



Εργαστηριακή Προσπέλαση Παθογόνων Μικροοργανισμών

Νέπκα Μάρθα

Βιοπαθολόγος - Διευθύντρια ΕΣΥ

Μικροβιολογικό Τμήμα - Γ. Ν. Α. «Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ»



23^ο Ετήσιο Σεμινάριο Συνεχιζόμενης
Ιατρικής Εκπαίδευσης
Νοσοκομείου «Ο Ευαγγελισμός»



Αθήνα, 26 Φεβρουαρίου – 2 Μαρτίου 2018

Δεν υπάρχει σύγκρουση συμφερόντων
με τις παρακάτω χορηγούς εταιρείες:

NOVARTIS, JANSSEN ONCOLOGY, ABBVIE,
BRISTOL-MYERS SQUIBB, MEDTRONIC,
TAKEDA, GENESIS, MSD, PFIZER, AMGEN,
ASTELLAS, GILEAD, AENORASIS, BAXTER,
BIANEX, WINMEDICA, ABBOTT, BIOSEP,
SANOFI, ANGELINI, DEMO, ELPEN,
EDWARDS, ROCHE, RONTIS, SPECIFAR, UCB
ΥΓΕΙΟΔΥΝΑΜΙΚΗ, ΜΑΥΡΟΓΕΝΙΣ

Περιγραφή Περιστατικού

- 18-μηνών θήλυ εισάγεται στα επείγοντα (Montpellier Hospital 2003) με επηρεασμένη γενική κατάσταση το τελευταίο 48 h (ληθαργικό με υψηλό πυρετό, ρινίτιδα, εμέτους), χωρίς προηγούμενο ιστορικό, αιμοδυναμικά σταθερό.
- Διαπιστώθηκε φαρυγγίτιδα, ωτίτιδα και διόγκωση τραχηλικών λεμφαδένων
- CRP = 170.5 mg/l
- WBC = 16,500/mm

Περιγραφή Περιστατικού

- ENY: κύτταρα = 750/mm (83% πόλυ)
 - Gram χρώση: πολύ σπάνιοι gram-θετικοί διπλόκοκκοι
 - Δοκιμή συγκόλλησης latex: αρνητική για group B *Neisseria meningitidis*, *Escherichia coli* K1, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* b και *N. meningitidis* groups A, C, Y, W135
 - Γλυκόζη ENY: 23mg/dl
 - Γλυκόζη ορού: 149mg/dl
 - Λεύκωμα ENY: 114 mg/l

Περιγραφή Περιστατικού

- Βάση μικροσκοπικής εξέτασης και της πιθανότητας αντοχής στην penicillin ξεκίνησε εμπειρική θεραπεία με cefotaxime (300 mg/kg of body weight/day) IV και vancomycin (60 mg/kg/day).
- Έγινε καλλιέργεια σε αιματούχο και σοκολατόχρωμα άγαρ (επώαση 37°C 5% CO₂), και σε Trypticase soy και Schaedler ζωμούς.
- Δεν επιχειρήθηκε ανίχνευση παθογόνων με μοριακές μεθοδολογίες.
- Μετά από 24 h επώαση αναπτύχθηκε μικτό καλλιέργημα
 - ενός catalase-αρνητικού, gram-θετικού διπλόκοκκου



Περιγραφή Περιστατικού

- και ενός oxidase-θετικού, gram-αρνητικού διπλόκοκκου



- Η ταυτοποίηση του *S. pneumoniae* επιβεβαιώθηκε και από την αναστολή της ανάπτυξής του γύρω από δισκίο οπτοχίνης 5-μg



Περιγραφή Περιστατικού

- Ο *N. meningitidis* είχε μειωμένη ευαισθησία στην penicillin G (MIC=0.094), με λοιπές MICs ως εξής: amoxicillin 0.12, cefotaxime 0.008, rifampin 0.016 µg/ml
- Ο *S. pneumoniae* ήταν ευαίσθητος στα β-λακταμικά (MICs σε penicillin G 0.032, amoxicillin 0.094, και cefotaxime 0.012)
- 2^η κ/α ΕΝΥ μετά από 48h απέβη αρνητική.
- Το σχήμα cefotaxime/ vancomycin διατηρήθηκε 72h, οπότε και αλλάχθηκε σε amoxicillin (300 mg/kg/day) IV για 10μέρες.
- Στους γονείς εδόθη προφύλαξη rifampin για 48h.
- Το παιδί εξήλθε την 13^η μέρα σε άριστη κατάσταση.
- Έξι μήνες μετά, έγινε επανεξέταση όπου δεν παρατηρήθηκαν νευρολογικές υπολειμματικές βλάβες.

Παθογόνοι Μικροοργανισμοί στο ΕΝΥ



Βακτήρια



Ιοί



Μύκητες



Παράσιτα

Table 1. Common Etiologies of Bacterial Meningitis and Recommended Empiric Therapy*

<i>Population</i>	<i>Likely pathogen</i>	<i>Empiric therapy</i>
Infants younger than one month	<i>Streptococcus agalactiae</i> (group B streptococcus), <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> , other gram-negative bacilli	Ampicillin and cefotaxime (Claforan)
Children one to 23 months of age	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>S. agalactiae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>E. coli</i>	Vancomycin and ceftriaxone (Rocephin)
Children and adults two to 50 years of age	<i>N. meningitidis</i> , <i>S. pneumoniae</i>	Vancomycin and ceftriaxone
Adults older than 50 years, with altered cellular immunity, or with alcoholism	<i>S. pneumoniae</i> , <i>N. meningitidis</i> , <i>L. monocytogenes</i> , aerobic gram-negative bacilli	Vancomycin, ceftriaxone, and ampicillin
Patients with basilar skull fracture or cochlear implant	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , group A beta-hemolytic streptococci	Vancomycin and ceftriaxone
Patients with penetrating trauma or postneurosurgery	<i>Staphylococcus aureus</i> , coagulase-negative staphylococci, aerobic gram-negative bacilli (including <i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	Vancomycin and cefepime (Maxipime)
Patients with cerebrospinal fluid shunt	Coagulase-negative staphylococci, <i>S. aureus</i> , aerobic gram-negative bacilli (including <i>P. aeruginosa</i>), <i>Propionibacterium acnes</i>	Vancomycin and cefepime

