

Βακτηριαιμίες, Βακτηριαιμία-συνδεόμενη με καθετήρες

Ελένη Πρίφτη

Βιοπαθολόγος-κλινική μικροβιολόγος
Διευθύντρια Μικροβιολογικού Τμήματος Γ.Ν.Α
«Αλεξάνδρα»

Εισαγωγή

Η ανίχνευση βακτηριαιμίας ή μυκηταιμίας αποτελεί την πλέον σημαντική εξέταση που εκτελεί ένα μικροβιολογικό εργαστήριο διότι:

- Θέτει την εργαστηριακή διάγνωση της σήψης
- Συμβάλλει στην επιλογή του κατάλληλου αντιβιοτικού
- Βοηθά στην μείωση της θνητότητας

Ορισμοί (I)

- **Βακτηραιμία ή μυκηταιμία** ορίζεται η παρουσία ζώντων βακτηρίων ή μυκήτων στην κυκλοφορία του αίματος
- **Σύνδρομο συστηματικής φλεγμονώδους απάντησης** (Systemic Inflammatory Response Syndrome-SIRS) είναι η απάντηση του ξενιστή σε λοιμώδεις ή μη παράγοντες (τραύμα, έγκαυμα κ.λπ.) και χαρακτηρίζεται από την παρουσία 2 ή περισσότερων από τα ευρήματα:
 - Θερμοκρασία $>38^{\circ}\text{C}$ ή $<36^{\circ}\text{C}$
 - Ταχυκαρδία >90 σφίξεις /min
 - Ταχύπνοια >20 αναπνοές/min ή $\text{paCO}_2 < 4,3$ KPa
 - Λευκά αιμοσφαίρια στο περιφερικό αίμα $>12.000/\mu\text{l}$ ή $<4.000/\mu\text{l}$ ή $>10\%$ άωρες μορφές

Ορισμοί (II)

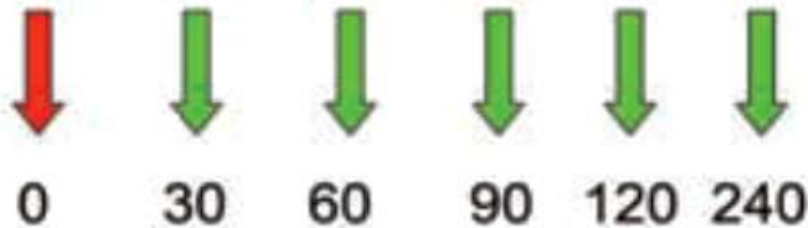
- **Σήψη** ορίζεται το SIRS που με θετικές αιμοκαλλιέργειες αποδεικνύεται ότι οφείλεται σε λοίμωξη
- **Σοβαρή σήψη** είναι η σήψη που συνοδεύεται από οργανική δυσλειτουργία τουλάχιστον ενός οργάνου
- **Σηπτικό shock** είναι η βαριά σήψη που συνοδεύεται από βαριά υπόταση (<60 mmHg) παρά την χορήγηση υγρών ή/και αγγειοδραστικών παραγόντων
- **Πολλαπλή οργανική δυσλειτουργία** με αποτέλεσμα την αδυναμία διατήρησης της ομοιόστασης σε οξέως πάσχοντα ασθενή μετά από σοβαρή σήψη ή σηπτικό shock

