

I test batteriologici / micologici per l'ippiatra: come utilizzarli al meglio (parte 2)

Apparato locomotore

Liquido sinoviale

È possibile eseguire la coltura del liquido sinoviale da tampone al momento del prelievo, da provetta tappo rosso e da bottiglia da emocoltura, se l'aspetto di questo materiale non indica la presenza di eritrociti, pus e fibrina.

E' possibile inoltre allestire un esame citologico diretto dopo citospin oppure immettendo la sinovia in una provetta con EDTA, permettendo ai tecnici del laboratorio di allestire un citologico anche dopo 24/48 ore dal drenaggio articolare. Una coltura positiva è altamente probabile se ci si trova di fronte ai seguenti parametri:

- > proteine totali > 4 gr/dl
- > WBC > 30.00 con neutrofili > 80%
- > pH < 6,9
- > lattati > 4
- > glucosio < 80
- > siero amiloide (SAA) elevata sia nella sinovia che nel sangue.

Studi recenti (Hines, 2020) mostrano come il monitoraggio della SAA sierica possa contribuire a differenziare le artriti settiche da quelle traumatiche e dall'artrosi, nonché valutare la risposta alle terapie antibiotiche (la SAA varia molto rapidamente permettendo di modulare le terapie quasi in tempo reale).

Questo parametro non si innalza dopo artrocentesi o lavaggi ripetuti, ma solo in presenza di infezioni batteriche non controllate. Se la fonte dell'infezione non è a livello articolare ma in altri distretti del corpo, la SAA sistemica risulterà più alta rispetto a quella sinoviale, viceversa se è proprio l'articolazione il distretto affetto da sepsi.

Bisogna considerare che le colture allestite da liquidi che normalmente dovrebbero essere sterili, possono richiedere più tempo per la crescita di microrganismi eventualmente presenti – soprattutto se non si utilizza la bottiglia di emocoltura per la loro raccolta. È quindi opportuno considerare anche altri parametri che possano aiutare a prendere decisioni terapeutiche veloci. In questi casi il tempismo è infatti molto importante, soprattutto per i puledri per i quali un ritardo terapeutico potrebbe compromettere gravemente lo sviluppo delle cartilagini articolari, con prognosi sfavorevole per l'attività sportiva.

Possibili patogeni: per questo distretto rileviamo *Enterobacter*, *Streptococcus* e *Staphylococcus*. Se al momento del prelievo sono stati già somministrati antibiotici di copertura, l'utilizzo di bottiglie da emocoltura permette di affinare e velocizzare la crescita di microrganismi. Per alcuni parassiti come *Borrelia* possiamo allestire una ricerca tramite PCR su questo materiale.

Tessuto muscolare

In caso di ferite o lesioni purulente di questo distretto, è sempre preferibile effettuare dei tamponi dai tessuti profondi e/o in abbinamento ad un esame istologico delle zone coinvolte, in quanto i batteri isolati in superficie potrebbero essere confusi con i normali contaminanti cutanei. Infezioni gravi in localizzazioni muscolari profonde potrebbero anche derivare da germi giunti da altri distretti per via ematogena, rilevabili pertanto tramite emocoltura.

Possibili patogeni:

Escherichia coli,
Staphylococcus,
Streptococcus,
Corynebacterium,
Clostridium e *Fusobacterium*.

Apparato nervoso

Liquido cefalorachidiano

Sebbene si tratti di un fluido molto delicato e normalmente sterile, anche per questo materiale abbiamo la possibilità di effettuare un esame batteriologico. La scelta migliore è quella di immergerlo in una bottiglia da emocoltura, eseguire su questo un tampone con medium e immergere il liquido in una provetta sterile sono comunque opzioni possibili.

Di solito ad una coltura positiva corrisponde un liquor visivamente alterato (emorragico o giallastro) con un deciso aumento delle proteine totali e della cellularità, per la presenza di cellule della serie bianca o pigmenti originati dalla migrazione e degenerazione degli eritrociti per vasculopatia concomitante (xanthochromia).

Neutrofili o linfociti potrebbero essere presenti anche in caso di infezioni virali, necrosi o malattie immunomediate: per questo è preferibile completare l'esame batteriologico con una citologia da citospin per avere un quadro più chiaro della patologia, immettendo parte del liquido in provetta con EDTA.

Si ricorda che è inoltre possibile prelevare il liquido cefalorachidiano nell'animale in vita dalle ultime vertebre lombari (L6-S1) con una blanda sedazione, oltre che dalla giunzione atlanto-occipitale in anestesia generale o nell'animale in decubito.

Possibili patogeni: batteri come *Corynebacterium*, *Listeria*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Pasteurella*, *Proteus*, ma anche miceti come *Aspergillus* (dalle tasche gutturali) o *Cryptococcus*. In questi casi il fluido potrebbe presentarsi viscoso o torbido per la presenza di ife.

Ricordiamo che con sospetto di aspergillosi possiamo effettuare una PCR per rilevazione del DNA del micete senza aspettare la crescita in coltura, come pure in caso di alcuni parassiti come *Borrelia*, e molti agenti virali neuropatogeni (*Herpesvirus*, *West Nile virus*, *Bornavirus*, e altri).