*—In 2002-2003 among all age groups in the United States, 61 percent of bacterial meningitis was caused by *S. pneumoniae*, 16 percent by *N. meningitidis*, 14 percent by *S. agalactiae* (group B streptococcus), 7 percent by *H. influenzae*, and 2 percent by *L. monocytogenes*.³

Adapted with permission from Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan SL, et al. Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. Clin Infect Dis. 2004;39(9):1275, with additional information from reference 3.

Βακτηριακή άσηπτη μηνιγγίτιδα

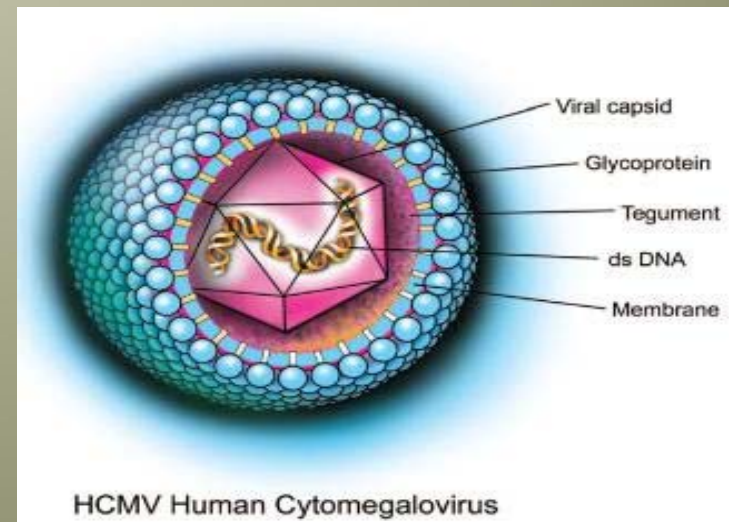
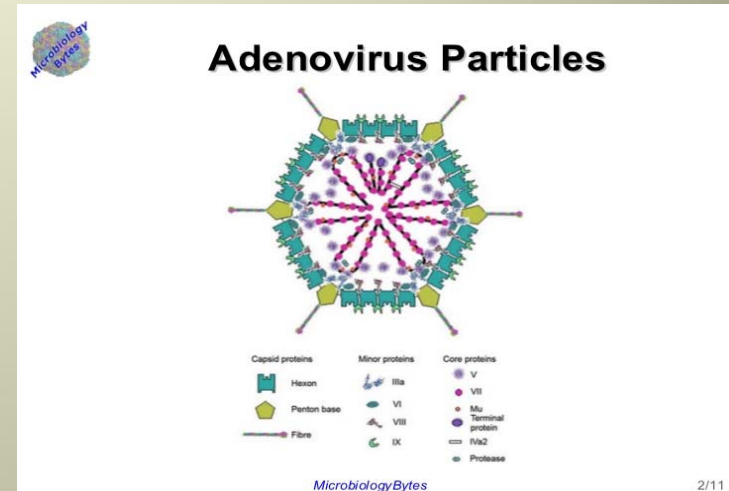
- *Mycobacterium tuberculosis*
- *Treponema pallidum* (syphilis)
- *Brucella* spp
- *Borrelia burgdorferi* (Lyme disease)
- *Actinomyces* spp
- *Nocardia* spp
- *Rickettsia* spp
- *Leptospira* spp
- *Chlamydia* spp
- *Mycoplasma* spp

Ιογενής μηνιγγίτιδα – εγκεφαλίτιδα I

- **Enteroviruses**
 - Poliovirus, coxsackievirus, echovirus
- **HSV**
 - Η λοίμωξη στα **βρέφη** εκδηλώνεται ως εγκεφαλίτιδα με ή χωρίς πολύ-οργανική συμμετοχή, ενώ η μηνιγγικές εκδηλώσεις είναι σπάνιες
 - Σε **μεγαλύτερα παιδιά, εφήβους και ενήλικες** μπορεί να εκδηλωθεί ή ως εγκεφαλίτιδα (με πυρετό, επηρεασμένο επίπεδο συνείδησης, εστιακές νευρολογικές εκδηλώσεις και σπασμούς) ή ως μηνιγγίτιδα (με πυρετό και κλασσικά σημεία μηνιγγίτιδας)

Ιογενής μηνιγγίτιδα – εγκεφαλίτιδα II

- Adenovirus
- Cytomegalovirus
- Epstein-Barr virus
- Varicella-zoster virus
- JC papova virus
- Influenza
- Parainfluenza
- HIV



Ιογενής μηνιγγίτιδα – εγκεφαλίτιδα III

- **Arboviruses** – Μεταδίδονται με αρθρόποδα ή έντομα
 - Οι κλινικές εκδηλώσεις μηνιγγίτιδας από αρμποϊούς χαρακτηρίζονται από οξεία έναρξη πυρετού με ρίγος, πονοκέφαλο, ναυτία και έμετο χωρίς εστιακή νευρολογική σημειολογία
 - **West Nile Virus**
 - St. Louis encephalitis virus
 - La Crosse (California) encephalitis virus
 - Japanese encephalitis virus
- Ιλαρά
- Παρωτίτιδα
- Encephalomyocarditis virus
- Lymphocytic choriomeningitis virus



