri di Nugent o Hay (consultare la sezione 5.1)[101].

Oppure

Eseguire la colorazione con arancio di acridina su striscio o su preparato a goccia per le clue cells e successiva conferma della presenza di queste cellule con striscio colorato con Gram

IN REVISIONE

Microscopia per gonorrea

Strisci cervicali, endocervicali e prelievi uretrali femminili e tutti i campioni uretrali maschili da rapporti noti o sospetti per *N. gonorrhoeae* (se non eseguiti in precedenza in Consultori per Malattie Genito Urinarie)

Preparare uno striscio sottile su vetrino da microscopio pulito per la colorazione Gram

Aspirati, liquidi e pus (o loro tamponi)

Utilizzare una pipetta sterile e porre su un vetrino da microscopio pulito 1 goccia di deposito di materiale centrifugato (consultare la sezione 4.5) o di semplice materiale, se la quantità disponibile non è sufficiente per essere centrifugata

Diffondere il materiale con un'ansa sterile per ottenere uno striscio sottile per la colorazione Gram

Tamponi di screening per *N. gonorrhoeae*

L'esame microscopico può essere eseguito in Consultori per Malattie Genito Urinarie

DCIU

Strofinare la superficie del DCIU con tampone sterile, precedentemente inumidito con acqua o soluzione fisiologica sterile. Dopo l'inoculo della piastra di agar, preparare uno striscio sottile su vetrino da microscopio pulito per la colorazione di Gram. Se si osserva pus o essudato preparare uno striscio col dispositivo stesso.

4.4.2 Prove supplementari

Preparato a goccia per il rilievo del TV

Dopo la semina di tutte le piastre di agar, preparare uno striscio umido ruotando il tampone (o ponendo una goccia di secrezione vaginale) su un vetrino da microscopio pulito

Porre un copri oggetto sull'inoculo umido ed esaminare utilizzando un obiettivo a basso ingrandimento

Striscio con arancio di acridina per ricerca di TV

Dopo la semina di tutte le piastre di agar, preparare uno striscio sottile su un vetrino da microscopio pulito per la colorazione con arancio di acridina

Nota: I metodi per le procedure di colorazione sono raccolti in SMI separate

4.5 Coltura e ricerca

Tamponi

Inoculare ciascuna piastra di agar con il tampone (consultare Q 5 - Inoculation of culture media).

Per isolare colonie separate, diffondere l'inoculo con un'ansa sterile

Aspirati, liquidi

Utilizzare una pipetta sterile, inoculare ciascuna piastra di agar con il deposito del centrifugato (consultare la sezione 2.5.1) o con campione non trattato (consultare Q 5 - Inoculation of culture media).

Per isolare colonie separate, diffondere l'inoculo con un'ansa sterile.

IN REVISIONE

DCIU

Strofinare tutta la superficie del DCIU con tampone sterile. Inoculare ciascuna piastra di agar con il tampone (consultare Q 5 - Inoculation of culture media).

Per isolare colonie separate, diffondere l'inoculo con un'ansa sterile

Prodotti del concepimento

Utilizzare una pipetta sterile, inoculare ciascuna piastra di agar con il campione omogeneizzato (consultare Q 5 - Inoculation of culture media).

Per isolare colonie separate, diffondere l'inoculo con un'ansa sterile

4.5.1 Terreni di coltura, condizioni e microrganismi

Aspetti clinici/ condizioni	**Terreni standard**	**Incubazione**			**Lettura colture**	**Microrganismo(i) Ricercati**
		Temp C°	Atmosfera	Tempo		
Tutti i TVA	Agar sangue*	35 -37	5 – 10% CO_2	16 – 24 ore	16 – 24 ore	*S. aureus* Streptococchi Gruppo A, C, G di Lancefield Altri microrganismi significativi (consultare 4.6.1) quali streptococchi di gruppo B di Lancefield in gravidanza
	Agar Sabouraud	35 –37	aria	40 –48† ore	≥ 40 ore	Lieviti
Tamponi uretrali Tamponi cervicali	Agar sangue*	35 -37	5 – 10% CO_2	16 – 24 ore	16 – 24 ore	*S. aureus* Streptococchi Gruppo A, C, G di Lancefield Altri microrganismi significativi (consultare 4.5.1)
	Agar Sabouraud	35 –37	aria	40 –48 ore	⊇ 40 ore	Lieviti

	Agar selettivo GC con antifungini	35 –37	5 – 10% CO_2	40 –48 ore	≥40 ore	*N. gonorrhoeae*

Nota: Se il tampone vaginale è ricevuto con quello cervicale ed uretrale, includere i terreni standard solo per i tamponi vaginale e uretrale, per il tampone cervicale aggiungere, come appropriato, terreni supplementari

