

ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΟΔΗΓΟΣ

Το παρόν βοήθημα σχεδιάστηκε για μικροβιολόγους και τεχνολόγους που εργάζονται σε διαγνωστικά εργαστήρια, με σκοπό την καθοδήγησή τους όταν έρχονται αντιμέτωποι με ερωτήματα που σχετίζονται με συγκεκριμένα μικρόβια, όπως:

1. Ιδιαίτερα ταυτοποιητικά χαρακτηριστικά μικροβίων
2. Εάν μπορεί να γίνει έλεγχος ευαισθησίας
3. Παροχή πληροφοριών για τις θεραπείες εκλογής
4. Ταυτοποίηση απαιτητικών οργανισμών με τη χρήση λίγων απλών δοκιμασιών

Το βοήθημα χωρίζεται σε τρία μέρη.

Το Πρώτο Μέρος περιέχει έναν πίνακα, όπου αναφέρεται η αναμενόμενη ακρίβεια του αποτελέσματος ενός αυτοματοποιημένου συστήματος ταυτοποίησης. Ακολουθούν 13 αλγόριθμοι, με βάση τους οποίους τα άγνωστα κλινικά στελέχη κατατάσσονται αδρά σε ομάδες, για περαιτέρω έλεγχο. Οι γραμμές του αλγορίθμου ερμηνεύονται ως εξής: βέλος προς τα δεξιά σημαίνει «ΝΑΙ ή ΘΕΤΙΚΟ», και βέλος προς τα κάτω «ΟΧΙ ή ΑΡΝΗΤΙΚΟ».

Το Δεύτερο Μέρος περιέχει ορισμένες παραμέτρους ελέγχου της ευαισθησίας και τους περιορισμούς της. Περιέχονται επίσης ορισμένες παρατηρήσεις, που γίνονται στον πάγκο, τις οποίες πρέπει να γνωρίζουν οι τεχνολόγοι και οι μικροβιολόγοι, που εργάζονται στη ρουτίνα και παρατηρούν τα ειδικά, ασυνήθιστα ή ιδιαίτερα χαρακτηριστικά ορισμένων στελεχών. Περιλαμβάνεται επίσης ένας πίνακας, όπου αναφέρονται τα στελέχη που αναμένεται ή ενδέχεται να απομονωθούν από τις συχνότερα απαντώμενες λοιμώξεις.

Το Τρίτο Μέρος είναι ένας εκτεταμένος πίνακας των οργανισμών και των κλασικών τους χαρακτηριστικών, συμπεριλαμβανομένων των παλαιότερων ονομάτων τους, των συνιστώμενων μεθόδων ελέγχου της ευαισθησίας

τους, των φαρμάκων που χορηγούνται, ως εμπειρική θεραπεία και άλλων περιορισμών και πληροφοριών που έχουν ενδιαφέρον. Η επιλογή και η χορήγηση του θεραπευτικού σχήματος είναι ευθύνη του κλινικού γιατρού. Ο πίνακας αυτός δεν κάνει συστάσεις για τη θεραπεία, αλλά ενημερώνει τους εργαστηριακούς ιατρούς για τις πιθανές θεραπευτικές επιλογές που έχει σε κάθε περίπτωση ο κλινικός γιατρός. Λεπτομερέστερες πληροφορίες, σχετικά με τη θεραπεία υπάρχουν σε άλλα συγγράμματα (39,66). Δυστυχώς, τόσο η ονοματολογία όσο και η ταξινόμηση των μικροβίων αποτελούν κινούμενους στόχους, και τα ονόματα γένους και είδους αλλάζουν συχνά. Ακόμη κι έτσι όμως, ορισμένες αλλαγές στην ονοματολογία μπορεί να μην χρησιμοποιηθούν αμέσως στην κλινική πράξη, ενώ άλλες εφαρμόζονται πιο γρήγορα. Ο «Οδηγός» δεν αποτελεί κείμενο αναφοράς για την ταξινόμηση ενός μικροοργανισμού. Για το σκοπό αυτό, ο αναγνώστης παραπέμπεται στη βιβλιογραφία ή σε ενημερωμένες πηγές, όπως ο δικτυακός τόπος www.bacterio.cict.fr/index.html "List of procaryotic names with standing in nomenclature". Άλλοι διαδικτυακοί τόποι, από τους οποίους αντλήθηκαν πληροφορίες, κυρίως για ιούς και παράσιτα, για την κατασκευή των αντίστοιχων πινάκων, περιλαμβάνουν το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (CDC) στη διεύθυνση www.cdc.gov. Στοιχεία για τους μύκητες ελήφθησαν από την ιστοσελίδα Doctor Fungus www.doctorfungus.com και οι περιγραφές, καθώς και τα στοιχεία για την αντοχή χρησιμοποιούνται με άδεια των συγγραφέων. Στους πίνακες αναφέρονται μόνο τα κύρια σημεία, υπάρχουν ωστόσο αναλυτικότερες πηγές πληροφοριών για τις ορολογικές δοκιμασίες (29).