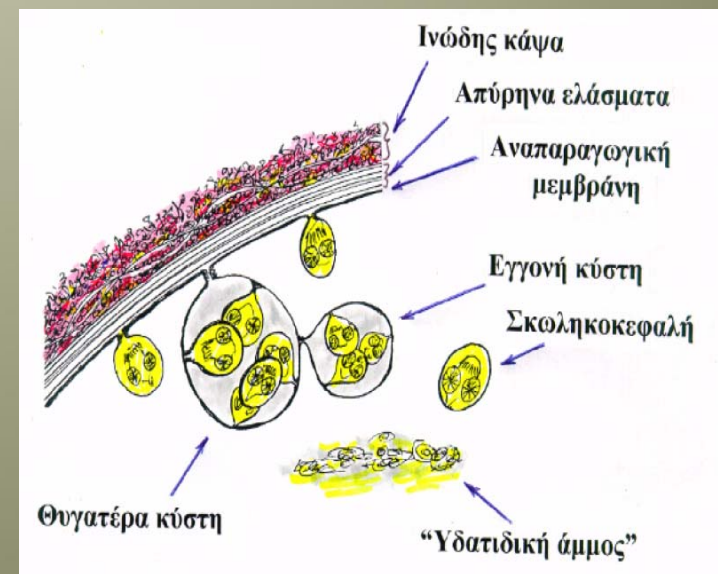
Μυκητικές λοιμώξεις

- ***Cryptococcus* spp.**
- *Candida* spp.
- *Aspergillus* spp.
- *Blastomyces dermatitidis*
- *Coccidioides immitis*
- *Histoplasma capsulatum*
- *Sporothrix schenckii*



Παρασιτικά παθογόνα στο ΕΝΥ

- *Taenia solium* (cysticercosis)
- *Echinococcus* spp.
- *Toxoplasma gondii*
- *Naegleria fowleri*
- *Acanthamoeba* spp.
- *Trichenella spiralis*



Εργαστηριακή Προσπέλαση των Παθογόνων



Μικροσκοπική Εξέταση
και Καλλιέργεια



Μοριακή
ανίχνευση

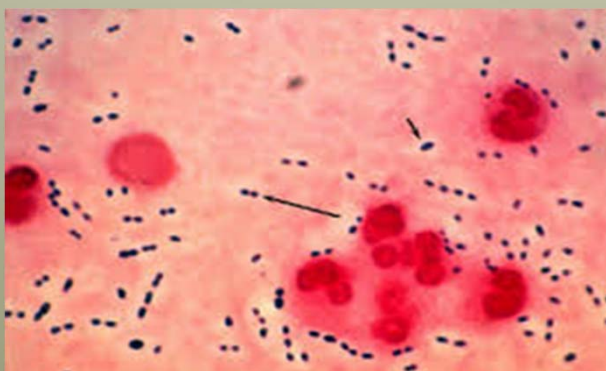


Ορολογική
ανίχνευση

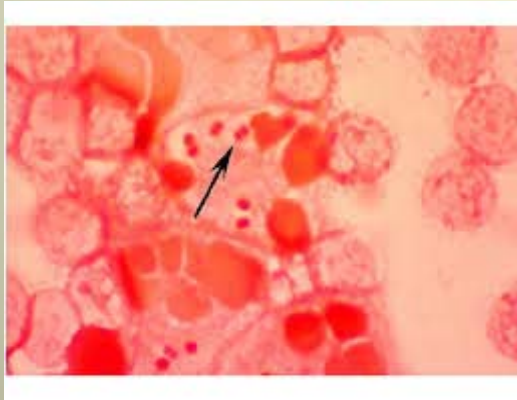
Συνδυασμός όλων των ανωτέρων μεθόδων

Χρώση Gram και Καλλιέργεια

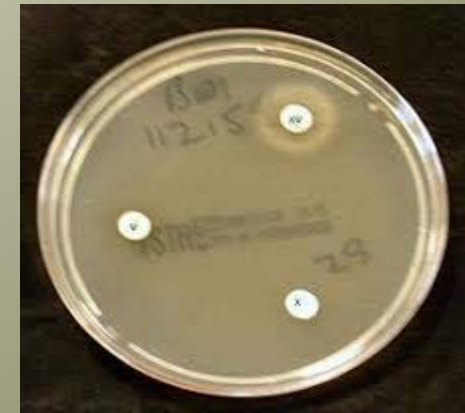
- **Χρώση Gram** - Έχει το πλεονέκτημα ότι μπορεί να αναδείξει το παθογόνο μια ή περισσότερες ημέρες πριν από την καλλιέργεια.
- Η **ευαισθησία** της χρώσης Gram για βακτηριακή μηνιγγίτιδα ποικίλει από 60 έως 90 % με **ειδικότητα** 100%
- Η ευαισθησία τόσο της χρώσης Gram όσο και της καλλιέργειας μπορεί να μειωθούν λόγω προηγούμενης **αντιβιοτικής θεραπείας**



