

Capitolo I

Caratteristiche generali

Com'è noto i batteri sono stati i primi esseri viventi a popolare il nostro pianeta non appena furono rese possibili le condizioni per un loro sviluppo. Da allora questi organismi invisibili hanno colonizzato qualsiasi zona che permettesse loro la sopravvivenza ed, ovviamente, anche noi esseri umani, fin dal momento della nascita. In milioni di secoli d'evoluzione si sono talmente specializzati da prendere possesso, in maniera stabile, di alcuni distretti corporei creandovi delle vere e proprie nicchie ecologiche che risultano pertanto, di norma, tipicamente costituite da quei determinati microrganismi.

Risulta allora fondamentale sapere la collocazione e la tipologia dei batteri nelle sedi anatomiche non sterili del nostro organismo, anche per stabilire se un elemento appartenente a quella popolazione residente può essere considerato responsabile di un ben definito quadro infettivo.

In effetti la conoscenza della flora endogena residente nelle vari sedi corporee ci permette di fare importanti considerazioni sull'eventuale ruolo patogeno svolto in molte situazioni cliniche: mentre non risulta difficile, nella maggioranza dei casi, attribuire un ruolo patogeno ad un batterio isolato da un materiale biologico proveniente da sedi anatomiche di norma sterili, come il sangue o liquidi provenienti da organi cavitari interni è, spesso, molto più impegnativo individuare una responsabilità diretta di un batterio considerato di norma residente in un certo distretto da cui preleviamo un campione da inviare in laboratorio per l'esame colturale.

La cosa si complica non poco quando si eseguono prelievi da soggetti immunodepressi nei quali anche i batteri colonizzanti possono diventare patogeni veri a causa della ridotta o nulla attività del sistema immunitario dell'ospite.

Bisogna inoltre considerare anche che una certa percentuale della popolazione umana può albergare in alcune sedi anatomiche batteri considerati veri patogeni (pneumococchi, emofili, streptococchi β -emolitici, ecc.), ma che al momento non sembrano causare alcuna infezione e si riscontrano solo casualmente eseguendo un prelievo per un esame colturale.

In tutte queste circostanze può essere difficile interpretare il dato microbiologico che deve essere comunque attentamente vagliato prima di essere riferito al medico curante, il quale dovrà correlare la presenza del batterio con il quadro clinico presentato dal paziente e decidere di conseguenza se iniziare o meno una terapia antibiotica specifica per il germe segnalato.

In considerazione di quanto sopra affermato in microbiologia è della massima importanza la fase preanalitica: quando prelevare, cosa prelevare, dove eseguire il prelievo in modo da ottenere un campione biologico significativo dell'infezione in atto, come

eseguire il prelievo e con quali sistemi fare la raccolta dei materiali, la loro conservazione prima dell'invio in laboratorio ed il loro trasporto.

Se non si eseguono correttamente tutte queste fasi l'esito della coltura non solo può dare indicazioni erranee, ma può addirittura indurre a terapie inutili o dannose per il malato.

La popolazione batterica residente sull'uomo

Per definizione i distretti di norma sterili sono: il sangue, tutti i liquidi degli organi cavitari interni e tutti gli organi interni, tranne la parte prossimale di quelli che comunicano con l'esterno attraverso cavità rivestite da mucosa.

I distretti che presentano sempre una flora residente sono:

