

Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα (Τ.Ε.Ι.) Αθήνας
Σχολή Επαγγελματιών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων

Εργαστήριο Κλινικής Μικροβιολογίας
Υπεύθυνοι μαθήματος: Αγγελική Στάθη, B.sc., Ph.D., Ελένη Κρανωτάκη, M.sc., Ph.D.

Ημερομηνία	19/11/2012
Τίτλος εργαστηριακής άσκησης	ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΑΙΜΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ

1. Εισαγωγή

1.1 Οι πιο συχνές πηγές βακτηριαμίας είναι:

Στοματική κοιλότητα,
Ρινοφάρυγγας
Πνευμονία
Ηπατικό απόστημα
Σκωληκοειδής απόφυση
Πυελονεφρίτιδα
Κεντρική αγγειακή γραμμή
Καρδιακή βαλβίδα

1.2 Είδη βακτηριαμίας

Ανάλογα με το χρόνο παραμονής των βακτηρίων στο αίμα, διακρίνεται:

Παροδική βακτηριαμία (transient) – Ένα επεισόδιο που διαρκεί < 20΄

Μετά από οδοντιατρικούς χειρισμούς:

Αφαίρεση δοντιών
Περιοδοντικά χειρουργεία
Εισαγωγή εμφυτευμάτων
Καθαρισμό δοντιών
Ενδοδοντικές επεμβάσεις

Με τις καθημερινές δραστηριότητες:

Πλύσιμο δοντιών
Χρήση οδοντογλυφίδων

Διαλείπουσα βακτηριαμία (intermittent) – Ένα απόστημα απ΄ όπου τα βακτήρια εισέρχονται στο αίμα σε ποικίλους χρόνους

Συνεχής βακτηριαμία Π.χ. Slime (Biofilm) σε καθετήρες-βαλβίδες

Ανάλογα με την εστία της λοίμωξης διακρίνονται:

- **Πρωτοπαθής βακτηριαμία :** δεν ανευρίσκεται άλλη εστία λοίμωξης με το ίδιο βακτήριο. Η βακτηριαμία που εμφανίζεται μετά την τοποθέτηση των ενδαγγειακών γραμμών.
- **Δευτεροπαθής βακτηριαμία:** αναπτύσσεται μετά από λοίμωξη που βρίσκεται σε άλλη θέση και οφείλεται στο ίδιο βακτήριο

2. Εργαστηριακή διάγνωση μικροβιαμίας**2.1 Μη καλλιεργητικές μέθοδοι**

ανάστροφη ανοσοηλεκτοφόρηση, αέριος υγρή χρωματογραφία, Limulus test = Ανιχνεύει ενδοτοξίνη από Gram (-), DNA – ιχνηθέτες (probes), PCR

2.2 Αιμοκαλλιέργεια

GOLD STANDARD – Ο ακρογωνιαίος λίθος για την έγκαιρη και σωστή αντιμετώπιση του ασθενή

2.3 Μέτρηση διαφόρων παραμέτρων όπως:

CRP, λευκά αίματος, ανάλυση αερίων & pH αίματος
δοκιμασίες ελέγχου ηπατικής λειτουργίας
γαλακτικό οξύ αίματος
παράγοντες πήξης (V, VII, VIII) ,
Φλεγμονώδεις παράγοντες: IL -1 & IL – 6 και TNF

2.4 Αίτια μικροβιαμίας

Συνήθη	Μη συνήθη
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Viridans streptococci</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Coagulase -negative staphylococci (CNS)</i>	<i>Enterobacter spp.</i>
<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Proteus spp.</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>beta-haemolytic streptococci</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacteroides spp.</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Clostridium spp.</i>
	<i>Haemophilus influenzae type b</i>
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
	<i>Neisseria meningitidis</i>
	<i>Brucella spp.</i>
	<i>Salmonella typhi</i>
	<i>Listeria spp</i>

3. Λήψη αιμοκαλλιέργειας

Η λήψη της αιμοκαλλιέργειας γίνεται με φλεβοκέντηση. Ακολουθείται διαδικασία προεργαστηριακής και εργαστηριακής φάσης

- 1(μία) αιμοκαλλιέργεια αντιστοιχεί σε μία φλεβοκέντηση
- 1(μία) αιμοκαλλιέργεια εμβολιάζεται σε δύο φιάλες (αερόβια, αναερόβια)