4.5.1 Terreni di coltura, condizioni e microrganismi (continua)

Per queste situazioni aggiungere quanto di seguito riportato:

IN REVISIONE

Aspetti clinici/ condizioni	**Terreni Supplementari**	**Incubazione**			**Lettura colture**	**Microrganismo(i) ricercati**
		Temp C°	Atmosfera	Tempo		
Sospetto clinico di TV IST Gravidanza	Terreno *Trichomonas*	35 -37	aria	40 –48 ore	≥ 40 ore	*T. vaginalis*
Morte intrauterina Aborto settico Aborto spontaneo Balanite Balanopostite Epididimite† Orchite	Agar neomicina per anaerobi esigenti con disco di metronidazolo da 5µg	35 -37	anaerobica	40 –48 ore*	≥40 ore	Anaerobi
	CLED agar	35 -37	aria	≥16 ore	≥6 ore	Enterobacteriaceae Pseudomonadi
? Listeriosi Morte intrauterina Aborto settico Aborto spontaneo	Agar selettivo per *Listeria*	35 -37	aria	40 –48 ore	giornaliera	*Listeria*
Età < 10 anni	Agar cioccolato	35 -37	5 – 10% CO_2	40 –48 ore	giornaliera	*H. influenzae*
? *Actinomyces* (su indicazione clinica o microscopica)	Agar sangue addizionato con metronidazolo ed acido nalidixico	35 -37	anaerobica	10 giorni	≥40 ore, 7 e 10 giorni	*Actinomices*
? cancroide‡	Agar selettivo per *H. ducreyi*	33 -34	5 – 10% CO_2	5 giorni	5 giorni	*H. ducreyi*

Microrganismi per altre considerazioni – *T. vaginalis*, *C. trachomatis* , specie *Mycoplasma* e virus

* 'incubazione può essere protratta a 5 giorni; in questi casi le piastre dovrebbero essere lette a ≥40 ore e lasciate nel termostato/incubatore fino al quinto giorno

† in queste condizioni cliniche possono essere analizzati campioni di urine (consultare B 41 – Investigation of Urine)

‡ spesso è una diagnosi clinica – fare riferimento ai protocolli locali

4.5.1 Terreni di coltura, condizioni e microrganismi (continua)

Tutti i tamponi di screening delle IST

Per tutti i campioni

Aspetti clinici/ condizioni	**Terreni standard**	**Incubazione**			**Lettura colture**	**Microrganismo(i) Ricercati**
		Temp C°	**Atmosfera**	**Tempo**		
? IST	Agar selettivo GC con antifungini	35 –37	5 – 10% CO_2	40 –48 ore	≥40 ore	*N. gonorrhoeae*
Per queste situazione aggiungere quanto di seguito riportato:						
Aspetti clinici/ condizioni	**Terreni supplementari**	**Incubazione**			**Lettura colture**	**Microrganismo(i) Ricercati**
		Temp C°	**Atmosfera**	**Tempo**		
? IST (se richiesto dal protocollo locale)	Agar Sabouraud	35 –37	aria	40 –48 ore	≥40 ore	Lieviti

IN REVISIONE

Altri microrganismi da considerare - *T. vaginalis*, *C. trachomatis* , specie *Mycoplasma, T. pallidum* e virus

4.5.1 Terreni di coltura, condizioni e microrganismi (continua)

Aspirati/pus e tamponi da ascesso tubaovarico (ATO), tuba di Fallopio, Cavo del Douglas (CaD), ghiandola di Bartolini, DCIU e campioni chirurgici. Per tutti i campioni:

Aspetti clinici/ condizioni	**Terreni standard**	**Incubazione**			**Lettura colture**	**Microrganismo(i) Ricercati**
		Temp C°	**Atmosfera**	**Tempo**		
MPI Salpingite ATO	Agar cioccolato	35 -37	5 – 10% CO_2	40 –48 ore	giornaliera	*H. influenzae*
Ascesso ghiandola di Bartolini Piosalpingite Prodotti del concepimento	Agar sangue	35 -37	5 – 10% CO_2	40 –48 ore	giornaliera	*S. aureus* Streptococchi Enterobacteriaceae
DCIU infetti Altre condizioni infiammatorie	Agar per anaerobi esigenti	35 -37	anaerobica	5 giorni	≥40 ore ed a 5 giorni	Anaerobi
	Agar GC selettivo con antifungini	35 -37	5 – 10% CO_2	40 –48 ore	giornaliera	*N. gonorrhoeae*
Per queste situazione aggiungere quanto di seguito riportato						
Aspetti clinici/ condizioni	**Terreni supplementari**	**Incubazione**			**Lettura colture**	**Microrganismo(i) Ricercati**
		Temp C°	**Atmosfera**	**Tempo**		
? *Actinomyces* (su indicazione clinica o microscopica)	Agar sangue arricchito con metronidazolo e acido nalidixico	35 -37	anaerobica	10 giorni	≥40ore, a 7 e 10 giorni	*Actinomices*
Se l'esame microscopico è indicativo di infezione mista	Agar neomicina per anaerobi esigenti con disco di metronidazolo da 5μg	35 -37	anaerobica	5 giorni	≥40 ore a 5 giorni	Anaerobi
	CLED agar	35 -37	aria	16 - 24 ore	≥16ore	Enterobacteriaceae
Sia:		**Incubazione**			**Lettura colture**	**Microrganismo(i) Ricercati**
Flaconi arricchiti e non per mocoltura* O Brodo infuso di cuore cervello		**Temp C°**	**Atmosfera**	**Tempo**		Qualsiasi microrganismo