- 1) **Apparato tegumentario:** prevalenza di germi aerobi o anaerobi facoltativi, costituiti da stafilococchi (*Staphylococcus epidermidis*, altri stafilococchi coagulasi negativi, micrococchi, talora anche *Staphylococcus aureus*), corinebatteri, miceti lipofili e non. Presenza anche di anaerobi stretti, in particolare *Propionibacterium acnes*.
- 2) **Apparato respiratorio:** i distretti di norma sterili sono la laringe, la trachea, i bronchi e gli alveoli polmonari. I distretti non sterili sono:
 - A) Cavità orale, l'orofaringe ed il rinofaringe nella quale si ritrovano molte specie diverse di stafilococchi e di streptococchi alfa e non emolitici, *Neisseriae*, emofili, actinomiceti, *Candida* prevalentemente della specie *albicans*, enterobatteri.
 - B) Fosse nasali: varie specie di stafilococchi e streptococchi, *Neisseriae*, emofili, corinebatteri.
- 3) **Apparato gastro-enterico:** i distretti sterili sono di norma l'esofago, lo stomaco, la maggior parte dell'intestino tenue, il peritoneo. I distretti non sterili sono:
 - A) Cavità orale.
 - B) Intestino crasso e parte terminale dell'ileo, in cui dominano i germi anaerobi, quali *Bacteroides*, *Prevotella*, fusobatteri, clostridi, lattobacilli, eubatteri, cocchi gram positivi. Tra gli anaerobi facoltativi troviamo gli enterobatteri, varie specie di stafilococchi e streptococchi, enterococchi. Sono presenti anche i miceti con varie specie di lieviti e bastoncelli Gram negativi non fermentanti, quali *Pseudomonas* ed *Alcaligenes*.
- 4) **Apparato genitale ed urinario:** i distretti sterili sono di norma tutti gli organi interni quali gli organi riproduttivi maschili e femminili, la vescica gli ureteri ed i reni. I distretti non sterili sono:
 - A) Genitali esterni maschili e femminili, in cui sono presenti varie specie di stafilococchi e streptococchi, cocchi anaerobi, anaerobi stretti quali *Mobiluncus* e *Bacteroides*, corinebatteri, talora enterobatteri. Nella vagina la flora batterica varia considerevolmente secondo l'età del soggetto: è simile a quella cutanea nella pre-pubertà e nella menopausa, è costituita prevalentemente da varie specie di lattobacilli durante l'età fertile, con presenza di batteri indicati per i genitali esterni e talora *Gardnerella*.
 - B) Uretra: con gli stessi germi di cui sopra e con presenza di micoplasmi.

Metodi di prelievo, raccolta, trasporto e conservazione dei campioni biologici

Indicazioni generali

Per garantire il migliore risultato possibile ad un'indagine batteriologica (colturale e/o batterioscopica) è fondamentale eseguire in maniera corretta non solo il prelievo, conoscendo bene dove, come e quando prelevare, ma anche tutte le successive fasi, fino all'arrivo del campione nel laboratorio di Microbiologia.

È opportuno dunque che il personale sanitario addetto al prelievo del campione sia informato delle modalità corrette con cui eseguire i vari passaggi e la cosa migliore e quella di proporre tutte queste procedure in un piccolo manuale di facile consultazione, da inviare ai singoli reparti per ogni necessità ed a cui fare riferimento in caso di dubbi o di verifica delle procedure.

Un'attenzione particolare deve essere posta anche nella preparazione del paziente collaborante informandolo delle caratteristiche del prelievo e delle sue finalità cliniche; inoltre il personale sanitario che esegue il prelievo deve rispettare, quando possibile, le seguenti regole:

- 1) sospendere qualsiasi tipo di terapia antibiotica prima del prelievo (almeno 48 ore) o, meglio, eseguirlo prima di iniziarla
- 2) eseguire il prelievo del materiale nella sede dell'infezione facendo attenzione alla contaminazione da germi endogeni o esogeni
- 3) fare il prelievo nel momento più opportuno per ritrovare i batteri patogeni che causano quella particolare malattia infettiva
- 4) prelevare una quantità adeguata di campione per eseguire tutte le indagini richieste
- 5) attenersi scrupolosamente alle modalità di trasporto e conservazione del materiale biologico prelevato in considerazione del batterio ricercato.

Infezioni respiratorie: alte vie

Tampone faringeo

Eseguire il prelievo utilizzando un'abbassa lingua o una garza sterile con cui tenere ferma la punta della lingua. Estrarre il tampone sterile dal contenitore in plastica e toccare con una certa pressione sulle zone del faringe arrossate, ulcerate o con placche facendo attenzione a non toccare le guance, la lingua, le labbra. Riporre il tampone nel contenitore sterile contenente il terreno di trasporto ed inviare in laboratorio.

La ricerca è di norma finalizzata alla ricerca di streptococchi β -emolitici ed in particolare di *Streptococcus pyogenes*. In caso di indagini particolari (miceti, bacillo difterico, *Arcanobacterium haemolyticum*, angina di Vincent, altri eventuali patogeni quali *Neisseria gonorrhoeae*, o ricerca di portatori di *Staphylococcus aureus* o *Pseudomonas aeruginosa*) pretendere una richiesta specifica da parte del medico richiedente per fare la coltura dei batteri negli opportuni terreni di crescita o eseguire indagini specifiche.