3.1 Προεργασία

Προεργαστηριακή φάση	Εργαστηριακή φάση
αντισηψία δέρματος	σύστημα αιμοκαλλιέργειας
λήψη αίματος	τεχνική αιμοκαλλιέργειας
αριθμός αιμοκαλλιιεργειών	τεχνική απομόνωσης μικ/σμού
χρόνος λήψης των δειγμάτων	ταυτοποίηση & αντιβιογράμμα
όγκος καλλιερ/ενου αίματος	αξιολόγηση αποτελέσματος
αποστολή στο Εργαστήριο	ενημέρωση της κλινικής

3.2 ΤΡΟΠΟΣ ΛΗΨΕΩΣ ΤΗΣ ΑΙΜΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

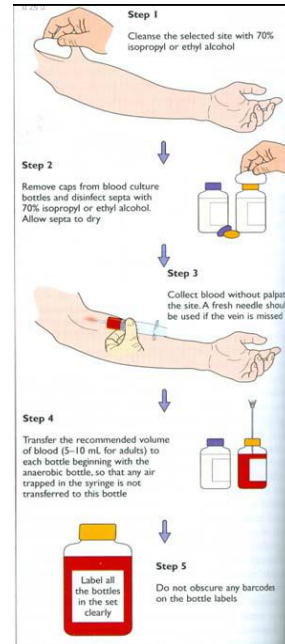
- Επιλογή θέσης προς φλεβοκέντηση

- Ιδανική διαδικασία αντισηψίας:

- 70% ισοπροπυλική ή αιθυλική αλκοόλη
- βάμμα ιωδίου 1-2 % (1') ή ρονιδόνη ιωδίου 10 % (2')
- κυκλικές κινήσεις από το κέντρο προς την περιφέρεια
- το ιώδιο αφήνεται να στεγνώσει
- όχι εκ νέου ψηλάφηση
- φλεβοκέντηση με αποστειρωμένα γάντια
- μετά τη φλεβοκέντηση απομάκρυνση του ιωδίου με αλκοόλη

- Αποστείρωση πώματος φιάλης

- Εισαγωγή του αίματος στη φιάλη με την ίδια βελόνα



Λήψη αίματος από ενδαγγειακούς καθετήρες δεν συνιστάται

- Επιλογή φιάλης αιμοκαλλιέργειας

Ελέγχουμε αν:

- είναι σωστά αποθηκευμένες
- έχουν λήξει
- είναι ακέραιες
- είναι διαυγείς

Συσκευή λήψεως αιμοκαλλιέργειας



ΟΓΚΟΣ ΑΙΜΑΤΟΣ ΠΟΥ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΤΑΙ

- Ενήλικες 10-30 mL (Εξαρτάται από το σύστημα)
- Παιδιά 0.5 –10 mL

- **Κλασσικό σύστημα αιμοκαλλιέργειας**

Όγκος αίματος/όγκο θρεπτικού ζωμού 1:5 - 1:10

Ανακίνηση φιαλών μετά τον εμβολιασμό του αίματος

- **Νεώτερα συστήματα αιμοκαλλιέργειών**

Ακολουθούμε πιστά τις οδηγίες του συστήματος (η αναλογία αίμα/ζωμό διαφέρει μεταξύ των διαφόρων ειδών θρεπτικών ζωμών)

Αποστολή της αιμοκαλλιέργειας στο Εργαστήριο το συντομότερο μαζί με σχετικό παραπεμπτικό που περιλαμβάνει:

- στοιχεία του ασθενή
- ημερομηνία και ώρα λήψης αίματος
- σύντομο ιστορικό ή πιθανή διάγνωση
- φαρμακευτική αγωγή
- ώρα της τελευταίας λήψης αντιβιοτικού

ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΑΠΟΣΤΟΛΗ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΙ ΦΙΑΛΕΣ ΑΙΜΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ:

- δεν τοποθετούνται στο ψυγείο
- διατηρούνται σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι την αποστολή για διάστημα μέχρι 4 ώρες
- μεταφορά με σύστημα για την αποφυγή θραύσης
- όχι σωληνωτά ταχυδρομεία

ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΙ ΦΙΑΛΕΣ ΑΙΜΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ:

- τοποθετούνται στον επωαστικό κλίβανο μέχρι την εισαγωγή στο σύστημα

ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΑΠΟΡΡΙΨΗΣ ΦΙΑΛΩΝ ΑΙΜΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ:

- οι φιάλες χωρίς σήμανση
- οι φιάλες που έχουν σπάσει/ραγίσει
- φιάλες ληγμένες, με μικρή ποσότητα δείγματος, φιάλες που δεν ήταν σε ζεύγη και φιάλες που παρελήφθησαν με καθυστέρηση στο εργαστήριο **ΔΕΝ ΑΠΟΡΡΙΠΤΟΝΤΑΙ!!!** Σημειώνεται το πρόβλημα ώστε να αναφερθεί γραπτά στην απάντηση και να τεθεί το ερώτημα της αξιοπιστίας του αποτελέσματος

ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΙΜΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ & ΧΡΟΝΟΣ ΛΗΨΕΩΣ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ:

Γενικές οδηγίες

- **Χρόνος λήψης:** πριν τη χορήγηση οποιασδήποτε θεραπευτικής αγωγής ή την προκαθορισμένη δόση αντιβιοτικού ή με τα πρώτα σημεία ανόδου του πυρετού
- **Αριθμός αιμοκαλλιέργειών:** 2-3 μέσα στο πρώτο 24ωρο

Ειδικές οδηγίες

- **Οξείες εμπύρετες λοιμώξεις:**
δύο ξεχωριστές αιμοκαλλιέργειες μαζί (μία από κάθε χέρι) αμέσως πριν αρχίσει η θεραπεία
- **Εμπύρετο αγνώστου αιτιολογίας:**
δύο αιμοκαλλιέργειες σε μεσοδιάστημα 45'-1h
(δύο επί πλέον sets αν κριθεί απαραίτητο με τον ίδιο τρόπο μετά 24 – 48 h)
- **Λοίμωξη σχετιζόμενη με καθετήρα:**
ποσοτική καλλιέργεια αίματος (ληφθέντος ταυτόχρονα απ' τον αυλό του καθετήρα & από περιφερική φλέβα)

4. Θρεπτικά υλικά

4.1 ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΥΛΙΚΑ ΣΕ ΦΙΑΛΕΣ ΑΙΜΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΠΟΥ ΕΜΒΟΛΙΑΖΕΤΑΙ ΑΡΧΙΚΑ ΤΟ ΑΙΜΑ

Brain Heart Infusion broth (BHI)	Gram (-) βακτηρίδια, στρεπτόκοκκοι, σταφυλόκοκκοι
Trypticase Soy Broth (TSB)	όπως σε BHI
Soy Casein Digest (SCD)	όπως σε BHI, TSB & μύκητες
Tryptone phosphate broth (TPB)	αναερόβια, Neisseria, Gardnerella
Thioglycolate Broth (TGB)	μικροαερόφιλα, εκλεκτικά αναερόβια, αρκετά αερόβια
Columbia Broth (CB)	αναερόβια & αερόβια βακτήρια
Brucella Broth (BB)	βρουκέλλες, Gram (-) βακτηρίδια κοινά, βραδείας ανάπτυξης & αζυμωτικά

ΟΥΣΙΕΣ ΠΟΥ ΠΡΟΣΤΙΘΕΝΤΑΙ ΣΤΟΥΣ ΘΡΕΠΤΙΚΟΥΣ ΖΩΜΟΥΣ

Παρεμπόδιση πήξης

SPS= sodium polyanethol sulfonate

- Αντισυμπληρωματικές/αντιφαγοκυτταρικές ιδότητες
- Εξουδετέρωση αμινογυκοσιδών, πολυμυξίνης
- Αναστολή *Peptostreptococcus*, *Neisseria*, *Gardnerella*

Εξουδετέρωση αντιβιοτικών

- ρητίνες, ενεργός άνθραξ

Σταθεροποίηση ωσμωτικής πίεσης ζωμού

- σουκρόζη

Διευκόλυνση ανάπτυξης απαιτητικών μικροοργανισμών

- βιταμίνες K1 & B6,
- αιμίνη κυστίνη,
- πυρροβικό οξύ,
- νικοτιναμίδη

5. Συστήματα καλλιέργειών

5.1 Συμβατικό (κλασσικό) σύστημα

Δύο θρεπτικοί ζωμοί (για αερόβια & αναερόβια ή διφασικό υλικό)

- Septi chek
- Signal
- Isolator

5.2 Αυτοματοποιημένα συστήματα νεότερης γενιάς (συνεχούς ελέγχου

- Bact/Alert (BioMerieux)
- BACTEC (Becton Dickinson)
- ESP (Difco)

Αρχή λειτουργίας αυτοματοποιημένων συστημάτων

Από τον μεταβολισμό των μικροοργανισμών παράγεται CO₂ το οποίο προκαλεί πτώση του pH και αλλαγή του χρώματος του φθορίζοντος δείκτη που υπάρχει στον πυθμένα της φιάλης.