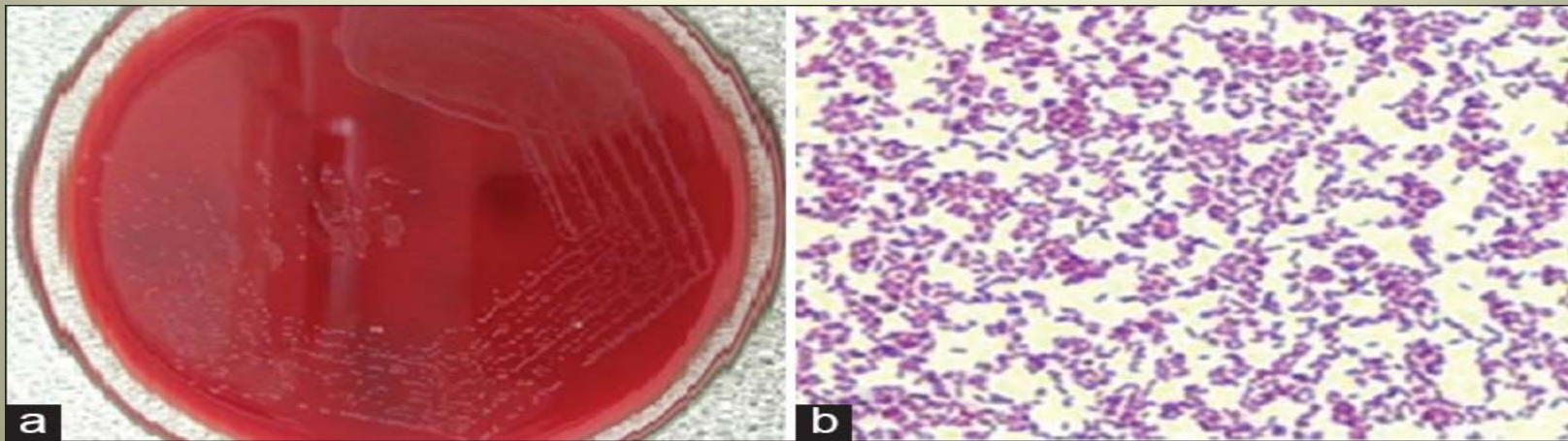
Θετικοί κατά Gram διπλοκόκκοι που υποδηλώνουν πνευμονιοκοκκική λοίμωξη



Gram-αρνητικοί διπλοκόκκοι που υποδηλώνουν μηνιγγιτιδοκοκκική λοίμωξη



Μικρές πολυμορφικές **gram αρνητικές κοκκοβακτηριδιακές μορφές** που υποδηλώνουν λοίμωξη από *Haemophilus influenzae*



Τα **θετικά κατά Gram βακτηρίδια** υποδηλώνουν λοίμωξη από
Listeria monocytogenes



Αρνητικά κατά Gram βακτηρίδια (λοίμωξη από *E.coli*)

Ταχείες εξετάσεις στην διαγνωστική της βακτηριακής μηνιγγίτιδας

- Οι δοκιμές **συγκόλλησης με λατέξ** ανιχνεύουν τα αντιγόνα των κοινών παθογόνων στο ΕΝΥ. Δεν χρησιμοποιούνται πλέον συστηματικά, επειδή τα αποτελέσματά τους δεν φαίνεται να τροποποιούν την απόφαση χορήγησης αντιμικροβιακής θεραπείας
- Μια ανοσοχρωματογραφική δοκιμασία για την ανίχνευση του ***S. pneumoniae*** σε ΕΝΥ βρέθηκε να είναι 100% ευαίσθητη και ειδική για τη διάγνωση της πνευμονιοκοκκικής μηνιγγίτιδας



Μοριακή διάγνωση λοιμώξεων ΚΝΣ (υπέρ)

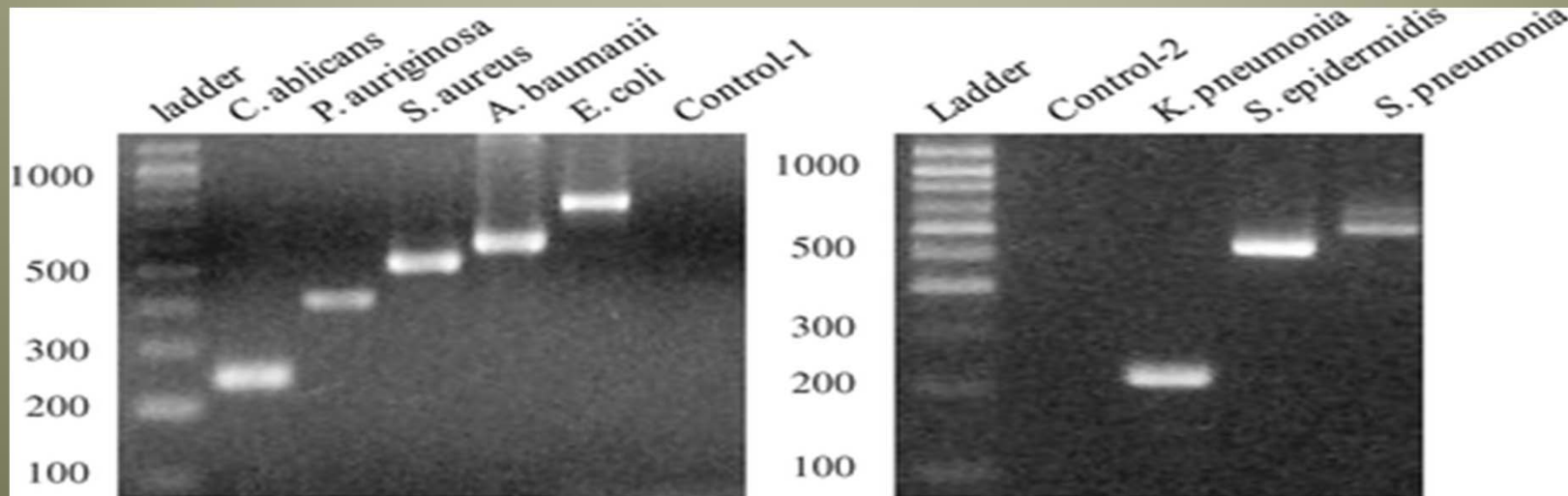
- Οι μέθοδοι ανίχνευσης νουκλεϊνικών οξέων είναι συχνά **πιο ευαίσθητες από τις συμβατικές μεθόδους** και μπορεί να ανιχνεύουν οργανισμούς που δεν είναι βιώσιμοι ή δεν μπορούν να καλλιεργηθούν.
- Οι **πολυπλεκτικές PCR** και οι μοριακές μεθοδολογίες **τύπου panel** επιτρέπουν την ταυτόχρονη ανίχνευση πολλών παθογόνων στο ίδιο δείγμα σε μικρό χρονικό διάστημα, δίνοντας διαγνωστικές λύσεις στους κλινικούς.