Tampone nasale

Si esegue di norma per la ricerca dei portatori sani di *Staphylococcus aureus* meticillino resistente (MRSA) e per pazienti che devono sottoporsi ad interventi chirurgici ad alto rischio d'infezione (esempio cardiocirurgia). Può talora essere richiesto anche in caso di sinusiti con abbondante presenza di muco purulento per la ricerca di altri patogeni respiratori quali, emofili, pneumococco, *Moraxella*, di cui, peraltro, non è sempre chiaro il significato del loro reperto come indice predittivo certo della sinusite. In altri casi di sinusite questo tipo di prelievo non è indicato ed il risultato colturale può talora fuorviare il giudizio del medico curante.

Tampone naso-faringeo

In caso di sospetta difterite può essere eseguito un tampone naso-faringeo per la ricerca del batterio facendo anche in contemporanea un preparato batterioscopico dalle membrane biancastre con essudato formatesi nella gola o nel naso-faringe, che deve essere colorato con la colorazione di Albert.

Il tampone deve essere trasportato rapidamente in laboratorio.

La coltura si esegue seminando il tampone in terreno di Loeffler, su agar cistinatellurito e su agar sangue. Questo prelievo viene eseguito anche per la ricerca della *Bordetella pertussis* impiegando un tampone montato su uno stelo di materiale flessibile per raggiungere bene il faringe.

Tampone orale

Si esegue solo per confermare una candidosi orale o per la conferma di angina di Vincent.

Tampone auricolare

Si esegue per individuare i microrganismi responsabili di un'otite esterna (in cui oltre a *P. aeruginosa* e *S. aureus* sono talora coinvolti anche miceti del genere *Aspergillus*) o di un'otite media, che presenta come maggiori responsabili *S. pneumoniae*, *M. catharralis* ed *H. influenzae*.

Prima di eseguire il prelievo è opportuno pulire preventivamente il condotto uditivo esterno con un tampone sterile inumidito con soluzione fisiologica sterile.

In caso di otite esterna prelevare con un tampone facendo una certa pressione sui bordi del canale; nelle otiti medie far eseguire il prelievo dal medico specialista che dovrà prelevare il materiale che fuoriesce dalla membrana timpanica. I germi in causa più frequentemente sono streptococchi, emofili, enterobatteri e batteri non fermentanti il glucosio.

Infezioni respiratorie: basse vie

Espettorato

La raccolta e la coltura dell'espettorato è raccomandata solo in caso di polmonite con presenza di abbondanti secrezioni provenienti dalle basse vie respiratorie, o durante la riattivazione di bronchiti croniche.

Tuttavia, proprio a causa del passaggio di questo materiale in zone fortemente contaminate da una flora batterica residente, è necessario eseguire un esame batterioscopico per verificarne la provenienza profonda e quindi l' idoneità alla coltura.

Il materiale deve essere raccolto preferibilmente al mattino, evitando la commistione con la saliva, dopo pulizia del cavo orale con acqua distillata sterile ed invitando il paziente a fare atti inspiratori ed espiratori forzati per facilitare colpi di tosse profondi.

Il trasporto al laboratorio deve avvenire rapidamente, entro un' ora dalla raccolta, mentre può rimanere in frigorifero per circa tre ore.

Di norma si esegue la coltura per pneumococchi, emofili, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus*, Gram negativi. Altre indagini particolari (*Legionella*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydiae*) debbono essere chiaramente specificate nella richiesta.

In caso di ricerca di micobatteri è opportuno ripetere la ricerca su tre diversi campioni.

Lavaggio bronchiale

Il materiale è idoneo per la ricerca dei seguenti batteri: micobatteri, legionella, *Pneumocystis carinii*, *Aspergillus*.

Così come l' espettorato è un materiale poco affidabile per una conferma d' infezione delle basse vie respiratorie.

Lavaggio bronco-alveolare

Il materiale ottenuto è il migliore per ottenere una risposta affidabile di un' infezione delle vie profonde, ma deve essere eseguito da personale qualificato ed in situazioni cliniche ben definite.

La frazione alveolare è quella migliore in quanto meno contaminata da eventuale flora residente. Se si desidera una conta batterica quantitativa è necessario conoscere il volume di soluzione fisiologica impiegata per il prelievo del campione.