Για να χρησιμοποιήσετε αποτελεσματικά όλους τους αλγορίθμους, χρειάζεστε τα ακόλουθα αντιδραστήρια και αναλώσιμα: καταλάση, οξειδάση, ζωμό 6.5% NaCl, δίσκους πυρρολιδονυλο-αρυλαμιδάσης (PYR), δίσκους λευκινο-αμινοπεπτιδάσης (LAP), εσκουλίνη, δίσκους βανκομυκίνης, θρεπτικό υλικό για έλεγχο ζύμωσης/οξειδωσης (OF) γλυκόζης, κεκλιμένο άγαρ TSI (Triple Sugar Iron), οξεάντοχη χρώση, υλικό ελέγχου της κινητικότητας, ζωμός ξυλόζης ή τρεχαλόζης, κεκλιμένο άγαρ φαινυλαλανίνης, ζωμό σουκρόζης, δίσκοι πολυμυξίνης Β, αντιδραστήριο ινδόλης, κεκλιμένο άγαρ ουρίας, ζωμό νιτρικών, ζωμό μαννιτόλης, αποκαρβοξυλάση της λυσίνης, ζωμό λακτόζης, ζωμό μαλτόζης, δίσκοι ή ταινίες X/V, θρεπτικό υλικό BCYE για τη Legionella, και ζωμός Brain heart infusion με ορό. Το εάν θα χρησιμοποιήσετε όλους τους πίνακες εξαρτάται αυστηρώς από εσάς. Επιπλέον, ορισμένα από τα συστατικά μπορούν να ληφθούν από αυτοματοποιημένα όργανα, αλλά με προσοχή και περίσκεψη.

Αλγόριθμοι ταυτοποίησης οργανισμών

Οι αλγόριθμοι είναι τροποποιημένοι από την 8η έκδοση του Manual of Clinical Microbiology.

Όλοι οι εργαστηριακοί ιατροί θα επιθυμούσαν εύχρηστα μηχανήματα ή απλούς αλγορίθμους ταυτοποίησης, που οδηγούν ταχύτατα στη σωστή ταυτοποίηση του είδους. Μέχρι πριν από λίγα χρόνια, ο αριθμός των ειδών

που θεωρούνταν ιατρικώς σημαντικά ήταν μικρός, επιτρέποντας τη δημιουργία τέτοιων αλγορίθμων. Με την εισαγωγή των μοριακών μεθόδων και τη συνακόλουθη ευκολία πλήρους εκτίμησης μιας δεδομένης ταξινόμησης ομάδας, ο αριθμός των γενών και ειδών που αντιμετωπίζουμε σε ημερήσια βάση αυξήθηκε εκρηκτικά, καθιστώντας δύσκολη τη δημιουργία και ακόμη δυσκολότερη την ερμηνεία αλγορίθμων. Οι ακόλουθοι αλγόριθμοι προέρχονται από την 8η και 9η έκδοση του Manual of Clinical Microbiology, με ορισμένες τροποποιήσεις και βασίζονται σε θετικές «ναι» ή αρνητικές «όχι» απαντήσεις. Οι αλγόριθμοι αυτοί πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με άλλες δοκιμασίες αλλά και με την κρίση μας, ενώ σπανίως μπορούν να λειτουργήσουν ως απόλυτα ακριβείς μέθοδοι ταυτοποίησης. Στην καλύτερη περίπτωση, μας βοηθούν να αποφασίσουμε το επόμενο μας βήμα ή την επόμενη απόφαση και πιθανόν να μας οδηγούν στον αποκλεισμό ορισμένων οργανισμών.