Μοριακή διάγνωση λοιμώξεων ΚΝΣ (κατά)

- Δεν παρέχουν αποτελέσματα **αντιμικροβιακής ευαισθησίας**. Είναι σημαντικό να εκτελούνται πρότυπες βακτηριακές και μυκητικές καλλιέργειες όταν υπάρχουν υπόνοιες τέτοιων λοιμώξεων.
- Τα αποτελέσματα των δοκιμών θα πρέπει να αναλύονται στο πλαίσιο της πιθανότητας λοίμωξης. Ελλείψει αυξημένου αριθμού λευκοκυττάρων ή αυξημένου επιπέδου πρωτεΐνης, η πιθανότητα ενός πραγματικά θετικού μοριακού αποτελέσματος μειώνεται σημαντικά, ενώ ο αριθμός των ψευδώς θετικών και μη ερμηνευτικών αποτελεσμάτων αυξάνεται.

Πολυπλεκτική PCR σε βακτηριακή μηνιγγίτιδα

- Στην πολυπλεκτική PCR (multiplex PCR) ενισχύονται δύο ή περισσότερα ζεύγη εκκινητών
- Οι εκκινητές που χρησιμοποιούνται πρέπει να σχεδιαστούν προσεκτικά ώστε να έχουν παρόμοιες θερμοκρασίες τήξης (T_m).
- Η συν-ενίσχυση των πολλαπλών στόχων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να ανιχνευτούν πολλαπλά παθογόνα από ένα μόνο εξεταζόμενο δείγμα



Πολυπλεκτική PCR σε βακτηριακή μηνιγγίτιδα

- Μελέτη αξιολόγησε πολυπλεκτικής PCR με ταυτόχρονη ανίχνευση *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* και *H. influenzae* τύπου b και είχε συνολική ειδικότητα και θετική προγνωστική αξία 100% και η αρνητική προγνωστική της αξία ήταν > 99%
- Η ευαισθησία και η ειδικότητα της PCR για τη διάγνωση της πνευμονιοκοκκικής μηνιγγίτιδας ήταν 92-100% και 100% αντίστοιχα

ΕΣΔΥ 1ο panel: *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* type b, *L. monocytogenes*
2ο panel: *Streptococcus* spp., *H. influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *P. aeruginosa*

Meningitis/Encephalitis panel for **FilmArray**[®] multiplex PCR system

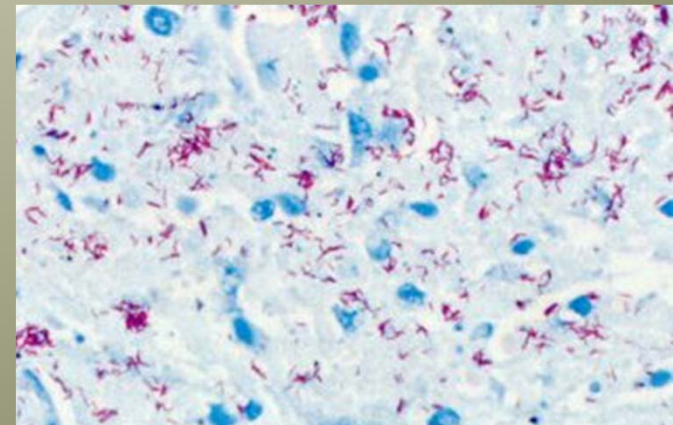
- Επιτρέπει την ταχεία, ακριβή και πλήρως αυτοματοποιημένη εξέταση για κοινά παθογόνα που προκαλούν λοιμώξεις του κεντρικού νευρικού συστήματος, συμπεριλαμβανομένων βακτηριδίων, ιών και μυκήτων.
- **Απλή:** Λιγότερο από 2' προετοιμασία
- **Εύκολη:** Δεν απαιτείται ακριβής μέτρηση ή πιπέτα
- **Γρήγορη:** Χρόνος αποτελέσματος περίπου σε 1 ώρα
- **Περιεκτική:** ταυτόχρονη ανίχνευση 14 στόχων
 - **Βακτήρια:** E.coli K1, H. influenzae, L. monocytogenes, N. meningitidis, S.agalactiae, S.pneumoniae
 - **Ιοί:** CMV, εντεροϊοί, HSV 1, 2, HH6, Parechovirus, VZV
 - **Μύκητες:** C.neoformans / gattii

MeningoFinder® 2SMART

- **To MeningoFinder® 2SMART** είναι τεστ πολυπλεκτικής PCR που μπορεί να ανιχνεύσει και να διαφοροποιήσει **22 παθογόνους μικροοργανισμούς** που εμπλέκονται σε λοιμώξεις του ΚΝΣ χρησιμοποιώντας ανάλυση καμπύλης τήξης σε όργανα PCR πραγματικού χρόνου.
 - **Ιοί:** HSV 1, 2, 6, 7, 8, VZV, Enterovirus, EBV, Parechovirus, CMV, παρωτίτιδα, ιλαρά
 - **Bacteria:** L.monocytogenes, N.meningitidis, S.aureus, B.burgdorferi, S.pneumoniae, E.coliK1, S.agalactiae
 - **Fungi:** C.gattii, C.neoformans
- Υψηλή ευαισθησία, χαμηλή ειδικότητα
- Δεν είναι πλήρως αυτοματοποιημένη μεθοδολογία (extraction)
- Εξειδικευμένο προσωπικό

Μυκοβακτηρίδιο φυματίωσης

- Η καλλιέργεια σε LJ χρειάζεται πολύ χρόνο (28-50d)
- Τα αποτελέσματα μπορούν να αποκτηθούν γρηγορότερα σε **αυτοματοποιημένα συστήματα** (Bactec MGIT 960 BD)
- Η ευαισθησία της καλλιέργειας είναι χαμηλή (40-60%)
- Η μικροσκοπική εξέταση (**Ziehl-Neelsen**) είναι μια γρήγορη και πρακτική μέθοδος λόγω του χαμηλού κόστους της και της υψηλής θετικής της προγνωστικής αξίας.
- Η ευαισθησία της **Ziehl-Neelsen** στην ανίχνευση οξεάντοχων βακίλων στο ENY είναι χαμηλή (10-60%).