Lavaggio bronco-alveolare protetto

È la tecnica più sicura per ottenere un campione significativo del processo infettivo in caso di polmonite.

Liquido pleurico

La raccolta di questo liquido può essere importante per diagnosticare polmoniti in presenza di versamento pleurico. Il materiale viene raccolto con siringa ed inviato subito in laboratorio in idonei contenitori sterili. Si ricercano di norma: stafilococchi, streptococchi, Gram negativi, micobatteri, *Legionella*, *Nocardia*, germi anaerobi, miceti.

Infezioni dell'apparato urinario e genitale

Urinocoltura

La raccolta deve essere eseguita preferibilmente al mattino, essendo le urine rimaste in vescica per almeno quattro ore, previa accurata pulizia dei genitali esterni con acqua e sapone senza disinfettante.

La raccolta è, di norma, eseguita con la tecnica del “mitto intermedio”: il paziente deve scartare la prima parte dell’urina, trattenere la minzione per pochi secondi e raccogliere direttamente la seconda parte in un contenitore sterile a bocca larga, con tappo a vite. L’urina, se non è inviata rapidamente in laboratorio deve essere posta in frigorifero per un massimo di 24 ore: se si esegue la raccolta impiegando acido borico come conservante si può attendere fino a 24 ore a temperatura ambiente, ma bisogna ricordare che ci possono essere interferenze se si usano alcuni sistemi automatici per lo screening della batteriuria.

In condizioni particolari possono essere ottenuti campioni d’urina raccolti con altre tecniche, quali sacchetto di plastica sterile per neonati, catetere temporaneo o a permanenza.

Particolare attenzione deve essere posta sulle modalità di prelievo, conservazione e trasporto del campione per evitare sovrastime della carica batterica o indicare false positività.

Si ricercano di norma enterobatteri, batteri non fermentanti, stafilococchi, enterococchi, mentre altre indagini particolari (*Legionella*, micoplasmii, *Chlamydia trachomatis*) debbono essere chiaramente specificate nella richiesta.

Tampone uretrale

Questo esame è richiesto in caso di uretrite sia nell’uomo sia nella donna.

Nell’uomo non è indicato per diagnosticare una prostatite.

Si ricercano di norma come possibili patogeni i seguenti batteri: gonococco, micoplasmii, *Chlamydia trachomatis*.

È consigliabile associare sempre alla coltura un esame batterioscopico da sottoporre alla colorazione di Gram.

La ricerca della clamidia può essere fatta con varie metodiche: Elisa, immunofluorescenza diretta, PCR, ma con quest’ultima tecnica di biologia molecolare e, soprattutto per i soggetti di sesso femminile, il materiale su cui eseguire l’indagine può essere la prima parte dell’urina emessa preferibilmente al mattino non avendo in precedenza urinato da almeno tre ore.

Tampone vaginale

L’indagine è eseguita per diagnosticare un’infezione a livello vaginale di cui sono responsabili microrganismi differenti a secondo dell’età della donna, proprio perché varia con l’età la produzione di ormoni sessuali che esercitano un’attività diretta a carico dell’epitelio vaginale e quindi anche della flora in esso residente. Il prelievo deve essere eseguito da personale sanitario esperto prelevando il campione dal fornice posteriore con l’uso dello speculum per rendere visibile la zona.

In età prepubere, come in menopausa avanzata, non sono presenti i lattobacilli che invece abbondano sotto lo stimolo degli estrogeni in età fertile: i lattobacilli sono i colonizzatori della mucosa vaginale proteggendola da altri microrganismi anche patogeni.

Di norma l’esame è finalizzato alla ricerca dei lattobacilli che, se presenti in abbondanza, confermano lo stato di salute dell’epitelio vaginale.

È opportuno richiedere, in contemporanea all'esame colturale, anche uno striscio batterioscopico sia per valutare, "in vivo", la situazione microbica e cellulare, sia perché alcuni ceppi di lattobacilli non crescono se non incubati in anaerobiosi stretta e quindi la loro assenza in coltura potrebbe fuorviare la diagnosi; inoltre possiamo avere un'immagine diretta della flora batterica tipica in presenza della *Gardnerella vaginalis* insieme alle "clue cells" [► FOTO] e di un'eventuale flora anaerobia con o senza *Mobiluncus*.