IN REVISIONE

arricchito Sottocolture come appropriato aper ≥40 ore su terreni standard					
	35-37	aria	40 –48 ore	giornaliera	
	35-37	come prima	come prima	come prima	

Nota: una crescita di qualsiasi microrganismo può essere significativa

* seguire le indicazioni del produttore

Altri microrganismi da considerare – *C. trachomatis*, specie *Mycoplasma* ed *Ureaplasma* , specie *Mycobacterium* (B 40 - Investigation of specimens for Mycobacterium species) e virus

IN REVISIONE

4.6 Identificazione

4.6.1 Livello minimo di identificazione in laboratorio

Actinomyces	Livello "actinomycetes"
Anaerobes	Livello "anaerobi"
β-haemolytic streptococci	Livello ruppo di Lancefield
Altri streptococci and enterococci	Livello genere
Enterobacteriaceae	" Livello coliforms"
Haemophilus	Livello specie
Listeria	Livello specie
Neisseria	Livello specie
Pseudomonads	Livello "pseudomonadi"l
S. aureus	Livello specie
Yeasts	Livello ”lieviti"

.
I microrganismi possono successivamente essere identificati se sussistono indicazioni di tipo clinico od epidemiologico.

4.7 Prova di Sensibilità agli Antimicrobici

Fare riferimento alle linee guida.della British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC) and/or EUCAST

4.8 Invio per Ricerche su Focolaio Epidemico

N/D

4.9 Invio ai Laboratori di Riferimento

Per informazioni sulle prove disponibili, tempi di risposta, procedure per il trasporto e altre richieste del laboratorio di riferimento, click here for user manuals and request forms.

Microrganismi con resistenze insolite o inattese, o qualora sussista un problema clinico o di laboratorio, o anomalie che richiedano approfondimenti devono essere inviati agli appropriati laboratori di riferimento.

Contattare l'appropriato laboratorio nazionale di riferimento per informazioni sulle prove disponibili, tempi di consegna, procedure di trasporto ed eventuali altri richieste per 'invio del campione:

Inghilterra e Galles
http://www.hpa.org.uk/webw/HPAweb&Page&HPAwebAutoListName/Page/1158313434370?p=1158313434370

Scozia

http://www.hps.scot.nhs.uk/reflab/index.aspx

Irlanda del Nord
http://www.publichealth.hscni.net/directorate-public-health/health-protection

IN REVISIONE

5 Procedura di Refertazione

5.1 Microscopia

Gram su striscio

Refertare se presenti i lieviti, GB, se presentii leucociti e la presenza o assenza di diplococchi Gram negativi intracellulari.

Refertare i microrganismi osservati su strisci di aspirato/pus (seguire le procedure di refertazione locali per la presenza dei microrganismi riscontrati in altri campioni)

Refertare le clue cells se presenti e se l'osservazione microscopica fa sospettare una VB secondo i criteri di Nugent (numero di microrganismi ad elevato campo (eci) di ingrandimento osservati con immersione ad olio a circa 1000 ingrandimenti) o di Hay[54]:

Criteri di Nugent[56]

Numero di morfotipi di *Lactobacillus* osservati	Conteggio	Numero di morfotipi di *Gardnerella* e *Prevotella* osservati	Conteggio	Numero di morfotipi di *Mobiluncus* osservati	Conteggio
> 30/eci	0	> 30/eci	4	> 30/eci	4
5-30/eci	1	5-30/eci	3	5-30/eci	3
2-4/eci	2	2-4/eci	2	2-4/eci	2
1/eci	3	1/eci	1	1/eci	1
nessuno	4	nessuno	0	nessuno	0