Μυκοβακτηρίδιο φυματίωσης – Μοριακή διάγνωση

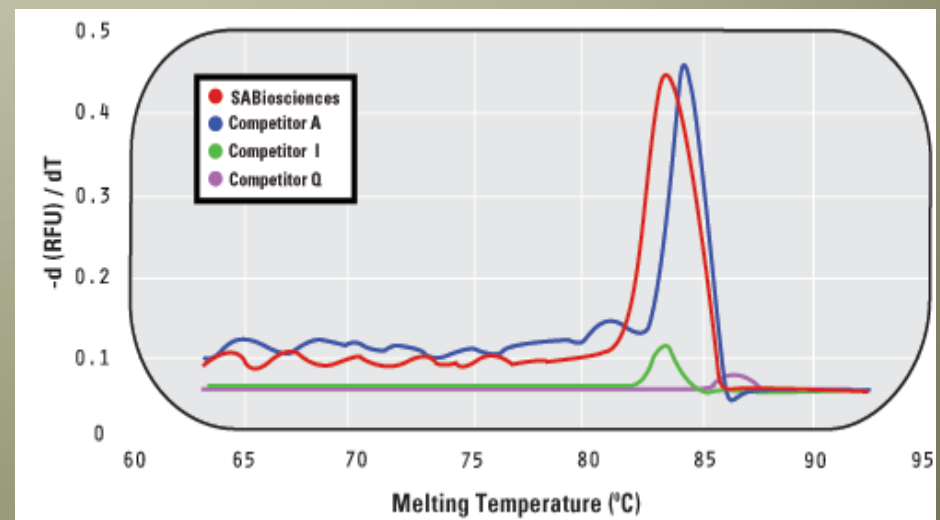
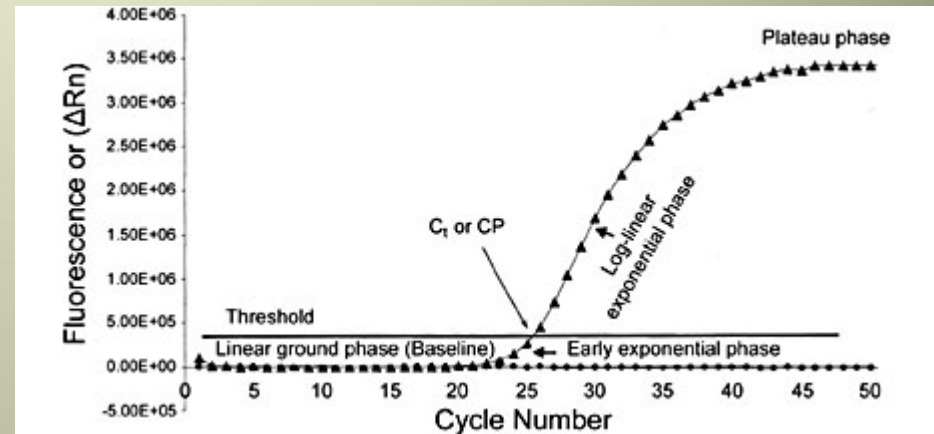
- **Πολυπλεκτική PCR** που στοχεύει και ενισχύει διάφορα γονίδια ταυτόχρονα.
 - Η ευαισθησία και η ειδικότητα της PCR που χρησιμοποιεί εκκινητές πρωτεΐνης B, MPB64 και IS6110 είναι 94,4% και 100% αντίστοιχα
- Η ευρείας εμβέλειας **Wide Range-Quantitative Nested Real Time-PCR (WR-QNRT-PCR)** συνδυάζει την υψηλή ευαισθησία της Nested PCR με την ποσοτικοποίηση του πραγματικού χρόνου και παρουσιάζει υψηλή ευαισθησία (95,8%) και ειδικότητα (100%)
- Είναι πολύ εργώδης μεθοδολογίες και εφαρμόζονται μόνο σε εργαστήρια αναφοράς

Μυκοβακτηρίδιο φυματίωσης – Μοριακή διάγνωση(Cepheid)

- Το σύστημα GeneXpert MTB / RIF (**Cepheid**) είναι μια πλήρως αυτοματοποιημένη μέθοδος PCR πραγματικού χρόνου, με ταυτόχρονη ανίχνευση αντοχής στην ριφαμπικίνη εντός δύο ωρών
- Υψηλή ακρίβεια στην ανίχνευση **πνευμονικής TB (ευαισθησία 89%, ειδικότητα 99%)** και αντοχή στη ριφαμπικίνη (ευαισθησία 95%, ειδικότητα 98%)
- Σε εξωπνευμονικά δείγματα έχει καλά αποτελέσματα **μόνο** επί θετικής μικροσκοπικής εξέτασης (ευαισθησία 96-100%), ενώ η ευαισθησία μειώνεται αισθητά σε μικροσκοπικά αρνητικά δείγματα **(37-90%)**.