$\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^- \rightleftharpoons 2\text{H}^+ + \text{CO}_3^{2-} \rightarrow$ Ενεργοποίηση Αισθητήρα (sensor reaction)

Η αλλαγή μετατρέπεται σε ηλεκτρική ενέργεια και κατόπιν μεταφοράς της σε ηλεκτρονικό υπολογιστή προκύπτει επισήμανση: α) ηχητική β) έντυπη (plot) γ) οπτική

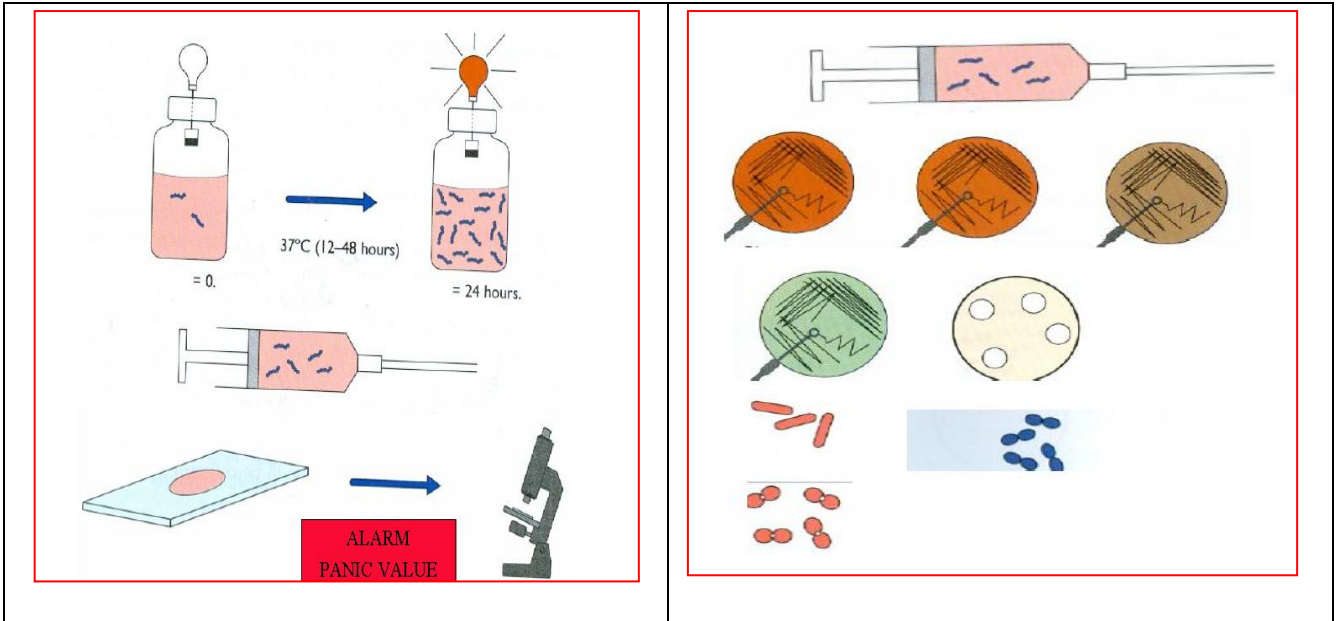
ΣΥΝΗΘΙΣΜΕΝΑ ΑΥΤΟΜΑΤΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΑΙΜΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ

➤ Bact Alert (Biomerieux)