Classificare ciascun morfotipo separatamente secondo il numero di microrganismi osservati come illustrato nella tabella precedente e sommare i singoli punteggi fra loro. Interpretare il risultato nel modo seguente:

Punteggio totale 0-3 normale

Punteggio totale 4 intermedio: sospetto per VB Valutare le informazioni cliniche e

richiedere la ripetizione per conferma

Criteri di Hay[72]

Grado I	normale	predominanza di *Lactobacillus*
Grado II	intermedio	presenza di *Lactobacillus* e di altri morfotipi. Valutare le informazioni cliniche e richiedere, se necessario, la ripetizione per conferma
Grado III	anomalo	Morfotipi di *Lactobacillus* scarsi od assenti, ma cospicuo aumento del numero di *G. vaginalis* e di altri morfotipi batterici. Idicativo per VB

Nota: Dovrebbe essere richiesto uno striscio vaginale per ogni tampone che sia sospetto per VB o se l'accertamento è richiesto specificamente per VB

Preparati umidi o strisci con arancio di acridina

Refertare leucociti, lieviti e trichomonadi osservati

Nota 8: Un risultato microscopico negativo non esclude la possibilità di un'infezione da TV

IN REVISIONE

5.1.1 Tempo per referto microscopico

Risultati microscopici urgenti possono essere trasmessi per via telefonica o informatica

Referto scritto, 16 – 72 ore

5.2 Coltura

Refertare i microrganismi isolati clinicamente significativi **o**

Refertare altri tipi di crescita, (come ad esempio, isolata flora residente) **o**

Refertare assenza di crescita di patogeni specifici **o**

Refertare assenza di crescita

Il mancato riscontro di *N. gonorrhoeae* nei tamponi vaginali non dovrebbe essere segnalato in quanto questi non rappresentano un campione idoneo per l'isolamento del microrganismo. Nel referto dovrebbero essere incluse raccomandazioni per ottenere un campione appropriato.

Riportare inoltre tutte le ricerche supplementari eseguite

In accordo con i protocolli locali, per i referti dei portatori di Streptococchi di Gruppo B, potrebbe essere opportuno per il laboratorio segnalare direttamente alla Clinica Ostetrica l'isolamento di questo microrganismo

5.2.1 Tempo di refertazione della coltura

Risultati colturali clinicamente urgenti possono essere trasmessi per via telefonica o informatica

Referto scritto, 16 – 72 ore segnalando, se appropriato, l'invio di un referto successivo

Ricerche supplementari: consultare le specifiche SMI

5.3 Sensibilità agli Antimicrobici

Refertare le sensibilità come clinicamente suggerito. Usare in modo prudente gli antibiotici secondo i protocolli locali e nazionali raccomandati.

6 Notifica al PHE[102,103] o Equivalente[104-107]

Le Norme di Denuncia del 2010 rendono obbligatorio ai laboratori diagnostici di denunciare alla Public Health England (PHE) tutti i casi nei quali s'identificano gli agenti causali elencati nella Scheda 2 della Direttiva, Le denuncie devono pervenire per scritto, su carta o per via elettronica, entro sette giorni. I casi urgenti devono essere notificati il più presto possibile verbalmente: si raccomanda entro le 24 ore. Questi stessi devono essere in seguito denunciati in forma scritta entro sette giorni.

Secondo la Notification Regulations il laboratorio ricevente la notifica è l'ufficio locale della PHE. Se il caso è già stato notificato da un professionista medico abilitato, al laboratorio diagnostico è ancora richiesta la denuncia del caso qualora si riscontrino evidenze d'infezione imputabili ad agenti causali soggetti a tale disposizione.

IN REVISIONE

La denuncia secondo la Direttiva dell'Health Protection (Notification) Regulations 2010 non sostituisce l'informazione volontaria alla PHE. La maggior parte dei laboratori del NHS segnala spontaneamente al PHE gran parte delle diagnosi di laboratorio sostenute da vari agenti eziologici e molte sezioni della PHE hanno definito accordi con i laboratori locali per segnalazioni urgenti di alcuni tipi d'infezione. Queste iniziative devono continuare.

Nota: La linea guida dell'Health Protection Legislation Guidance (2010) include la segnalazione per Human Immunodeficiency Virus HIV & Sexually Transmitted Infections STIs, Healthcare Associated Infections e HCAIs e Creutzfeldt–Jakob disease CJD da includere nel 'Notification Duties of Registered Medical Practitioners', e non al 'Notification Duties of Diagnostic Laboratories'.

Esistono accordi diversi in Scozia[104,105], Galles[106] e Irlanda del Nord[107].