In età fertile i patogeni causa di vaginite sono la *Candida* (*albicans* o di altre specie), e talora il *Trichomonas vaginalis*, mentre la presenza di enterobatteri, streptococchi, *Streptococcus agalactiae* e stafilococchi deve essere attentamente valutata prima di considerarla patogena nel caso specifico: si prenderà in considerazione la carica batterica e l'assenza di altri batteri (in particolare l'assenza o la forte riduzione dei lattobacilli).

In caso di vaginosi la ricerca deve essere indirizzata verso *Gardnerella vaginalis*, che è spesso accompagnata da una flora anaerobia (*Mobiluncus*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, streptococchi anaerobi) e da micoplasmi, a dimostrazione della situazione di dismicrobismo venutasi a creare in vagina.

In età prepubere si ricercano di solito *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans* ed altre specie di *Candida*, emofili, *Staphylococcus aureus* ed enterobatteri.

In menopausa prevalgono invece gli enterobatteri talora presenti in cariche elevate.

In gravidanza è ormai diffusa in molti ospedali la ricerca, di norma alla 35^a-36^a settimana di gestazione o immediatamente prima del parto, dello *Streptococcus agalactiae*, per prevenire una sua possibile trasmissione al feto al momento del parto. Questo batterio, sebbene spesso presente in vagina come semplice saprofita, può comunque in alcuni casi essere il vero responsabile di vaginiti o vulviti con sintomatologia clinica evidente (bruciori, dolori, leucorrea).

Tampone cervicale

La cervice uterina è la sede dove deve essere eseguita la ricerca della *Chlamydia trachomatis* e della *Neisseria gonorrhoeae*. Possono essere ricercati anche i micoplasmi: *Mycoplasma hominis* ed *Ureaplasma urealyticum* di cui è opportuno valutare la carica batterica.

Liquido prostatico

In caso di prostatite acuta i germi responsabili sono di norma quelli agenti anche d'infezioni urinarie.

In caso di prostatite cronica i germi più spesso in causa sono l'*Escherichia coli*, e l'*Enterococcus faecalis*, ma quando non si isolano batteri, l'agente eziologico può risultare in casi rari e difficilmente documentabili, la *Chlamydia trachomatis*; di solito, per individuare la sede dell'infezione, viene richiesto il test di Meares e Stamey che prevede una ricerca colturale quantitativa sulla prima parte, "primo mitto" delle urine (espressione dei batteri presenti nell'uretra ed in vescica), sulle urine a metà minzione o "mitto intermedio", (espressione dei batteri presenti in vescica), sulla secrezione prostatica raccolta con massaggio (espressione dei batteri presenti nella prostata e nelle residue urine vescicali) e sulle urine raccolte dopo massaggio prostatico (espressione dei batteri presenti nelle urine e quelli residui presenti nella prostata). L'interpretazione dei

risultati deve essere fatta in base ai risultati ottenuti nei vari prelievi ed alla relativa carica batterica ottenuta, considerando l'infezione prostatica solo se si isolano batteri significativi e con cariche più alte nel campione ottenuto dopo massaggio prostatico.

Liquido seminale

L'esame colturale prevede la ricerca di batteri noti come possibili agenti eziologici di prostatite (enterobatteri ed enterococco come più frequenti, piociano, stafilococchi, streptococchi, come cause meno frequenti). Inoltre occorre ricordare che il materiale può essere contaminato dalla flora batterica residente nell'uretra. È richiesto dal medico curante al posto del secreto prostatico in quanto più facilmente ottenibile, ma presenta l'inconveniente di contenere appunto anche questo materiale, risultando più diluito e non permettendo di riconoscere la provenienza dei batteri.

L'esame colturale si esegue anche nell'ambito di uno screening per la diagnosi d'infertilità o per una fecondazione assistita, assicurandoci dell'assenza di batteri potenzialmente patogeni, tra i quali i più frequenti sono i ceppi Gram negativi.

Pur con le suddette limitazioni in questo materiale si può ricercare anche la *Chlamydia trachomatis*, ma è preferibile eseguirla sul primo mitto delle urine prima di raccogliere il liquido seminale.

Secrezione balano prepuziale

I germi in causa sono prevalentemente cocchi Gram positivi e *Candida albicans*.