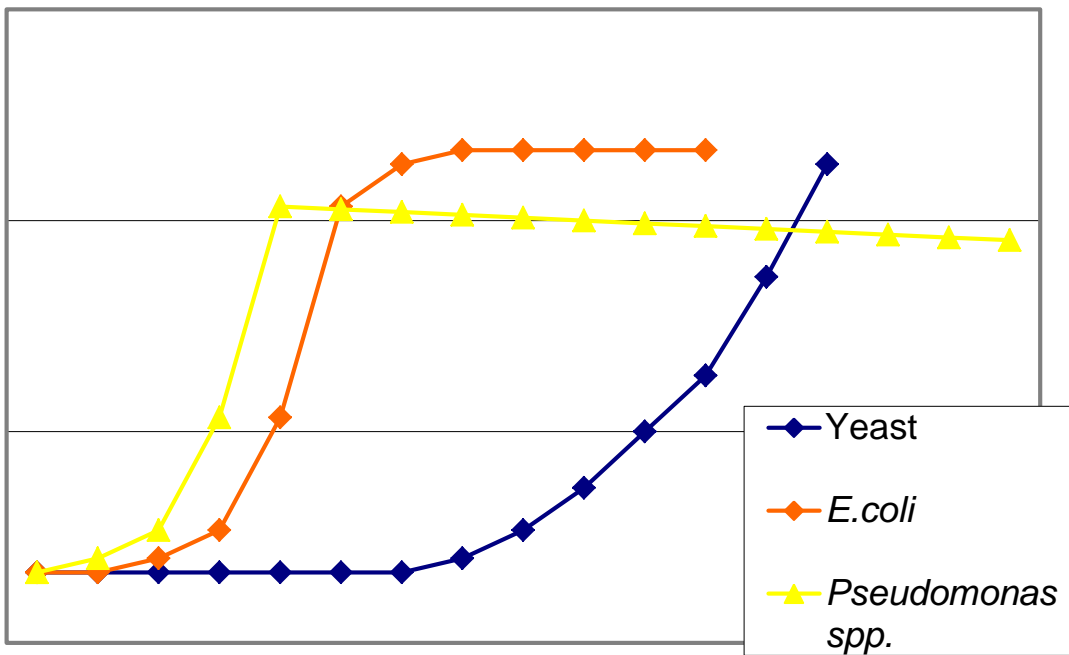


➤ BD BACTEC™ 9000





Καμπύλες ανάπτυξης διαφόρων μικροβίων



6. Τεχνική αιμοκαλλιέργειας

Κλασσικό σύστημα

Επισκόπηση: καθημερινά

Θολερότητα, αιμόλυση, υμένιο, χαλαρή πήξη ζωμού

Άμεσο νωπό & με Gram χρώση

- ανακαλλιέργειες (αερόβια & αναερόβια)
- άμεσο αντιβιογράμμα
- ενημέρωση κλινικής

Τυφλές ανακαλλιέργειες ανεξαρτήτως θολερότητας: Το 1ο 24ωρο, την 3η, 5η ή & 7η ημέρα

Διάρκεια επώασης: 7 μέρες ή έως 1 μήνα για απαιτητικά μικρόβια

Αυτοματοποιημένα συστήματα

- Μικρός όγκος αίματος
- Ποικιλία θρεπτικών ζωμών για ευαίσθητα-απαιτητικά μικρόβια
- Συνεχής ανάδευση των φιαλών
- Συνεχής παρακολούθηση καλλιέργειας
- Ταχύτερη ανίχνευση θετικών (+) καλλιέργειών
- Άμεση ειδοποίηση σε θετική (+) καλλιέργεια
- Μείωση φόρτου εργασίας λόγω μη ανάγκης εκτέλεσης τυφλών ανακαλλιέργειών
- Παράκαμψη εργαστηριακών επιμολύνσεων
- Μειωμένος κίνδυνος μόλυνσης προσωπικού

ΧΡΟΝΟΣ ΕΠΩΑΣΗΣ ΦΙΑΛΩΝ

Κοινά μικρόβια: 5 –7ημέρες

Βρουκέλλες: 1 εβδομάδα

Μύκητες: 10 ημέρες

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΑΙΜΑΤΟΣ ΓΙΑ ΜΥΚΟΒΑΚΤΗΡΙΔΙΑ ΜΕ ΑΥΤΟΜΑΤΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

Bact Alert 3D (Bio Merieux) *MB Bact*

πρωτόκολλο επώασης 42 ημέρες

BACTEC 9000 (Becton Dickinson) *Myco/F Lytic*

πρωτόκολλο επώασης 43 ημέρες

7. Εξοπλισμός

- Αυτοματοποιημένο σύστημα
- Κλίβανος για αερόβια επώαση 35⁰ C
- Κλίβανος για επώαση σε 35⁰ C με 5 % CO₂
- Κλίβανος για αερόβια επώαση 30⁰ C
- Jarr με φάκελλο συνθηκών αναερόβιας επώασης
- Φυγόκεντρος
- Vortex

Για την αιμοκαλλιέργεια χρησιμοποιούνται κυρίως τα Νεώτερα συστήματα. Για τον εμβολιασμό της φιάλης ακολουθούνται πιστά τις οδηγίες του συστήματος διότι η αναλογία αίμα/ζωμό διαφέρει μεταξύ των διαφόρων ειδών θρεπτικών ζωμών. Ο εμβολιασμός γίνεται στην κλινική κατόπιν κατάλληλης αντισηψίας της υπό φλεβοκέντηση περιοχής. Δεν χρειάζεται ανακίνηση των φιαλών. Η φιάλη συνοδεύεται πάντα από παραπεμπτικό με τα στοιχεία του ασθενή, την ημερομηνία, την κλινική και την πιθανή διάγνωση.