Bibliografia

1. Hook EW, Zenilman JM. Gonorrhoea. In: Gorback SL, Bartlett JG, Blacklow NR, editors. 2nd ed. Philadelphia: 1998. p. 969-74.

2. Sherrard J. Modern diagnosis and management of gonorrhoea. [see comments.]. [Review] [22 refs]. British Journal of Hospital Medicine 1996;55:394-8.

3. Quinn TC, Stamm WE, Goodell SE, Mkrtichian E, Benedetti J, Corey L, et al. The polymicrobial origin of intestinal infections in homosexual men. N Engl J Med 1983;309:576-82.

4. Stephens DS, Del Rio C. Gonococcal Infections. In: Kelley WN, editor. Philadelphia: JB Lippincott; 1989. p. 1519-24.

5. Handsfield HH, Wiesner PJ, Holmes KK. Treatment of the gonococcal arthritis-dermatitis syndrome. Ann Intern Med 1976;84:661-7.

6. Centers for Disease Control. Disseminated gonococcal infections and meningitis. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1984;33:158-60, 165.

7. Hipp SS, Lawton WD, Savage M, Gaafar HA. Selective interaction of Neisseria gonorrhoeae and Candida albicans and its possible role in clinical specimens. J Clin Microbiol 1975;1:476-7.

8. Fouts AC, Kraus SJ. Trichomonas vaginalis: reevaluation of its clinical presentation and laboratory diagnosis. J Infect Dis 1980;141:137-43.

9. Cotch MF, Pastorek JG, Nugent RP, Hillier SL, Gibbs RS, Martin DH, et al. Trichomonas vaginalis associated with low birth weight and preterm delivery. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. Sex Transm Dis 1997;24:353-60.

10. CDSC. Sexually transmitted infections quarterly report: bacterial vaginosis, candidiasis and *Trichomonas vaginalis* in the United Kingdom. CDR Weekly 2002;12:8-11.

11. Levett PN. A comparison of five methods for the detection of Trichomonas vaginalis in clinical specimens. Med Lab Sci 1980;37:85-8.

12. Mason PR, Super H, Fripp PJ. Comparison of four techniques for the routine diagnosis of Trichomonas vaginalis infection. J Clin Pathol 1976;29:154-7.

13. Hill WM. Routine detection of Trichomonas vaginalis in genital specimens using culture in microtitre trays. Br J Biomed Sci 1995;52:93-6.

14. Bickley LS, Krisher KK, Punsalang A, Jr., Trupei MA, Reichman RC, Menegus MA. Comparison of direct fluorescent antibody, acridine orange, wet mount, and culture for detection of Trichomonas vaginalis in women attending a public sexually transmitted diseases clinic. Sex Transm Dis 1989;16:127-31.

15. Krieger JN, Tam MR, Stevens CE, Nielsen IO, Hale J, Kiviat NB, et al. Diagnosis of trichomoniasis: Comparison of conventional wet-mount examination with cytologic studies, cultures, and monoclonal antibody staining of direct specimens. JAMA 1988;259:1223-7.

16. Gelbart SM, Thomason JL, Osypowski PJ, James JA, Hamilton PR. Comparison of Diamond's medium modified and Kupferberg medium for detection of Trichomonas vaginalis. J Clin Microbiol 1989;27:1095-6.

17. Fripp PJ, Mason PR, Super H. A method for the diagnosis of Trichomonas vaginalis using acridine orange. J Parasitol 1975;61:966-7.

IN REVISIONE

18. Lewis B. Identification of Aerobic Bacteria from Genital Specimens. In: Isenberg HD, editor. Clinical Microbiology Procedures Handbook.Vol 1. Washington D.C: American Society for Microbiology; 1992. p. Section-1.

19. Morse SA. Chancroid and Haemophilus ducreyi. Clin Microbiol Rev 1989;2:137-57.

20. Ronald AR, Alfa JM. Chancroid, Lymphogranuloma venereum, and Granuloma Inguinale. In: Gorback SL, Bartlett JG, Blacklow NR, editors. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1998. p. 1007-16.

21. Kunimoto DY, Plummer FA, Namaara W, D'Costa LJ, Ndinya-Achola JO, Ronald AR. Urethral infection with Haemophilus ducreyi in men. Sex Transm Dis 1988;15:37-9.

22. Trees DL, Morse SA. Chancroid and Haemophilus ducreyi: an update. Clin Microbiol Rev 1995;8:357-75.

23. Sturm AW, Zanen HC. Characteristics of Haemophilus ducreyi in culture. J Clin Microbiol 1984;19:672-4.

24. Oberhofer TR, Back AE. Isolation and cultivation of Haemophilus ducreyi. J Clin Microbiol 1982;15:625-9.

25. Richens J. The diagnosis and treatment of donovanosis (granuloma inguinale). Genitourin Med 1991;67:441-52.

26. Eron L. Human papillomaviruses and anogenital disease. In: Gorback SL, Bartlett JG, Blacklow NR, editors. Infectious Diseases. 2nd ed. Pennsylvania: WB Saunders Company; 1998. p. 1016-21.