Infezioni dell'apparato digerente

La gamma di batteri responsabili di infezioni gastro-enteriche è ampia e molto diversificata comprendendo germi Gram positivi, Gram negativi ed anaerobi ed è aumentata notevolmente in questi ultimi anni, anche a causa della maggiore attenzione al problema e ad un miglioramento delle tecniche diagnostiche.

È necessario quindi conoscere dal medico richiedente le indagini da eseguire perché non è proponibile, sia per i costi sia per l'aggravio di lavoro, una ricerca di tutti i possibili patogeni batterici su ogni campione di feci.

Nei pazienti ambulatoriali è di norma prevista la ricerca di *Salmonella*, *Shigella* e *Campylobacter*, mentre nei pazienti ricoverati che presentano gastroenterite si deve ricercare il *Clostridium difficile*, causa talora di piccoli episodi epidemici.

Un aspetto particolare rivestono le tossinfezioni alimentari: questi casi debbono essere segnalati dal medico richiedente ed il laboratorio eseguirà una ricerca allargata ai batteri responsabili di questa patologia, mentre la ricerca della tossina nell'alimento sospetto è delegata al laboratorio dell'Agenzia regionale per la prevenzione.

È opportuno ricordare che un'infezione in questa sede può essere provocata anche da virus (in particolare *Rotavirus*) o da parassiti (in particolare *Giardia lamblia*) e quindi, per una diagnosi di laboratorio completa, non è sufficiente limitarsi alla ricerca dei batteri.

Materiali provenienti da siti di norma sterili

La crescita di microrganismi a seguito della coltura di materiali provenienti da siti di norma sterili deve essere sempre considerata significativa e quindi deve essere eseguita l'identificazione e l'antibiogramma. Pertanto il prelievo deve essere fatto con particolare attenzione prevenendo possibili contaminazioni esterne che potrebbero falsare il risultato colturale.

Particolare rilievo assumono le emocolture per una diagnosi di setticemia e la coltura del *liquor* cefalo-rachidiano per la conferma di una meningite batterica: in quest'ultimo caso il *liquor* deve essere trasportato subito in laboratorio non refrigerato, per impedire la morte di alcuni batteri particolarmente fragili come il meningococco e l'emofilo.

Come regola generale è opportuno, qualora possibile, prelevare il materiale con siringa o, solo se il materiale è scarso, con tampone inviandolo inserito nel terreno di trasporto.

In presenza di quantità abbondanti di materiali può essere utile seminarne una parte direttamente nei tubi per l'emocoltura, in particolare se il prelievo è eseguito in ore di chiusura del laboratorio di Microbiologia.

Qualora si desideri ricercare germi particolari (es. anaerobi, miceti, legionelle, micobatteri, ecc.) è necessario indicarlo sulla scheda di richiesta al laboratorio di Microbiologia.

La ricerca di germi anaerobi deve essere eseguita il più rapidamente possibile impiegando kit di prelievo particolari ed evitando la presenza dell'ossigeno nel contenitore.

In tutti i casi, qualora possibile, è opportuno preparare anche un esame batterioscopico da colorare con la colorazione di Gram o con quella per i micobatteri.

Cateteri vascolari

Spesso i cateteri vascolari risultano contaminati dalla flora batterica cutanea residente nella zona d'inserzione e, da quella sede, i batteri possono progredire e contaminare la porzione inserita del catetere, determinando anche un'infezione sistemica.

I germi di norma in causa sono prevalentemente stafilococchi, streptococchi, difteroidi, ma talora anche enterobatteri e miceti del genere *Candida*.

Nel caso in cui il paziente presenti una batteriemia continua o esista il sospetto di un'infezione associata al catetere è opportuno eseguire in contemporanea un'emocoltura da una vena periferica ed un'altra direttamente dal catetere e valutare in maniera quantitativa la carica batterica che, se maggiore di 5 volte quella riscontrata da vena periferica, indica l'infezione derivante dal catetere ed impone una sua rapida rimozione e sostituzione.

Liquidi di drenaggio

Questi liquidi insieme ad altri provenienti da cavità di norma sterili (pericardico, ascitico, peritoneale, articolare, sinoviale, bile) possono dare indicazioni valide se prelevati da cavità chiuse con siringa sterile, mentre se prelevati da tubi di drenaggio possono essere espressione di una colonizzazione batterica più che di vera infezione.

La ricerca è di solito finalizzata ai germi comuni e, talora, agli anaerobi, mentre altre indagini particolari (miceti filamentosi o micobatteri) devono essere specificate.