Διάκριση βακτηριαιμιών

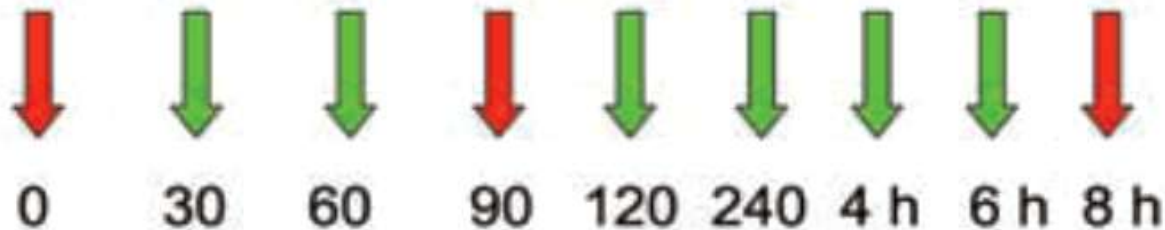
- Ανάλογα με την προέλευση του μικροοργανισμού
 - Νοσοκομειακή
 - Εξωνοσοκομειακή
- Ανάλογα με την εντόπιση εστίας λοίμωξης
 - Πρωτοπαθής
 - Βακτηριαιμία συνδεδεμένη με ενδαγγειακούς καθετήρες
 - Δευτεροπαθής: εντοπισμός εστία λοίμωξης (πνευμονία, πυελονεφρίτιδα κ.λπ)
- Ανάλογα με την διάρκεια
 - Παροδική
 - Μετά εργασίες στα δόντια, χειρισμούς σε περιοχές με χλωρίδα
 - Περιοδική
 - Διαλείπουσα απόφραξη του ουροποιητικού συστήματος και των χοληφόρων, ενδοκοιλιακό απόστημα που δεν έχει παροχετευτεί
 - Συνεχής
 - Ενδαγγειακές λοιμώξεις (ενδοκαρδίτιδα, θρομβοφλεβίτιδα), πρώτες εβδομάδες τυφοειδούς πυρετού και στη βρουκέλλωση

Σχηματική απεικόνιση βακτηραιμίας ανάλογα με την διάρκεια

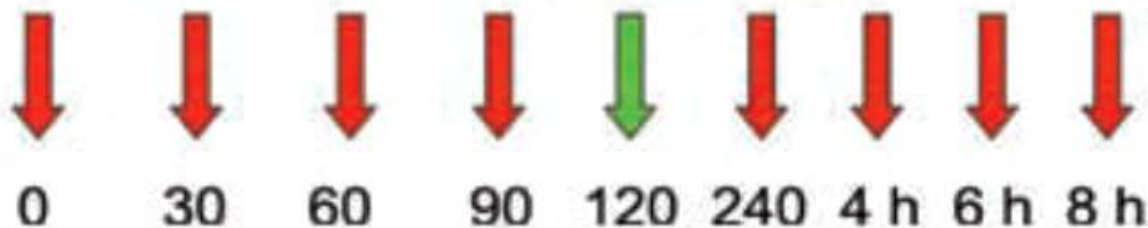
Transient bacteremia → tooth brushing, biopsy



Intermittent bacteremia → abscess



Persistent/sustained bacteremia → intravascular



Επιδημιολογία

Στατιστικά δεδομένα από τις ΗΠΑ δείχνουν ότι:

- Οι βακτηριαιμίες αποτελούν την 10η αιτία θανάτου
- Οι νοσοκομειακές βακτηριαιμίες ξεπερνούν το 50% του συνόλου
- Συχνότερη αιτία νοσοκομειακής νοσηρότητας και θνητότητας
 - Η επίπτωση των νοσοκομειακών βακτηριαιμιών υπολογίζεται σε 250.000 περιπτώσεις /έτος
 - Η θνητότητα κυμαίνεται από 16% έως 50%
 - Στους ασθενείς των μονάδων εντατικής θεραπείας υπολογίζεται περίπου στο 35%
 - Στην Ευρωπαϊκή μελέτη SOAP για όλους τους ασθενείς με σήψη ανέρχεται στο 36%

Προδιαθεσικοί παράγοντες

- **Υποκείμενες χρόνιες νόσοι** (κακοήθειες, διαβήτης, εκκολπωματίτις, χολοκυστίτις, αλκοολισμός)
- **Ακραίες ηλικίες** (ηλικιωμένοι άνδρες, νεογνά, βρέφη, παιδιά)
- Θεραπεία με **κυτταροτοξικά ή στεροειδή**
- **Νοσηλεία σε νοσοκομείο**
 - Τμήμα νοσηλείας
 - Διάρκεια νοσηλείας
- Παρουσία **ουροκαθετήρα**
- Παρουσία **κεντρικών αγγειακών καθετήρων**
- Ολική **παρεντερική διατροφή**

Πηγή βακτηρίων

Η εστία λοίμωξης στην δευτεροπαθή βακτηριαμία εντοπίζεται στο:

- Κατώτερο αναπνευστικό σύστημα
- Ανώτερο ουροποιητικό σύστημα
- Γαστρεντερικό σύστημα
- Οστά και αρθρώσεις
- Δέρμα και μαλακά μέρη