8. Δείγμα

Είδος δείγματος

- Αίμα
- Μυελός οστών

9. Μεθοδολογία επί θετικοποίησης της αιμοκαλλιέργειας

Ανασύρουμε τη φιάλη από τον κλίβανο και εκτελούμε:

- Άμεσο (νωπό και κατά Gram)
- Άμεση & υπεύθυνη ενημέρωση της κλινικής (τιμή πανικού)
- Α/α σε στερεά θρεπτικά υλικά
 - Σοκολατόχρωμο (CO₂ 5 % 350 C)
 - Αιματούχο (αεροβίως και αναεροβίως 350 C)
 - McConkey no2 (αεροβίως 350 C)
 - Sabouraud (αεροβίως 300 C)
- Άμεσο αντιβιογράμμα

Την επόμενη ημέρα

1. Ταυτοποίηση μικροοργανισμού με τις συμβατικές μεθόδους του Εργαστηρίου
2. Αντιβιογράμμα

10. Αξιολόγηση αιμοκαλλιέργειας

❖ Πραγματική μικροβιαμιά (>90 %)

S. aureus, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *E. coli*, κ.α. εντεροβακτηριακά, *P. aeruginosa*, *N. meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *H. influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *Bacteroides fragilis* group, *C. albicans* & *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans*

❖ Πιθανή επιμόλυνση (αίτια μικροβιαμιάς < 5 %)

Corynebacterium spp.(εκτός JK), *Bacillus* spp.(εκτός *B. anthracis*) *Propionibacterium acnes*, *Micrococcus* spp, *viridans streptococci*

❖ CNS (Coagulase Negative Staphylococci) (αίτια μικροβιαμιάς 15 %)

ΚΑΤΑ ΠΑΣΑ ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ ΠΑΘΟΓΟΝΟ

- γρήγορη θετικοποίηση Αιμοκαλλιέργειας
- ανάπτυξη μυκήτων, Gram(-) βακτηρίων, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*
- απομόνωση του ίδιου μικροοργανισμού σε πολλές Αιμοκαλλιέργειες

ΚΑΤΑ ΠΑΣΑ ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ ΕΠΙΜΟΛΥΝΣΗ

- αργή θετικοποίηση Αιμοκαλλιέργειας
- ανάπτυξη *Corynebacterium spp*, *Bacillus spp*, CNS
- απομόνωση του μικροοργανισμού μόνο σε μια Αιμοκαλλιέργεια

Βοηθητικά στοιχεία από το Μικροβιολογικό Εργαστήριο

- Χρόνος θετικοποίησης καλλιέργειας
- Αριθμός (+) αιμοκαλλιιεργειών
- Ταυτόσημοι φαινοτυπικοί δείκτες στελεχών

Φαινοτυπικοί δείκτες διαφοροποίησης

- Βιότυπος του στελέχους
- Αντιβιογράμμα
- Ικανότητα παραγωγής *slime*

Συεννόηση με κλινική!