27. Rein MF. Genital skin and mucous membrane lesions. 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. 1201-7.

28. Hammerschlag MR, Cummings M, Doraiswamy B, Cox P, McCormack WM. Nonspecific vaginitis following sexual abuse in children. Pediatrics 1985;75:1028-31.

29. Jones JG, Yamauchi T, Lambert B. Trichomonas vaginalis infestation in sexually abused girls. Am J Dis Child 1985;139:846-7.

30. Hammerschlag MR. Sexually transmitted diseases in sexually abused children: medical and legal implications. Sex Transm Infect 1998;74:167-74.

31. Neinstein LS, Goldenring J, Carpenter S. Nonsexual transmission of sexually transmitted diseases: an infrequent occurrence. Pediatrics 1984;74:67-76.

32. Handley J, Dinsmore W, Maw R, Corbett R, Burrows D, Bharucha H, et al. Anogenital warts in prepubertal children; sexual abuse or not? Int J STD AIDS 1993;4:271-9.

33. Ross JD, Scott GR, Busuttil A. Condylomata acuminata in pre-pubertal children. Med Sci Law 1993;33:78-82.

34. Bump RC. Chlamydia trachomatis as a cause of prepubertal vaginitis. Obstet Gynecol 1985;65:384-8.

35. Glaser JB, Hammerschlag MR, McCormack WM. Sexually transmitted diseases in victims of sexual assault. N Engl J Med 1986;315:625-7.

IN REVISIONE

36. Bartlett JG, Onderdonk AB, Drude E, Goldstein C, Anderka M, Alpert S, et al. Quantitative bacteriology of the vaginal flora. J Infect Dis 1977;136:271-7.

37. Redondo-Lopez V, Cook RL, Sobel JD. Emerging role of lactobacilli in the control and maintenance of the vaginal bacterial microflora. Rev Infect Dis 1990;12:856-72.

38. Rein MF HK. Non-specific vaginitis, vulvovaginal candidiasis, and trichomoniasis clinical features, diagnosis and management. Curr Clin Top Infect Dis 1983;4:281-315.

39. Easmon CS, Ison CA. Gardnerella vaginalis. Lancet 1983;2:343-4.

40. Sobel JD. Candidal vulvovaginitis. Clin Obstet Gynecol 1993;36:153-65.

41. Eschenbach DA. Vaginitis, cervicitis and endometritis. In: Gorback SL, Bartlett JG, Blacklow NR, editors. 2nd ed. Pennsylvania: WB Saunders Company; 1998. p. 1037-45.

42. Donald FE, Slack RC, Colman G. Streptococcus pyogenes vulvovaginitis in children in Nottingham. Epidemiol Infect 1991;106:459-65.

43. Dykhuizen RS, Harvey G, Gould IM. The high vaginal swab in general practice: clinical correlates of possible pathogens. Fam Pract 1995;12:155-8.

44. Sobel JD. Vaginitis. N Engl J Med 1997;337:1896-903.

45. Pierce AM, Hart CA. Vulvovaginitis: causes and management. Arch Dis Child 1992;67:509-12.

46. Hall GD, Washington JA. Haemophilus influenzae in genitourinary tract infections. Diagn Microbiol Infect Dis 1983;1:65-70.

47. Cox RA. Haemophilus influenzae: an underrated cause of vulvovaginitis in young girls. J Clin Pathol 1997;50:765-8.

48. Murphy TV, Nelson JD. Shigella vaginitis: report of 38 patients and review of the literature. Pediatrics 1979;63:511-6.

49. Sobel JD. Bacterial vaginosis--an ecologic mystery. Ann Intern Med 1989;111:551-3.

50. Mazzulli T, Simor AE, Low DE. Reproducibility of interpretation of Gram-stained vaginal smears for the diagnosis of bacterial vaginosis. J Clin Microbiol 1990;28:1506-8.

51. Spiegel CA. Bacterial vaginosis. Clin Microbiol Rev 1991;4:485-502.

52. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. Am J Med 1983;74:14-22.

53. Hill GB, Eschenbach DA, Holmes KK. Bacteriology of the vagina. Scand J Urol Nephrol Suppl 1984;86:23-39.

54. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. J Clin Microbiol 1991;29:297-301.

55. Hay PE, Morgan DJ, Ison CA, Bhide SA, Romney M, McKenzie P, et al. A longitudinal study of bacterial vaginosis during pregnancy. Br J Obstet Gynaecol 1994;101:1048-53.