Αίτια βακτηριαμίας

Συχνότερα αίτια βακτηριαμίας

- Gram-θετικά βακτήρια
 - *S. aureus*
 - CoNS
 - *Enterococci spp*
- Gram-αρνητικά βακτήρια
 - *E. coli*
 - *K. pneumoniae*
 - *P. aeruginosa*
 - *Acinetobacter spp*
- Μύκητες
 - *Candida spp*
- Αναερόβια βακτήρια
- Πολυμικροβιακά

Συνήθη αίτια κατά ομάδες ασθενών

- **Ανοσοεπαρκείς ενήλικες**

E. coli, S. pneumoniae, S. aureus, άλλα εντεροβακτηριακά, N. meningitidis, β-haemolytic streptococci

- **Νοσοκομειακοί ασθενείς**

CoNS, E. coli, S. aureus, άλλα εντεροβακτηριακά, P. aeruginosa, Enterococci

- **Παιδιά**

S. pneumoniae, N. meningitidis, S. aureus, E. coli

- **Νεογνά**

GBS, CoNS, E. coli, Candida spp.

Εργαστηριακή διάγνωση

- Καλλιέργεια αίματος
- Μη καλλιεργητικές μέθοδοι
 - Limulus test
 - Μοριακές τεχνικές
 - LightCycler PCR (SeptiFast Test)
 - In situ hybridization
 - MALDI-TOF mass spectrometry
 - DNA probes

Συλλογή δείγματος αιμοκαλλιέργειας

- Συνιστώμενος όγκος αίματος
- Χρόνος λήψης και αριθμός αιμοκαλλιιεργειών
- Αντισηψία δέρματος και φλεβοκέντηση

Όγκος αίματος

| Ηλικία-Βάρος | Συνολικός όγκος αίματος | Αριθμός φιαλών |
|--------------------------|------------------------------------|--|
| Νεογνά-1 έτος (<4 kg) | 0,5-1,5 ml/φιάλη | 1 φιάλη με μία φλεβοκέντηση |
| Παιδιά 1-6 ετών | 1-6 ml (1ml/έτος) | 2 φλεβοκεντήσεις, 1 φιάλη κάθε φορά |
| Παιδιά 14-36 kg | 10-20 ml | Λαμβάνεται σε 2 αιμοκαλλιέργειες |
| Ενήλικες ή παιδιά >36 kg | 30-40 ml (τουλάχιστον 20-30 ml) | Λαμβάνεται σε 2 αιμοκαλλιέργειες |

Χρόνος λήψης αιμοκαλλιεργείων

- Βασικός παράγοντας για τον χρόνο συλλογής του αίματος είναι η **γενική κατάσταση** του ασθενούς και πόσο μπορεί να καθυστερήσει η έναρξη της αγωγής
- Καταλληλότερος χρόνος για την λήψη είναι **πριν ή κατά την άνοδο του πυρετού**

Τα μικρόβια σε μη συνεχή βακτηριαιμία εισέρχονται στην κυκλοφορία 30 λεπτά έως 1 ώρα πριν την κορύφωση του πυρετού και την εμφάνιση του ρίγους

Αριθμός αιμοκαλλιεργείων και ανίχνευση βακτηριαμίας

- Με 2 ζεύγη επιτυγχάνεται ανάπτυξη σε 82-90 % των περιπτώσεων
- Με 3 σε 96-98% των περιπτώσεων
- Με 4 σε άνω του 99% των περιπτώσεων
 - Ένα ζεύγος δεν ενδείκνυται για ενήλικες διότι η ευαισθησία είναι χαμηλή (73%) και δεν μπορεί να αξιολογηθεί η ανάπτυξη μικροβίων της χλωρίδας