Οργανισμός	Έκταση ταυτοποίησης / Σχόλια
Gram-θετικά βακτηρίδια	Αποδεχθείτε αναφορές με αξιοπιστία 90% ή περισσότερο, αλλά επιβεβαιώστε με μορφολογία αποικιών και δοκιμασίες ελέγχου ευαισθησίας. Απευθυνθείτε σε εργαστήρια αναφοράς. Βλέπε Αλγόριθμο 1.
Gram-θετικοί κόκκοι	Αποδεχθείτε αναφορές με αξιοπιστία 90% ή περισσότερο, αλλά επιβεβαιώστε με δοκιμασίες ελέγχου ευαισθησίας. Κανένα αυτοματοποιημένο σύστημα δεν έχει μεγάλη ακρίβεια για τους πρασινίζοντες στρεπτοκόκκους. Αποφύγετε την ταυτοποίησή τους με αυτοματοποιημένα συστήματα, μέχρι η βιβλιογραφία να δείξει αξιόλογη ακρίβεια. Βλέπε Αλγόριθμο 2.
Gram-αρνητικοί διπλόκοκκοι, οξειδάση θετικοί	Πρέπει να υπάρχει αξιοπιστία 90% ή περισσότερο. Αν όχι, χρησιμοποιείτε εναλλακτικές μεθόδους. Οι DNA ανιχνευτές ή PCR ίσως δίνουν καλύτερα αποτελέσματα για τη <i>Neisseria gonorrhoeae</i> . Βλέπε Αλγόριθμο 3.
Αναερόβια	Βλέπε Αλγορίθμους 4 και 5
Gram-αρνητικά βακτηρίδια ή κοκκοβακτηρίδια, οξειδάση αρνητικά (Εντεροβακτηριακά)	Αποδεχθείτε αναφορές από το αυτοματοποιημένο μηχάνημα ταυτοποίησης, αν η αξιοπιστία που δίνει είναι ή 95%περισσότερο. Αν είναι μικρότερη, επιβεβαιώστε με μια επιπλέον μέθοδο, εάν δεν επιβεβαιώνονται από τη μορφολογία των αποικιών και τον έλεγχο της ευαισθησίας στα αντιβιοτικά. Βλέπε Αλγόριθμο 6.
Gram-αρνητικά κοκκοβακτηρίδια βακτηρίδια, οξειδάση θετικά (αζιμωπικά ή μικρόβια αυξημένων διατροφικών απαιτήσεων)	Για τα αζιμωπικά βακτηρίδια, αποδεχθείτε αναφορές ή με αξιοπιστία 85% ή μεγαλύτερη. Αν είναι μικρότερη, επιβεβαιώστε με εναλλακτική μέθοδο. Αν δεν είστε απόλυτα βέβαιοι για το αποτέλεσμα, χρησιμοποιήστε ειδικά θρεπτικά υλικά ή αποστείλατε σε εργαστήρια αναφοράς, για ταυτοποίηση. Τα αποτελέσματα της ταυτοποίησης για πολλά στελέχη αυξημένων διατροφικών απαιτήσεων, ενδέχεται να είναι λανθασμένα. Βλέπε Αλγορίθμους 7,8 και 9.

Βακτήρια

Αλγόριθμος 1. Αερόβια, gram-θετικά βακτηρίδια

Αλγόριθμος 2. Gram-θετικοί κόκκοι σε ομάδες

Αλγόριθμος 3. Gram-θετικοί κόκκοι σε ζεύγη και αλυσίδες (καταλάση-αρνητικοί)

Αλγόριθμος 4. Αναερόβια: βακτηρίδια

Αλγόριθμος 5. Αναερόβια: κόκκοι

Αλγόριθμος 6. Gram-αρνητικά βακτηρίδια, που αναπτύσσονται καλά σε αιματούχο άγαρ, συμπεριλαμβανομένων των ζυμώντων τη γλυκόζη

Αλγόριθμος 7. Μη ζυμώντα τη γλυκόζη που αναπτύσσονται καλά σε αιματούχο άγαρ

Αλγόριθμος 8. Οξειδάση-θετικά, μη ζυμώντα τη γλυκόζη gram-αρνητικά βακτηρίδια

Αλγόριθμος 9. Gram-αρνητικά βακτηρίδια με πτωχή ή καθόλου ανάπτυξη σε αιματούχο άγαρ