Real Time PCR

- Ποσοτικός προσδιορισμός των αντιγράφων του νουκλεϊκού στόχου στο αρχικό δείγμα ΕΝΥ
- Χρησιμοποιείται κυρίως για **ανίχνευση και παρακολούθηση της πορείας ιογενών λοιμώξεων** του ΚΝΣ (CMV, EBV, HSV1,2, HHV6, VZV, JCV, BKV)
- Ποσοτικός προσδιορισμός: εκμεταλλεύεται την αναλογική σχέση του πρώτου κύκλου στον οποίο το προϊόν ενίσχυσης είναι σε ανιχνεύσιμη ποσότητα (threshold circle ή C_t).
- Η επαλήθευση της ενίσχυσης της ορθής αλληλουχίας μπορεί να επιτευχθεί με ανάλυση της καμπύλης τήξης του DNA (T_m)



ΟΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΝΥ

- Οι λοιμώξεις για τις οποίες η ορολογική προσέγγιση είναι η μέθοδος εκλογής για την διάγνωσή τους είναι:
 - Η νευροσύφιλη
 - Η λοίμωξη του ΚΝΣ από *Borrelia burgdorferi* (νόσος του Lyme)
 - Η νευροβρουκέλλωση
 - Arboviruses
- Στις λοιμώξεις αυτές προσδιορίζεται ο τίτλος των αντισωμάτων ΕΝΥ και / ή ορού.

Ορολογικές δοκιμασίες ΕΝΥ για σύφιλη

- Ένα θετικό αποτέλεσμα VDRL στο ΕΝΥ βάζει την διάγνωση της νευροσύφιλης, μια αρνητική εξέταση δεν την αποκλείει (η δοκιμή στερείται ευαισθησίας).
- Οι ευρωπαϊκές κατευθυντήριες οδηγίες δηλώνουν ότι η VDRL προτιμάται έναντι της RPR.
- Η δοκιμασία FTA-ABS είναι πιο ευαίσθητη, ιδιαίτερα στην ασυμπτωματική νευροσύφιλη.
- Στην περίπτωση μιας λεμφοκυτταρικής πλειοκύττωσης σε ΕΝΥ και ενός αρνητικού VDRL, ένα αρνητικό FTA-ABS αποκλείει τη διάγνωση ασυμπτωματικής νόσου στις περισσότερες περιπτώσεις

Ορολογικές δοκιμασίες ENY για νόσο του Lyme

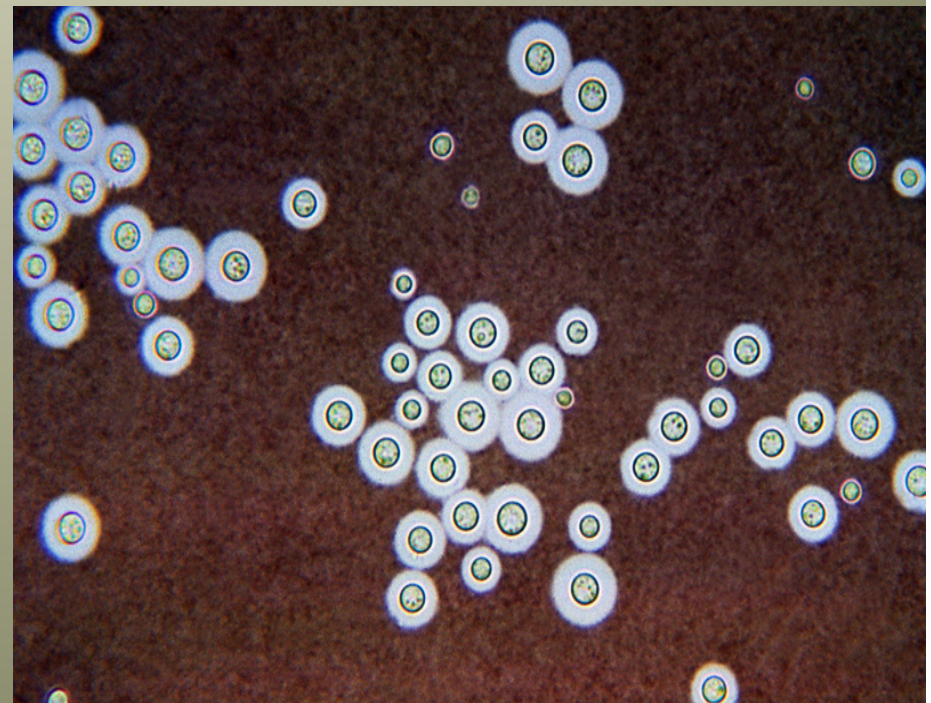
- Ο έλεγχος παρουσίας αντισωμάτων στο ENY μπορεί να δώσει θετικό αποτέλεσμα πριν εμφανιστούν αντισώματα στον ορό.
- Ο δείκτης αντισωμάτων συγκρίνει τα δείγματα ορού και ENY για να προσδιορίσει εάν υπάρχει μεγαλύτερη παραγωγή στο ΚΝΣ και να επιβεβαιώσει τη διάγνωση της Νευρομπορρελίας.
- Στην PCR ανιχνεύεται το DNA της *Borrelia*, επειδή όμως η μπορρέλια μεταναστεύει σε ιστούς πολύ νωρίς, η ανίχνευσή της με PCR στο αίμα και στο ENY μπορεί να αποβεί αρνητική.
- Είναι περισσότερο χρήσιμη σε δείγματα ιστών (όπως δερματικά εξανθήματα ή αρθρικό υγρό από προσβεβλημένες αρθρώσεις).

Λοιπές ορολογικές δοκιμασίες ΕΝΥ

- **Νευροβρουκέλλωση:**
 - Μεθοδολογία ELISA και ανοσοφθορισμού για την ανίχνευση αντισωμάτων IgG, IgM, IgA σε ορό και ΕΝΥ
- **Ιοί που μεταδίδονται από αρθρώποδα (Arboviruses)**
 - **West Nile (WNV):** η αξιολόγηση του ορού και / ή του ΕΝΥ για την παρουσία αντισωμάτων προτιμάται από τις μοριακές εξετάσεις για τον εν λόγω ιό (εκτός εάν οι ασθενείς είναι ανοσοκατεσταλμένοι), γιατί ο ιός εξαφανίζεται γρήγορα από το ΕΝΥ και το αίμα.