Αριθμός και χρόνος λήψης αιμοκαλλιεργείων

- Σε **οξεία σήψη** ή καταστάσεις που χρειάζεται άμεση χορήγηση αντιβιοτικών λαμβάνονται **2-3 καλλιέργειες** αίματος με τον μέγιστο όγκο, **ταυτόχρονα ή με διαφορά λίγων λεπτών** με διαφορετικές φλεβοκεντήσεις πριν την αγωγή
- Σε **κλινικά σταθερό ασθενή** ο οποίος ερευνάται για πυρετό άγνωστης αιτιολογίας, υποξεία βακτηριδιακή ενδοκαρδίτιδα ή συνεχή βακτηριαιμία ή μυκηταιμία άλλης αιτιολογίας, λαμβάνονται **3-4 ζεύγη** αιμοκαλλιεργείων (σε μεσοδιάστημα 4-6 ωρών) με τον μέγιστο όγκο μέσα σε **24 ώρες**
- Εάν ήδη λαμβάνει **αντιμικροβιακή αγωγή** η συλλογή γίνεται όταν τα φάρμακα στην κυκλοφορία βρίσκονται στην μικρότερη συγκέντρωση, δηλαδή **λίγο πριν την επόμενη δόση**

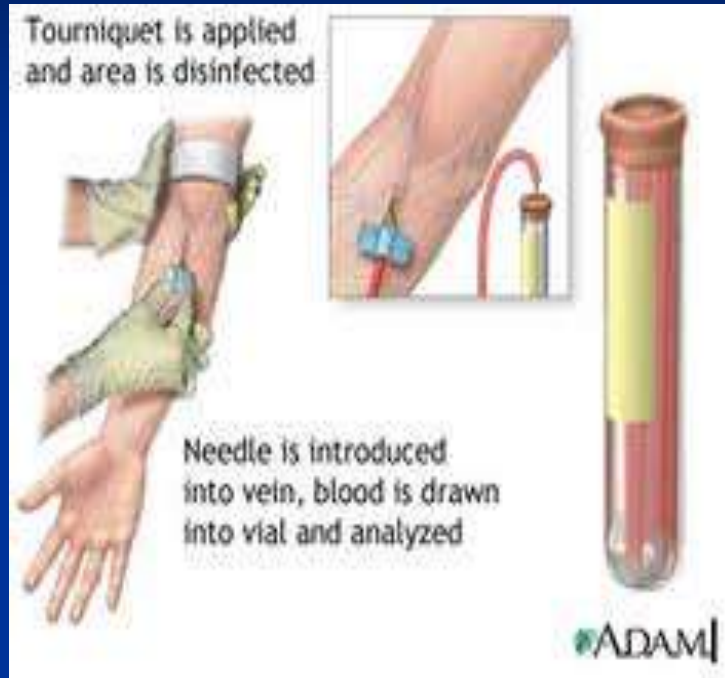
Αντισηψία δέρματος

- Το δέρμα (σε περιοχή περίπου 5 cm) καθαρίζεται με 70% **ισοπροπυλική ή αιθυλική αλκοόλη** και αφήνεται να στεγνώσει (για 30-60 sec)
- Ακολούθως απλώνεται διάλυμα 0,5-2% **χλωρεξιδίνης σε ισοπροπυλική αλκοόλη ή βάμμα ιωδίου**, κάνοντας ομόκεντρους κύκλους γύρω από το σημείο της αιμοληψίας και αφήνεται για 1 min
- Χρησιμοποιούνται επίσης ιωδοφόρα π.χ. povidone iodine, αλλά χρειάζονται περισσότερο χρόνο (2 min) για να στεγνώσουν
- Στα παιδιά αποφεύγεται το στάδιο με το ιώδιο και επαναλαμβάνεται 2 επιπλέον φορές ο καθαρισμός με 70% **ισοπροπυλική ή αιθυλική αλκοόλη**
- Το πώμα της φιάλης καθαρίζεται με 70% **αλκοόλη** και αφήνεται να στεγνώσει (1min)
 - Το ιώδιο δεν χρησιμοποιείται για καθαρισμό των φιαλών, εκτός εάν υπάρχουν επιμολύνσεις με βακίλους ή μύκητες