56. Thompson C, McCabe K. An audit of the value of microscopy of gram-stained and wet film preparations for the diagnosis of bacterial vaginosis in a department of genitourinary medicine. Int J STD AIDS 1994;5:69-70.

IN REVISIONE

57. Nunns D, Mandal D, Farrand RJ, O'Neill H, Henshaw G. A comparison of acridine orange, wet microscopy and Gram staining in the diagnosis of bacterial vaginosis. J Infect 1997;34:211-3.

58. Davis JP, Chesney PJ, Wand PJ, LaVenture M. Toxic-shock syndrome: epidemiologic features, recurrence, risk factors, and prevention. N Engl J Med 1980;303:1429-35.

59. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: a public health perspective. Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recomm Rep 1996;45:1-24.

60. Choi YS, Longacre JL, Chesney-Graham U, Cooper SW. Revised group B streptococcal (GBS) infection guidelines. Pediatrics 1997;100:1042.

61. Yancey MK, Schuchat A, Brown LK, Ventura VL, Markenson GR. The accuracy of late antenatal screening cultures in predicting genital group B streptococcal colonization at delivery. Obstet Gynecol 1996;88:811-5.

62. Mylonakis E, Paliou M, Hohmann EL, Calderwood SB, Wing EJ. Listeriosis during pregnancy: a case series and review of 222 cases. Medicine (Baltimore) 2002;81:260-9.

63. Schuchat A, Swaminathan B, Broome CV. Epidemiology of human listeriosis. Clin Microbiol Rev 1991;4:169-83.

64. Mitchell RG. Listeria and Erysipelothrix. In: Collee JG, Fraser AG, Marmion BP, Simmons A, editors. Mackie & McCartney Practical Medical Microbiology. 14th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1996. p. 309-15.

65. Quentin R, Pierre F, Dubois M, Soutoul JH, Goudeau A. Frequent isolation of capnophilic bacteria in aspirate from Bartholin's gland abscesses and cysts. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1990;9:138-41.

66. Brunham RC, Paavonen J, Stevens CE, Kiviat N, Kuo CC, Critchlow CW, et al. Mucopurulent cervicitis--the ignored counterpart in women of urethritis in men. N Engl J Med 1984;311:1-6.

67. Rosene K, Eschenbach DA, Tompkins LS, Kenny GE, Watkins H. Polymicrobial early postpartum endometritis with facultative and anaerobic bacteria, genital mycoplasmas, and Chlamydia trachomatis: treatment with piperacillin or cefoxitin. J Infect Dis 1986;153:1028-37.

68. Sweet RL, Schachter J, Robbie MO. Failure of beta-lactam antibiotics to eradicate Chlamydia trachomatis in the endometrium despite apparent clinical cure of acute salpingitis. JAMA 1983;250:2641-5.

69. Eschenbach DA, Buchanan TM, Pollock HM, Forsyth PS, Alexander ER, Lin JS, et al. Polymicrobial etiology of acute pelvic inflammatory disease. N Engl J Med 1975;293:166-71.

70. Wasserheit JN, Bell TA, Kiviat NB, Wolner-Hanssen P, Zabriskie V, Kirby BD, et al. Microbial causes of proven pelvic inflammatory disease and efficacy of clindamycin and tobramycin. Ann Intern Med 1986;104:187-93.

71. Evans DT. Actinomyces israelii in the female genital tract: a review. Genitourin Med 1993;69:54-9.

72. Meares EM, Jr. Urethritis, prostatitis, epididymitis, and orchitis. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, editors. Infectious Diseases. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1998. p. 954-61.

73. Abdullah AN, Drake SM, Wade AA, Walzman M. Balanitis (balanoposthitis) in patients attending a department of genitourinary medicine. Int J STD AIDS 1992;3:128-9.

IN REVISIONE

74. Birley HD, Walker MM, Luzzi GA, Bell R, Taylor-Robinson D, Byrne M, et al. Clinical features and management of recurrent balanitis; association with atopy and genital washing. Genitourin Med 1993;69:400-3.

75. Guerrero-Vazquez J, Sebastian-Planes M, Olmedo-Sanlaureano S. Group A streptococcal proctitis and balanitis. Pediatr Infect Dis J 1990;9:223.

76. Kyriazi NC, Costenbader CL. Group A beta-hemolytic streptococcal balanitis: it may be more common than you think. Pediatrics 1991;88:154-6.

77. Sturm AW. Haemophilus influenzae and Haemophilus parainfluenzae in nongonococcal urethritis. J Infect Dis 1986;153:165-7.