Κρυπτόκοκκος

- Η συνηθέστερη
μηκυτική μηνιγγίτιδα
(ανοσοκατεσταλμένοι)
- Ανάπτυξη σε
Sabouraud agar
- India Ink Χρώση: Παχύ
έλυτρο γύρω από το
μηκυτικό κύτταρο



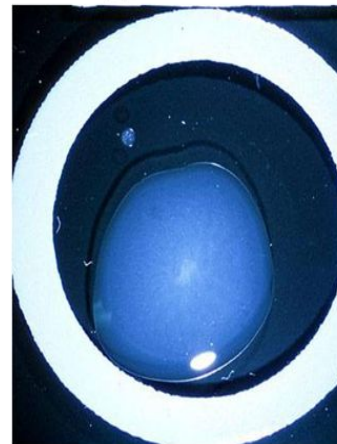
Αντιγόνο κρυπτοκόκκου

- Η ανίχνευση του αντιγόνου επιτρέπει γρηγορότερη διάγνωση από την καλλιέργεια
- Αποτελεί LATEX συγκόλληση και το αποτέλεσμα τιτλοποιείται, γεγονός που μπορεί να χρησιμοποιηθεί και στην παρακολούθηση της θεραπείας

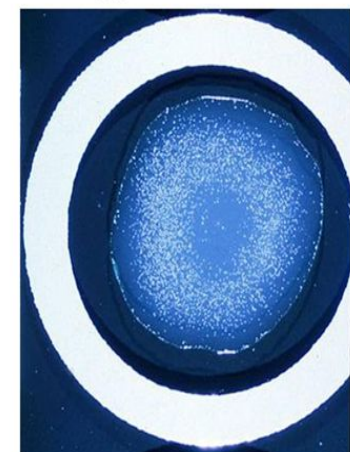
Rapid Diagnosis via Detection of Antigen

Latex agglutination test for cryptococcal capsular polysaccharide. (Latex coated with antibody)
Particularly valuable for CSF from meningitis where test is more sensitive than direct India Ink

No agglutination

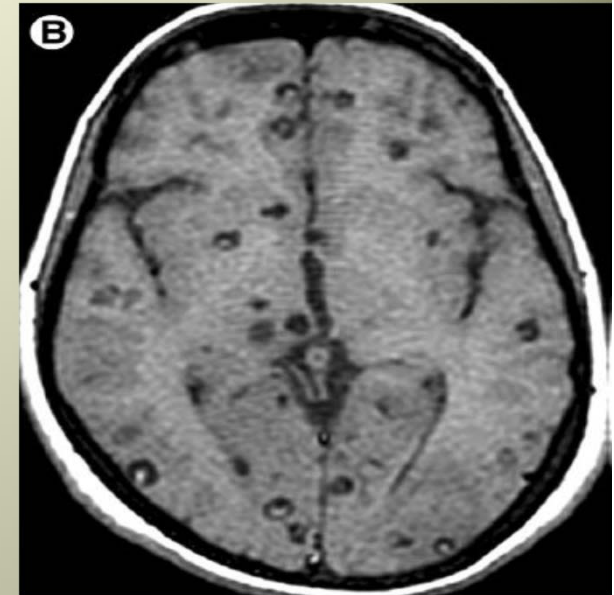


Agglutination



Παράσιτα

- **Νευροκυστικέρκωση**
 - Ενδημική νόσος: Μεξικό, Νότια Αμερική, Ασία
 - Αίτιο: *Taenia solium*
 - Μονήριες ή πολλαπλές κύστεις στον εγκέφαλο με επιληπτικούς σπασμούς
 - Ορολογικός έλεγχος: Enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay (EITB): δοκιμασία ανίχνευσης Abs σε ορό και ENY με καλύτερη ευαισθησία στον ορό (θετική στο 50%)
- **Εχινόκοκκος ΚΝΣ**
 - Ορολογικός έλεγχος: Ανίχνευση Abs (έμμεση αιμοσυγκόλληση, έμμεσος ανοσοφθορισμός, ένζυμική, ευαισθησία 60-90%)



Συμπερασματικά....

- Η εργαστηριακή προσπάθεια των παθογόνων γίνεται με **συμβατικές, μοριακές και ορολογικές μεθόδους** ή/και με συνδυασμό όλων των ανωτέρω.
- Από τις μοριακές τεχνικές οι πιο δημοφιλείς είναι οι **πολυπλεκτικές PCR** με ταυτόχρονη ανίχνευση των συχνότερων βακτηριακών παθογόνων και τα πλήρως αυτοματοποιημένα συστήματα με ταυτόχρονη ανίχνευση πολλών βακτηριακών, ιογενών και μυκητικών παθογόνων (**FilmArray[®]** multiplex PCR system)
- Με την τεχνική της **Real Time PCR** γίνεται ποσοτικός προσδιορισμός των παθογόνων στο αρχικό δείγμα και χρησιμοποιείται κυρίως για ανίχνευση και παρακολούθηση της πορείας ιογενών λοιμώξεων του ΚΝΣ (CMV, EBV, HSV1,2, HHV6, VZV, JCV, BKV).
- Οι λοιμώξεις για τις οποίες η **ορολογική προσέγγιση** είναι η μέθοδος εκλογής για την διάγνωσή τους είναι η νευροσύφιλη, η νευρομπορρελίσωση, η νευροβρουκέλλωση και οι λοιμώξεις από αρμποϊούς.

Ευχαριστώ για την προσοχή σας