Συλλογή αίματος

- Για κάθε καλλιέργεια επιλέγεται διαφορετικό σημείο λήψης και εάν πρέπει να γίνει στο ίδιο σημείο ακολουθεί δεύτερη φλεβοκέντηση
- Δεν λαμβάνεται αίμα από φλέβα στην οποία ταυτόχρονα χορηγείται IV διάλυμα
- Ο αιμολήπτης φορά γάντια και για μεγαλύτερη ασφάλεια χρησιμοποιούνται συσκευές με προστατευμένη βελόνα και κλειστά συστήματα
- Εάν χρησιμοποιηθεί βελόνα για την λήψη, με την ίδια εμβολιάζονται και οι φιάλες (single-needle method)
- Ενοφθαλμίζεται πρώτα η αερόβιος φιάλη και ακολούθως η αναερόβιος
- Εάν υπάρχει δυσκολία στην λήψη και ο ασθενής φέρει αγγειακό καθετήρα, μία καλλιέργεια μπορεί να ληφθεί από αυτόν αλλά απαιτείται δεύτερη από περιφερικό αγγείο
- Η λήψη από καθετήρα γίνεται από το hub αφού καθαριστεί 2 φορές με 70% αλκοόλη και στεγνώσει (1min). Τα πρώτα 3 ml (ή 0,2 ml σε παιδιά) απορρίπτονται και με άλλη σύριγγα λαμβάνεται το αίμα για καλλιέργεια

Λήψη αίματος για καλλιέργεια



Collecting blood cultures



- Use a multi-sample collection set
- Direct collection
 - no syringe needed

Η χρήση κλειστών συστημάτων και η συλλογή του αίματος κατευθείαν στη φιάλη αποτελεί τον ασφαλέστερο τρόπο

Υλικά

- Διατίθενται στο εμπόριο έτοιμες φιάλες κατάλληλες για καλλιέργεια αερόβιων ή αναερόβιων μικροβίων, μυκήτων και μυκοβακτηριδίων
- Ποικίλουν ως προς:
 - Την βασική σύνθεση (soybean-casein digest και/ή brain-heart infusion broth)
 - Τα συμπληρωματικά συστατικά
 - Τα αντιπηκτικά
 - Την σύσταση του αέρα μέσα στην φιάλη
 - Τους παράγοντες που αδρανοποιούν τα αντιβιοτικά
 - Τον όγκο του ζωμού

Αναλογία αίματος:ζωμού

Πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 1:5-1:10

- Με την αραίωση εξουδετερώνονται συστατικά του ανθρώπινου αίματος με αντιμικροβιακή δράση (λευκοκύτταρα, συμπλήρωμα και λυσοζύμη)
- Αραιώνονται τα τυχόν υπάρχοντα αντιβιοτικά

Αντιπηκτικά

- Αντιπηκτικά προστίθενται επειδή η ανάπτυξη των μικροβίων μειώνεται όταν το αίμα πήξει
- Συνήθως χρησιμοποιείται **sodium polyanetholsulfonate (SPS)** σε συγκέντρωση από 0,025% έως 0,05%
 - Αναστέλλει λυσοζύμη, συμπλήρωμα, φαγοκυττάρωση και αντιβιοτικά (κυρίως αμινογλυκοσίδες)
 - Αναστέλλει και την ανάπτυξη ορισμένων μικροβίων όπως *Neisseria spp.*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Streptobacillus moniliformis*, *Francisella tularensis*, *Gardnerella vaginalis* και *Mycoplasma hominis*
- Η αναστολή του SPS περιορίζεται με προσθήκη ζελατίνης 1% στο ζωμό

Εξουδετέρωση αντιβιοτικών

- Έχουν χρησιμοποιηθεί
 - β-λακταμάσες
 - Ρητίνες
 - Ενεργός άνθρακας
- Τα αποτελέσματα είναι καλύτερα στην απομόνωση μυκήτων και σταφυλόκοκκων

Επώαση

Ατμόσφαιρα επώασης

- Οι **αερόβιες φιάλες** περιέχουν αέρα με διάφορες συγκεντρώσεις CO_2
 - Είναι κατάλληλες για αερόβια και δυνητικά αναερόβια μικρόβια
- Οι **αναερόβιες φιάλες** περιέχουν CO_2 και άζωτο, όχι οξυγόνο
 - Ευνοούν την ανάπτυξη των αυστηρά αναερόβιων και των δυνητικά αναεροβίων μικροβίων

Ανάδευση

- Αυξάνει την ανάπτυξη και την ταχύτητα ανίχνευσης των **αερόβιων μικροβίων**, όχι όμως των αναερόβιων και των μυκοβακτηριδίων
 - Όλα τα αυτόματα μηχανήματα διαθέτουν σύστημα ανακίνησης των φιαλών