Alcuni agenti batterici di malattie neurologiche non hanno localizzazione nel sistema nervoso centrale: *Clostridium tetani* e *botulinum* si trovano infatti raramente in pazienti malati, perché la loro azione si esplica principalmente attraverso la presenza di tossine, quindi un esame batteriologico non è indicato in questi casi.

Apparato tegumentario

Cute e linfonodi

L'esame batteriologico della cute e dei linfonodi andrebbe sempre abbinato ad una biopsia e/o citologia cutanea, in quanto molti batteri sono presenti in questo distretto come normale flora non patogena. In ogni caso si raccomanda una pulizia e disinfezione accurata della parte prima dell'esecuzione del tampone, in modo da eliminare i commensali. La differenziazione è possibile anche sulla base della tipologia (purezza e rapidità) di crescita delle colonie batteriche isolate. In caso di ascessi di linfonodi esplorabili si consiglia di andare a toccare con un tampone la parete dell'ascesso piuttosto che raccogliere semplicemente il pus che fuoriesce all'esterno, che potrebbe contenere solamente corpi batterici di microrganismi morti.

Vediamo quali patologie possono interessare questo distretto.

> Dermatofitosi

I miceti che possono determinare infezioni micotiche cutanee frequenti nel cavallo sono *Trichophyton* e *Microsporium*. Per allestire una coltura micotica sono indicate la raccolta di croste, peli e cute oppure un tampone dai bordi della lesione: se molto sporca è possibile pulire la zona con alcool prima dell'esecuzione del tampone stesso.

> Dermatofilososi

L'agente eziologico *Dermatophilus congolensis* richiede terreni di coltura particolari e l'eventuale sospetto diagnostico, formulato sulla base dell'aspetto delle lesioni riscontrate, deve essere segnalato al

laboratorio al momento dell'invio dei campioni (tamponi, croste o cute).

> Cellulite

Si tratta di un'infezione del sottocute di solito associata a *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Actinobacillus*, ma anche *Actinomyces*, *Histoplasma* e *Sporotrix* potrebbero essere coinvolti come agenti di micosi profonde. Ricordiamo come agenti eziologici non comuni di patologie cutanee profonde per il puledro *Rhodococcus* e *Corynebacterium*.

L'esecuzione di un esame batteriologico completo di antibiogramma permette di agire in modo tempestivo e con antibiotici da subito efficaci, trattandosi di infezioni di complicata gestione e che richiedono generalmente lunghe terapie.

Occhio

Effettuare tamponi oculari richiede particolare attenzione. Si consiglia pertanto un'idonea sedazione del paziente abbinata ad anestesia locale soprattutto per prelievi corneali, per evitare di toccare palpebre od annessi, che potrebbero far riscontrare popolazioni batteriche miste. In caso di ulcere corneali si consiglia di effettuare un tampone dai bordi delle medesime. È possibile l'esecuzione di un esame citologico tramite impressione di uno o più vetrini lasciati poi asciugare all'aria ed inviati al laboratorio contestualmente al tampone, senza colorazione.

Possibili patogeni: la presenza di *Aspergillus* od altri agenti micotici è frequente in caso di infezioni ricorrenti.

Emocolture

Questo tipo di esame necessita di apposite bottiglie da coltura per aerobi ed anaerobi, che Laboklin fornisce su richiesta. In questi contenitori sono presenti un brodo di coltura idoneo ed alcune resine e sostanze che agiscono inattivando i fattori autolitici e alcuni antibiotici eventualmente presenti nel sangue al momento del prelievo, agevolando invece la crescita di microrganismi.

Quando possibile, si consiglia di effettuare almeno 2–3 prelievi da differenti siti venosi nell'arco delle 12 ore (una positività riscontrata in più di un prelievo permette una maggior precisione diagnostica) seguendo queste procedure:

- > utilizzare guanti sterili o disinfettati con clorexidina al 2%
- > contenere l'animale per evitare di dover pungere più volte la cute
- > tosare, pulire con alcool e disinfettare molto bene il sito di prelievo con clorexidina 2% o tintura di iodio, lasciando asciugare il disinfettante per evitare la sospensione dei microrganismi cutanei che potrebbero in questo modo penetrare più facilmente

> pungere centralmente la vena tenendo la punta dell'ago molto vicina alla cute (il buco visibile all'esterno)

> prelevare il giusto quantitativo di sangue (8 - 10 ml) senza interruzioni

> disinfettare il cappuccio delle bottiglie e cambiare l'ago: non deve essere il medesimo usato per il prelievo

> inoculare il sangue nelle bottiglie (prima nel flacone per gli anaerobi poi in quello per gli aerobi in quanto potrebbe risalire dell'aria nell'ago con la prima inoculazione)

> capovolgere lentamente le bottiglie un paio di volte per mescolarne il contenuto

> spedire prontamente il materiale a temperatura ambiente.

Possibili patogeni: nei puledri si riscontrano facilmente batteri gram negativi di origine enterica:

Escherichia coli,

Enterococcus,

Actinobacillus,

Staphylococcus,

nell'adulto possiamo rilevare anche batteri di origine polmonare o da metriti nella fattrice.