Άμεσο κατά Gram & Ταυτοποίηση

Με τις συμβατικές μεθόδους του Εργαστηρίου

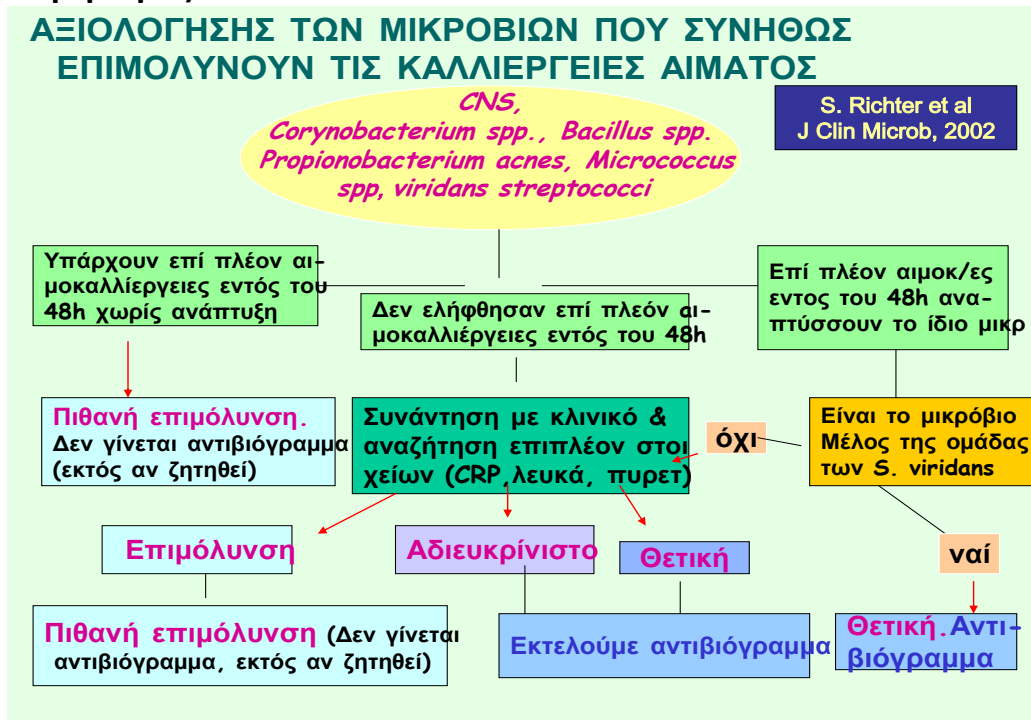
Αποτέλεσμα

Ουδεμία ανάπτυξη

Θετική π.χ. αναπτύχθηκε *S. pneumoniae* + αντιβιογράμμα

Πιθανή επιμόλυνση ή Αδιευκρίνιση π.χ αναπτύχθηκε *Lactobacillus spp*.

Αλγόριθμος



ΨΕΥΔΩΣ ΑΡΝΗΤΙΚΗ ΑΙΜΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ

- ο σε περιπτώσεις κακών συνθηκών κατά τη λήψη και τη πραγματοποίηση της λήψης σε χρονική στιγμή που η βακτηριαμία δεν είναι αρκετή για να δώσει θετικό αποτέλεσμα
- ο σε προηγούμενη λήψη αντιμικροβιακής θεραπείας
- ο σε παρουσία μικροοργανισμών με «αρνητική» αιμοκαλλιέργεια ή μη ανάπτυξης στα συνήθη υλικά

Παράμετροι διασφάλιση ποιότητας των αποτελεσμάτων των σύγχρονων συστημάτων αιμοκαλλιεργείων

- Θετικές αιμοκαλλιέργειες: $\geq 8 \%$
- Ψευδώς αρνητικές: $\leq 0.5 \%$
- Ψευδώς θετικές: $\leq 2 \%$
- Επιμολύνσεις: $\leq 3 \%$

11. ΒΑΚΤΗΡΙΑΙΜΙΑ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΚΑΘΕΤΗΡΑ

- ο κλινική εικόνα λοίμωξης (πυρετός, υπόταση, ρίγος)
- ο δεν ανευρίσκεται άλλη εστία λοίμωξης
- ο μια τουλάχιστον θετική Αιμοκαλλιέργεια από περιφερική φλέβα
- ο απομόνωση του ίδιου μικροοργανισμού σε δείγμα του καθετήρα ή σε αίμα που ελήφθη δια μέσω του καθετήρα

Η μικροβιολογική τεκμηρίωση είναι πολύ σημαντική δεδομένου ότι η κλινική διάγνωση βασίζεται σε μη ειδικά συμπτώματα όπως πυρετό και ρίγος
Η τεκμηρίωση της λοίμωξης είναι κριτικής σημασίας γιατί πολλές φορές αποτελεί ένδειξη αφαίρεσης του καθετήρα

Μικρόβια που απομονώνονται:

<i>S. epidermidis</i> κ.α. CNS	Enterobacteriaceae
<i>Corynebacterium spp</i> (JK, D-2)	<i>Candida albicans</i> , <i>Candida spp</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Pseudomonas</i>
<i>Streptococci</i>	<i>Aspergillus spp</i>
<i>Enterococci e</i>	<i>Acinetobacter sp.</i>
<i>Bacillus spp</i>	<i>Fusarium spp,</i>
	<i>Malassezia furfur</i>

ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΩΝ ΜΕ ΚΑΘΗΤΗΡΕΣ

A. ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΜΕ ΑΦΑΙΡΕΣΗ ΤΟΥ ΚΑΘΗΤΗΡΑ

○ Ημιποσοτική καλλιέργεια καθετήρα

Μέθοδος Maki:

Αφαιρείται με άσηπτες συνθήκες ο καθετήρας, και το άκρο του καθετήρα μεταφέρεται στο εργαστήριο σε στείρο, ευρύστομο, κλειστό δοχείο και καλλιεργείται σε αιματούχο άγαρ ρολλάροντας την εξωτερική επιφάνεια του καθετήρα στην επιφάνεια του άγαρ (επώαση 72h στους 37°C)

Ειδικότητα 76 –96 % θετική προγνωστική αξία 16 – 31 %

ΘΕΤΙΚΗ: cfu > 15 / τρυβλίο



○ Ποσοτική καλλιέργεια καθετήρα

Μέθοδος Cleri:

Αφαιρείται με άσηπτες συνθήκες ο καθετήρας, και το άκρο του καθετήρα μεταφέρεται στο εργαστήριο σε στείρο, ευρύστομο, κλειστό δοχείο. Εκπλένεται ο αυλός του άκρου του καθετήρα με 1ml κοινό ζωμό και επώαζεται για 2h εντός του ζωμού στους 37°C. Στη συνέχεια ανακινούμε στο vortex και ενοθφαλμίζουμε 100μl σε αιματούχο άγαρ (τάπητας) (επώαση 72h στους 37°C)

Ευαισθησία 95 %, ειδικότητα 76 %

ΘΕΤΙΚΗ: cfu > 1000 /mL

B. ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΣΕ ΠΑΡΑΜΟΝΗ ΤΟΥ ΚΑΘΕΤΗΡΑ

- Απομόνωση του ίδιου μικροοργανισμού σε δύο δείγματα:
 1. Αιμοκαλλιέργεια από περιφερική φλέβα
 2. Αιμοκαλλιέργεια σε αίμα που ελήφθη δια μέσω του καθετήρα
- Ποσοτική καλλιέργεια περιφερικού αίματος και αίματος από τον καθετήρα
- Υπολογισμός διαφοράς χρόνου θετικοποίησης των δύο Αιμοκαλλιεργειών

12. Έλεγχος Ποιότητας

α. Εσωτερικός ποιοτικός έλεγχος : Γίνεται κάθε μήνα κατόπιν ανακαλλιέργειας πρότυπων στελεχών σε αντίστοιχα θρεπτικά υλικά για κάθε μικροβιακό στέλεχος.

β. Εξωτερικός ποιοτικός έλεγχος : Γίνεται μέσω του συστήματος NEQAS United Kingdom (National External Quality Assessment Service). Λυοφιλοποιημένα στελέχη περιεχόμενα σε συγκεκριμένα βιολογικά δείγματα ανασυσταίνονται σε θρεπτικό ζωμό και καλλιεργούνται σε στερεά θρεπτικά υλικά ανάλογα με το είδος του δείγματος. Αναζητούνται τα παθογόνα μικρόβια και ταυτοποιούνται ανάλογα, με ταυτοποιητικά συστήματα (API, Crystal BBL, VITEK).

13. Βιβλιογραφία

1. Clinical microbiology procedures handbook. Procedures Guidelines for the Microbiology Laboratory Henry D. Isenberg, American Society for Microbiology. 2d ed 2010
2. Standard Operating Procedure(SOP) for Microbiology Laboratory from National Standard Methods Health Protection Agency. London, UK
3. Αρσένη-Εμμανουηλίδου, Α. 1982. *Ιατρική Μικροβιολογία: Θεωρία-Πράξη*. Σελ. 228-299. Εκδόσεις: Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας. Αθήνα.
4. Χριστάκης, Γ. Β., και Ν. Ι. κ. Λεγάκης. 2002. *Κλινική Μικροβιολογία και Λοιμώξεις*. Εκδόσεις: Παρισιάνου. Αθήνα.
5. Αντωνιάδης Α., Ν. Ι. κ. Λεγάκης. 2005. *Ιατρική Μικροβιολογία*. Εκδόσεις Πασχαλίδη. Αθήνα.
6. Χαρβάλου Αικατερίνη. Πρωτόκολλα Κλινικής Μικροβιολογίας. Σύνοψη εργαστηριακής προσπέλασης βακτηριακών λοιμώξεων. Εκδόσεις Πασχαλίδη. 2007.
7. Miller, J.M., 1999. *A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology*, 2nd Edition. American Society for Microbiologists, Washington D.C. Health ptotection Agency, 2012
8. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover, 1999. *Manual of Clinical Microbiology*, 7th Edition. American Society for Microbiologists, Washington D.C.
9. Quest Diagnostic - Specimen Collection Guide. March 2001. By Quest Diagnostic
10. Koneman E.W., A. S. D., Janda W.M. and Schreckenberger P.C. 2005. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Editors: Koneman E.W., Allen S.D., Janda W.M., Schreckenberger P.C. and Winn W.C. 6th edition. J.B. Lippincott Company: Philadelphia.
11. Clinical microbiology procedures handbook. Procedures Guidelines for the Microbiology Laboratory Henry D. Isenberg, American Society for Microbiology. 2010.
12. Mandell, G.L., Bennett, J.E. & Dolin, R., *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th edn, 2010. Churchill Livingstone, New York.