Μη αυτοματοποιημένα συστήματα αιμοκαλλιεργείων

- Ο παλαιότερος τρόπος
 - Χωρίς ιδιαίτερο εξοπλισμό
 - Επιλέγονται 2 διαφορετικοί ζωμοί για την αερόβια και αναερόβια φιάλη
 - Ανακαλλιέργειες σε στερεά θρεπτικά υλικά γίνονται την 2η, 3η και την 7η ημέρα επώασης ή όταν παρατηρηθούν σημεία ανάπτυξης μικροβίων όπως αιμόλυση, θολερότητα, παραγωγή αερίου, θρόμβος, υμένιο ή ορατές αποικίες
- Φιάλες με ειδικό σχεδιασμό
 - Τύπου **Castaneda** με διφασικό υλικό, άγαρ σε μία επιφάνεια και ζωμό
 - Φιάλες που φέρουν στο πώμα συσκευή με την οποία άμεσα ανιχνεύεται η παραγωγή αερίου (Signal-Oxoid)
- Το σύστημα **Isolator** (Wampole Lab)
 - Δεν έχει ζωμό
 - Βασίζεται στην λύση-φυγοκέντρωση του αίματος
 - Χρησιμοποιείται με καλά αποτελέσματα για την απομόνωση μυκήτων (βλαστομυκήτων, δίμορφων), μυκοβακτηριδίων και *Bartonella* spp.

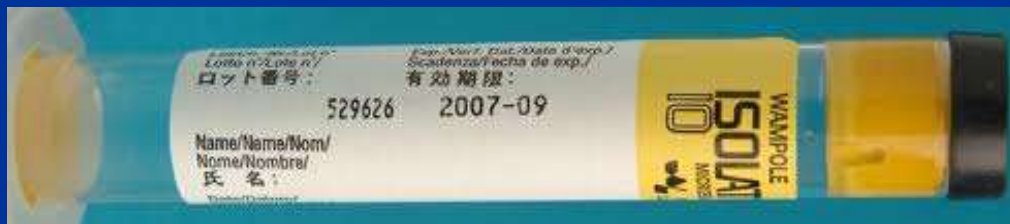
Φιάλες αιμοκαλλιεργείων



Φιάλες τύπου Castaneda



Φιάλες Signal



Σύστημα Isolator



Φιάλες αυτόματων συστημάτων

BACTEC
(Becton Dickinson)



Bact/Alert
(Biomérieux)



Αυτόματα συστήματα επώασης

BACTEC
(Becton Dickinson)



Bact/Alert
(Biomerieux)



Λειτουργία αυτόματων συστημάτων

- Η λειτουργία τους στηρίζεται στην παραγωγή CO_2 από τα αναπτυσσόμενα μικρόβια, που μετράται φθοριομετρικά ή χρωματομετρικά, ανάλογα με τον ανιχνευτή που χρησιμοποιεί η κάθε εταιρεία στις φιάλες της
- Η παραγωγή φθορισμού ή η αλλαγή χρώματος μεταφράζεται σε ηλεκτρονικό υπολογιστή και ακολουθεί ηχητικό ή/και οπτικό σήμα
- Επώαση 5 ημέρες για αερόβιες και αναερόβιες φιάλες, 10 ημέρες για μύκητες και τουλάχιστον 4 εβδομάδες για μυκοβακτηρίδια



Πλεονεκτήματα αυτόματων συστημάτων

- Ταχύτερη ανάπτυξη
- Συνεχής παρακολούθηση
- Μείωση επιμολύνσεων
- Μείωση φόρτου εργασίας
- Καταγραφή καμπύλης ανάπτυξης του μικροβίου σε συνάρτηση με τον χρόνο και υπολογισμός του χρόνου θετικοποίησης
- Στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων

| Είδος φιάλης | Βασική σύνθεση | Συμπληρωματικοί παράγοντες | Αναπτυσσόμενα βακτήρια |
|----------------------|---|---|---|
| Αερόβιων μικροβίων | Soybean-casein digest broth ή Brain heart infusion | Yeast extract, Αμινοξέα, SPS, Ρητίνες ή Ενεργός άνθρακας, Βιταμίνες | Αερόβια Δυνητικά αναερόβια Βλαστομύκητες |
| Αναερόβιων μικροβίων | Soybean-casein digest broth ή Brain heart infusion | Yeast extract, Αμινοξέα, SPS, Ρητίνες ή Ενεργός άνθρακας, Γλυκόζη, Sodium citrate, Βιταμίνες | Δυνητικά αναερόβια Αυστηρά αναερόβια |
| Παιδιατρική φιάλη | Soybean-casein digest broth ή Brain heart infusion | Yeast extract, Animal tissue digest, Δεξτρόζη, Σακχαρόζη, Αιμίνη, Μεναδιόνη, SPS, Βιταμίνη Β6, Ρητίνες ή Ενεργός άνθρακας | Αερόβια Δυνητικά αναερόβια Βλαστομύκητες |
| Μυκήτων | Brain heart infusion broth, Soybean-casein digest broth | Yeast extract, SPS, citrate, Δεξτρόζη, Σακχαρόζη, Ινοσιτόλη, Chl, Tob | Βλαστομύκητες Υφομύκητες |
| Μυκοβακτηριδίων | 7H9 Middlebrook broth base, Brain heart infusion | Casein hydrolysate, Supplement H, Ινοσιτόλη, Γλυκερόλη, Βιταμίνη Β6 | Μυκοβακτηρίδια Βλαστομύκητες Υφομύκητες <i>H. capsulatum</i> <i>N. asteroides</i> Αερόβια |

Χειρισμός αιμοκαλλιέργειας που δίδει θετικό σήμα

- **Νωπό και με Gram χρώση παρασκευάσματα** και σε θετικό αποτέλεσμα ενημερώνεται επειγόντως ο κλινικός ιατρός
- **Ανακαλλιέργεια** σε προεπιλεγμένα στερεά θρεπτικά υλικά και με βάση την μικροσκοπική εξέταση, την κλινική εικόνα και τα αναμενόμενα παθογόνα προστίθενται και άλλα
- **Άμεσο αντιβιογράμμα** με τη μέθοδο της διάχυσης των δίσκων από τον ζωμό της φιάλης
- Ακολουθεί **ταυτοποίηση** του απομονωθέντος στελέχους, **επανάληψη του αντιβιογράμματος** (εάν χρειάζεται) και προσδιορισμός **MICs**

Προτεινόμενα υλικά για ανακαλλιέργεια

■ Αερόβιες φιάλες

- Σοκολατόχρωμο άγαρ σε 5% CO₂, 35°C για 24-48 ώρες
- Αιματούχο σε αερόβιες συνθήκες στους 35°C
- MacConkey άγαρ σε αερόβιες συνθήκες στους 35°C

■ Αναερόβιες φιάλες

- Αναερόβιο αιματούχο μη εκλεκτικό (χωρίς αντιβιοτικά) με βάση το Brucella agar με αιμίνη και βιταμίνη K1 σε αναερόβιες συνθήκες στους 35°C για 5 ημέρες
- Σοκολατόχρωμο άγαρ (σε 5% CO₂)
- MacConkey άγαρ ως διαφοροποιητικό υλικό των δυνητικώς αναερόβιων (προαιρετικά)

Ταυτοποίηση σταφυλοκόκκων

- Ο σταφυλόκοκκος είναι το συχνότερα αναπτυσσόμενο βακτήριο
- Άμεσα εκτελείται η δοκιμασία της συνδεδεμένης κοαγκουλάσης σε πλάκα και διαχωρίζεται ο *S. aureus* από τους CoNS
- Επειδή θετική ανευρίσκεται και σε άλλα είδη πλην του *S. aureus* (*S. intermedius*, *S. schleferi*, *S. lugdunensis*), συμπληρώνεται με την δοκιμασία ελεύθερης κοαγκουλάσης σε σωληνάριο και την παραγωγή DNAse
- Ο *S. aureus* κατά κανόνα δίδει θετικές και τις τρεις δοκιμασίες

Μοριακές μέθοδοι ταυτοποίησης

- Σύγχρονες μοριακές μέθοδοι (π.χ. FISH με PNA probes) έχουν αναπτυχθεί για την γρήγορη διάκριση των αναπτυσσόμενων μικροβίων από τον ζωμό
 - *S. aureus* από CoNS
 - *Candida albicans* από non-*Candida albicans* ή *C. glabrata*
- Έχουν υψηλή ευαισθησία (99%) και ειδικότητα (100%)
- Δεν εφαρμόζονται ευρέως ακόμη (εμπόδιο το υψηλό κόστος και η δυσκολία εφαρμογής σε εφημερίες)