Ulcera da decubito, piaghe, ustioni

A causa della possibile colonizzazione o contaminazione da parte di una flora endogena o esogena non è sempre agevole individuare il vero responsabile del processo infettivo. Particolare attenzione deve essere posta nel prelievo del campione evitando l'uso di tamponi, ma impiegando tecniche particolari concordate con il reparto in modo da ottenere un materiale rappresentativo del quadro morboso.

Ascessi

Previa corretta pulizia e disinfezione della sede prelevare un certo quantitativo di materiale purulento con siringa sterile trasferendolo subito in idoneo contenitore utile anche per la ricerca di germi anaerobi (contenitori con atmosfera priva di ossigeno o terreni di trasporto adeguati). Se possibile eseguire sempre anche uno striscio batterioscopico da colorare al Gram per conoscere direttamente il tipo di flora batterica presente in sede ed avere indicazioni per interpretare correttamente l'esame colturale.

L'indagine è finalizzata alla ricerca di germi comuni (in particolare stafilococchi e streptococchi), di miceti e di anaerobi.

Essudato congiuntivale

Prelevare il campione da entrambi gli occhi prima della somministrazione, anche locale, di antibiotici ed anestetici: l'interpretazione delle due colture ci permetterà di valutare meglio la presenza di germi contaminanti.

Si ricercano di norma germi comuni. In caso di ricerca della *Chlamydia trachomatis* impiegare un apposito sistema di raccolta.

Emocoltura

È necessaria la massima attenzione alla fase del prelievo dei campioni per ridurre al minimo le contaminazioni esterne.

Si ricercano di norma germi aerobi, anaerobi e miceti. In caso di sospetta endocardite o brucellosi le colture devono essere prolungate fino a tre settimane.

Liquor cefalo rachidiano

Porre particolare attenzione alla fase del prelievo: il liquor, subito dopo la raccolta, deve essere trasferito in provette sterili ed inviato in laboratorio. È opportuno allestire sempre uno striscio batterioscopico in caso di liquor torbido o anche leggermente opalescente, per osservare in tempi rapidi l'eventuale presenza di microrganismi e segnalarli tempestivamente al curante. In casi particolari il liquor può mostrarsi limpido anche in presenza di un'infezione batterica nella fase precoce, quando non è ancora comparsa la reazione dell'ospite, oppure in soggetti con scarsa reattività immunologica o quando il microrganismo in causa è il criptococco.

Per tali motivi è sempre opportuno eseguire anche la ricerca degli antigeni solubili.

Valutazione del campione biologico per l'esame colturale

Prima di processare il campione arrivato in laboratorio è necessario accertarne la qualità, la quantità e la corretta raccolta (impiego di idonei contenitori, provette, terreni di trasporto).

Deve essere inoltre eseguito un controllo diretto del campione inviato per verificarne le conformità e, nel caso si riscontrino non concordanze, deve essere definito un accordo con i reparti per decidere se rifiutare immediatamente il campione o se accettarlo comunque ma dopo aver avuto assicurazioni da chi ha fatto materialmente il prelievo.

Riportiamo qui di seguito un elenco delle più comuni non conformità in batteriologia:

- Quantità del campione insufficiente
- Prelievo errato
- Contenitore non idoneo
- Contenitore sporcato all'esterno
- Tamponi con terreno di trasporto scaduto
- Tamponi con terreno di trasporto secco
- Richiesta di coltura per anaerobi con materiale non idoneo
- Richiesta di coltura per anaerobi con prelievo e/o trasporto non corretto
- Eccessivo ritardo nell'invio del campione in laboratorio
- Errore nella compilazione della scheda
- Mancanza delle etichette con numero giornaliero identificativo del paziente
- Errore nel mettere le etichette sui contenitori
- Etichette messe sopra il codice a barre delle emocolture
- Mancanza dello specifico codice esame sulla richiesta
- Non congruenza della richiesta con quanto indicato sul contenitore del campione
- Non indicazione sul contenitore della tipologia del materiale

È opportuno disporre anche d'informazioni utili, quali il tempo del prelievo, la temperatura di conservazione del campione, l'impiego o meno di una terapia antibiotica, perché sono elementi importanti per valutare la validità analitica del campione o comunque per interpretare correttamente i risultati degli esami eseguiti.