78. European Parliament. UK Standards for Microbiology Investigations (SMIs) use the term "CE marked leak proof container" to describe containers bearing the CE marking used for the collection and transport of clinical specimens. The requirements for specimen containers are given in the EU in vitro Diagnostic Medical Devices Directive (98/79/EC Annex 1 B 2.1) which states: "The design must allow easy handling and, where necessary, reduce as far as possible contamination of, and leakage from, the device during use and, in the case of specimen receptacles, the risk of contamination of the specimen. The manufacturing processes must be appropriate for these purposes".

79. Official Journal of the European Communities. Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council of 27 October 1998 on *in vitro* diagnostic medical devices. 7-12-1998. p. 1-37.

80. Health and Safety Executive. Safe use of pneumatic air tube transport systems for pathology specimens. 9/99.

81. Department for transport. Transport of Infectious Substances, 2011 Revision 5. 2011.

82. World Health Organization. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2013-2014. 2012.

83. Home Office. Anti-terrorism, Crime and Security Act. 2001 (as amended).

84. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. The Approved List of Biological Agents. Health and Safety Executive. 2013. p. 1-32

85. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Infections at work: Controlling the risks. Her Majesty's Stationery Office. 2003.

86. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Biological agents: Managing the risks in laboratories and healthcare premises. Health and Safety Executive. 2005.

87. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Biological Agents: Managing the Risks in Laboratories and Healthcare Premises. Appendix 1.2 Transport of Infectious Substances - Revision. Health and Safety Executive. 2008.

88. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories. MMWR Surveill Summ 2012;61:1-102.

89. Health and Safety Executive. Control of Substances Hazardous to Health Regulations. The Control of Substances Hazardous to Health Regulations 2002. 5th ed. HSE Books; 2002.

90. Health and Safety Executive. Five Steps to Risk Assessment: A Step by Step Guide to a Safer and Healthier Workplace. HSE Books. 2002.

91. Health and Safety Executive. A Guide to Risk Assessment Requirements: Common Provisions in Health and Safety Law. HSE Books. 2002.

IN REVISIONE

92. Health Services Advisory Committee. Safe Working and the Prevention of Infection in Clinical Laboratories and Similar Facilities. HSE Books. 2003.

93. British Standards Institution (BSI). BS EN12469 - Biotechnology - performance criteria for microbiological safety cabinets. 2000.

94. British Standards Institution (BSI). BS 5726:2005 - Microbiological safety cabinets. Information to be supplied by the purchaser and to the vendor and to the installer, and siting and use of cabinets. Recommendations and guidance. 24-3-2005. p. 1-14

95. Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, Richter SS, Gilligan PH, Thomson RB, Jr., et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). Clin Infect Dis 2013;57:e22-e121.

96. Rishmawi N, Ghneim R, Kattan R, Ghneim R, Zoughbi M, Abu-Diab A, et al. Survival of fastidious and nonfastidious aerobic bacteria in three bacterial transport swab systems. J Clin Microbiol 2007;45:1278-83.

97. Barber S, Lawson PJ, Grove DI. Evaluation of bacteriological transport swabs. Pathology 1998;30:179-82.

98. Van Horn KG, Audette CD, Sebeck D, Tucker KA. Comparison of the Copan ESwab system with two Amies agar swab transport systems for maintenance of microorganism viability. J Clin Microbiol 2008;46:1655-8.

99. Nys S, Vijgen S, Magerman K, Cartuyvels R. Comparison of Copan eSwab with the Copan Venturi Transystem for the quantitative survival of *Escherichia coli, Streptococcus agalactiae* and *Candida albicans*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2010;29:453-6.

100. Tano E, Melhus A. Evaluation of three swab transport systems for the maintenance of clinically important bacteria in simulated mono- and polymicrobial samples. APMIS 2011;119:198-203.

101. Andrews H, Acheson N, Huengsberg M, Radcliffe KW. The role of microscopy in the diagnosis of sexually transmitted infections in women. Genitourin Med 1994;70:118-20.

102. Public Health England. Laboratory Reporting to Public Health England: A Guide for Diagnostic Laboratories. 2013. p. 1-37.

103. Department of Health. Health Protection Legislation (England) Guidance. 2010. p. 1-112.

104. Scottish Government. Public Health (Scotland) Act. 2008 (as amended).

105. Scottish Government. Public Health etc. (Scotland) Act 2008. Implementation of Part 2: Notifiable Diseases, Organisms and Health Risk States. 2009.

106. The Welsh Assembly Government. Health Protection Legislation (Wales) Guidance. 2010.

107. Home Office. Public Health Act (Northern Ireland) 1967 Chapter 36. 1967 (as amended).

IN REVISIONE