Μύκητες

Αλγόριθμος 10. Μυκητολογία

Παρασιτολογία

Αλγόριθμος 11. Εντερικές αμοιβάδες

Αλγόριθμος 12. Μαστιγοφόρα του εντέρου

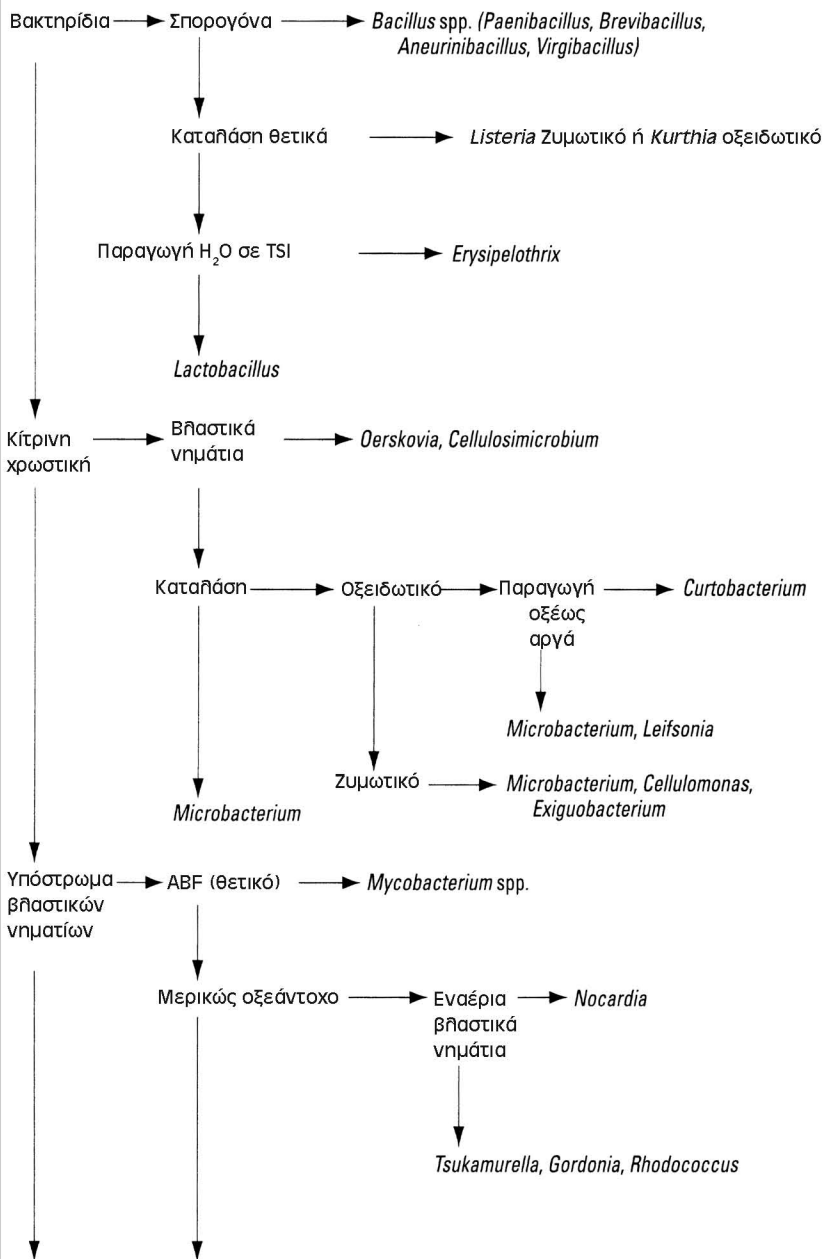
Αλγόριθμος 13. Ωάρια ελμίνθων

Οι συντομογραφίες που χρησιμοποιούνται στους αλγόριθμους είναι οι ακόλουθες: AFB Οξεάντοχα βακτηρίδια, AM αμπικιλίνη, BBE Άγαρ βακτηριδίων με εσκουλίνη χοληφόρων, BCYE Εκχύλισμα μυκήτων με ρυθμιστικό διάλυμα άνθρακα, BHI θρεπτικός ζωμός εγκαφάλου-μυοκαρδίου, LAP αμινοπεπτιδάση λευκίνης, MAC Mac Conkey άγαρ, Οξειδωτικός ζυμωτικός θρεπτικός ζωμός, ONPG ο-νιτροφαινυλ-β-γαλακτοπυρανοσίδη, PYR αρυλαμιδάση πυρρολιδόνης, TSI σιδηρούχο άγαρ τρισακχαρίτη, X/V παράγοντες ανάπτυξης για Haemophilus.

Σημείωση: στους αλγόριθμους το οριζόντιο βέλος σημαίνει «ΝΑΙ» ή θετικό και το κάθετο βέλος «ΟΧΙ» ή αρνητικό.

Αλγόριθμος 1

Αερόβια, gram-θετικά βακτηρίδια



(συνέχεια)