Ασυμφωνία μεταξύ σήματος, άμεσου παρασκευάσματος και καλλιέργειας σε στερεά θρεπτικά υλικά

Οι περιπτώσεις ταξινομούνται σε 3 ομάδες:

- Θετικό σήμα, θετική Gram χρώση και αρνητική η αρχική καλλιέργεια ρουτίνας
- Θετικό σήμα, αρνητική Gram χρώση και αρνητική ανακαλλιέργεια
- Αρνητικό σήμα, θετική Gram χρώση και θετική ανακαλλιέργεια

Θετικό σήμα, θετική Gram χρώση και αρνητική η αρχική καλλιέργεια ρουτίνας

- Υποψιαζόμαστε **απαιτητικούς μικροοργανισμούς** που δεν αναπτύσσονται στις συνήθεις συνθήκες
 - *Abiotrophia*
 - *Campylobacter* και άλλα καπνόφιλα μικρόβια
 - *Brucella*
 - *Legionella*
 - *Afipia*
 - *Francisella* spp
 - Βραδέως αναπτυσσόμενα αναερόβια
- Ανακαλλιέργεια
 - Ειδικά εμπλουτισμένα θρεπτικά υλικά
 - Αναερόβιες (εάν αρχικά δεν έγιναν) ή μικροαερόφιλες συνθήκες
 - Παράταση επώασης
- Σε υποψία *S. pneumoniae*
 - Ανακαλλιέργεια ζωμού σε νέα φιάλη
 - Αναζήτηση αντιγόνου

Θετικό σήμα, αρνητική Gram χρώση και αρνητική ανακαλλιέργεια

- Μελέτη της καμπύλης ανάπτυξης που δίδουν τα αυτόματα συστήματα για αναγνώριση του **ψευδώς θετικού σήματος**
 - Το σύστημα έχει λειτουργικό πρόβλημα
 - Η φιάλη περιέχει μεγαλύτερο όγκο αίματος από τον συνιστώμενο
 - Το αίμα έχει ηυξημένο αριθμό λευκοκυττάρων
- Εάν η καμπύλη είναι **συμβατή με ανάπτυξη** μικροβίου
 - Προτείνονται άλλες χρώσεις, όπως Gram χρώση στην οποία ο μεταχρωματισμός γίνεται με φαινικούχο φουξίνη, Giemsa ή Sandifors
 - Επανεπωάζεται η φιάλη για να συμπληρωθεί ο χρόνος εάν οι χρώσεις είναι αρνητικές
 - Ανακαλλιέργεια σε επιπλέον υλικά

Αρνητικό σήμα, θετική Gram χρώση και θετική ανακαλλιέργεια

- Η ανάπτυξη των μικροοργανισμών δεν δίδει ή δίδει ασθενώς θετικό σήμα όπως σε:
 - *Neisseria spp*
 - *H. influenzae*
 - *Brucella spp*
 - *Legionella spp*
 - *Francisella spp*
- Με οδηγό την κλινική εικόνα γίνονται:
 - Χρώσεις άμεσων παρασκευασμάτων
 - Τυφλές ανακαλλιέργειες του ζωμού
 - Χρήση ειδικών στερεών υλικών

Αξιολόγηση θετικών αιμοκαλλιεργείων

- Η αξιολόγηση απαιτεί προσοχή, γνώση και κυρίως συνεργασία κλινικών και εργαστηριακών ιατρών
- Δεν υπάρχει ένας αλγόριθμος που να λειτουργεί ως gold standard για διαχωρισμό των πραγματικών παθογόνων από τους επιμολύνοντες μικροοργανισμούς
- Το αποδεκτό ποσοστό επιμολύνσεων κυμαίνεται κάτω από το 3% του συνόλου των καλλιεργείων
- Τα πιο σημαντικά στοιχεία που βοηθούν το Εργαστήριο στην αξιολόγηση είναι:
 - Το είδος του μικροοργανισμού
 - Ο αριθμός των θετικών καλλιεργείων στο σύνολο των ληφθέντων
 - Ο τρόπος λήψης