

Αυτοματοποιημένα Συστήματα

- ▶ Επιτρέπουν τη γρήγορη, τυποποιημένη και αξιόπιστη παραγωγή αποτελεσμάτων.
- ▶ Η σύνδεσή τους με το LIS (Laboratory Information System) επιταχύνει τη ροή εργασίας και μειώνει τον ανθρώπινο φόρτο.



Αυτοματοποιημένα Συστήματα

«Πόσοι διαθέτετε;»

«Πόσοι τα εμπιστεύεστε 100%;»

Αυτοματοποιημένα Συστήματα

- ▶ **Αυτοματοποιημένα συστήματα = Εργαλείο, Όχι Ευαγγέλιο!**

Προσφέρουν εξαιρετικά χρήσιμα αποτελέσματα, αλλά σε κρίσιμα αντιβιοτικά ή ύποπτα pattern χρειάζονται την επαγρύπνηση του χρήστη

Αντιβιοτικό	Μικρόβιο	Πρόβλημα	Λύση
Vancomycin	MRSA	Όχι ακριβής MIC, ετεροανθεκτικότητα	Etest/BMD
Colistin	Gram-αρνητικά	Προσρόφηση → ψευδής αντοχή	Μόνο BMD
Daptomycin	Enterococcus spp.	Υποεκτίμηση MIC	Επιβεβαίωση Etest/BMD

Αυτοματοποιημένα Συστήματα - Περιορισμοί

- ▶ **ενδογενείς περιορισμοί,**
- ▶ **τεχνικοί παράγοντες**
 - επιμόλυνση του dispenser,
 - χρήση ακατάλληλου saline για την προετοιμασία του εναιωρήματος,
 - καθυστερήσεις στην επώαση,
 - κακή συντήρηση του μηχανήματος ή των καρτών, αλλά και
 - software

Etest – Λωρίδα Κλίσης Αντιβιοτικού (Gradient Diffusion Method)

Τι είναι:

Μια λεπτή, πλαστική ταινία με ένα προκαθορισμένο κλιμακωτό διάγραμμα συγκεντρώσεων αντιβιοτικών

Πώς λειτουργεί:

Εφαρμόζεται σε Mueller Hinton agar και επωάζεται για 16-20h (βλ. Kirby Bauer)
Κλιμακωτή απελευθέρωση αντιβιοτικού στο άγαρ

Πώς διαβάζεται:

Μετά την επώαση, εμφανίζεται η αναστολή.

Η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) διαβάζεται από την κλίμακα στην ταινία, στο σημείο όπου το περίγραμμα της έλλειψης τέμνει την ταινία.

Αξιολογείται με τους πίνακες του EUCAST

Χρήσεις:

- Για την επιβεβαίωση ενός αποτελέσματος, σε κρίσιμα αντιβιοτικά όπως Vancomycin, Linezolid, Daptomycin, και Tigecycline
- **Ακριβή προσδιορισμό MIC** σε περιπτώσεις όπου το automated αποτέλεσμα είναι οριακό ή ύποπτο



- «Τι θα κάνετε αν σε ασθενή με βακτηριαιμία με MRSA :
- Vancomycin το automated σύστημα δώσει MIC = 1 και
το Etest δείξει 2 mg/L;»

Οι αυτόματοι αναλυτές έχουν **περιορισμένη ακρίβεια** στο εύρος MIC 1–2 mg/L για MRSA
- Υποεκτιμούν ή στρογγυλοποιούν (πχ αν 1.4 ή 1.5 → 1)

Αυτή η μικρή διαφορά αλλάζει τη θεραπευτική απόφαση. Ενημέρωση κλινικού!

Glycopeptides and lipoglycopeptides ¹	MIC breakpoints (mg/L)		
	S ≤	R >	ATU
Dalbavancin ²	0.125 ^{3,4,5}	0.125 ³	
Oritavancin ² , <i>S. aureus</i>	0.125 ^{3,5}	0.125 ³	
Teicoplanin ² , <i>S. aureus</i>	2	2	
Teicoplanin, Coagulase-negative staphylococci	4	4	
Telavancin ² , MRSA	0.125 ^{3,6}	0.125 ³	
Vancomycin², <i>S. aureus</i>	2	2	
Vancomycin ² , Coagulase-negative staphylococci	4	4	

Στη βανκομυκίνη, όταν η MIC=2, αυξάνεται σημαντικά η πιθανότητα:

- θεραπευτικής αποτυχίας
- παρατεταμένης βακτηριαιμίας
- θνητότητας

Συνεπώς:

- Πρέπει να ανεβάσεις δόσεις → Νεφροτοξικότητα
- Αλλάξεις σε άλλο αντι-MRSA (π.χ. daptomycin)

Πλεονεκτήματα: μεγάλη ακρίβεια, εύκολη οπτική επαλήθευση

Περιορισμοί: υψηλότερο κόστος, ευαισθησία σε τεχνικά λάθη (inoculum, χρόνο επώασης, καθαρότητα υλικών).

Διεθνείς μελέτες:

Επιβεβαίωση: 1. όταν μια τιμή είναι οριακή
2. η νόσος είναι σοβαρή

Κλινικό σενάριο	Γιατί
MRSA βακτηριαιμία	Απαιτείται ακριβές MIC για θεραπεία
MRSA ενδοκαρδίτιδα	Ακόμη πιο κρίσιμο
Αργή κλινική ανταπόκριση	Υποψία MIC creep
MIC automated = 1	Να δω μήπως είναι 2
MIC automated = 2	Να τεκμηριώσω πριν αλλάξω θεραπεία

MIC creep = σταδιακή, αργή αύξηση του MIC για ένα αντιβιοτικό **στον χρόνο**, χωρίς να αλλάζει η κατηγορία ευαισθησίας.

- Δεν γίνεται “ξαφνικά ανθεκτικό”
- Παραμένει “ευαίσθητο” στην κάρτα
- Αλλά οι MIC τιμές **μετακινούνται προς τα πάνω** (π.χ. από 0.5 → 1 → 1.5 → 2 mg/L)



Γιατί μας αφορά;

Γιατί η θεραπεία **αποτυγχάνει πιο εύκολα** όταν το MIC ανεβαίνει, ακόμα κι αν το report γράφει “S”.

Επίσης:

Σε επαναλαμβανόμενα δείγματα ενός ασθενή με μικροβιακή ανάπτυξη και υπό θεραπεία → επαναλαμβάνουμε το αντιβιογράμμα γιατί μπορεί να έχει ξεκινήσει η ανάπτυξη αντοχής

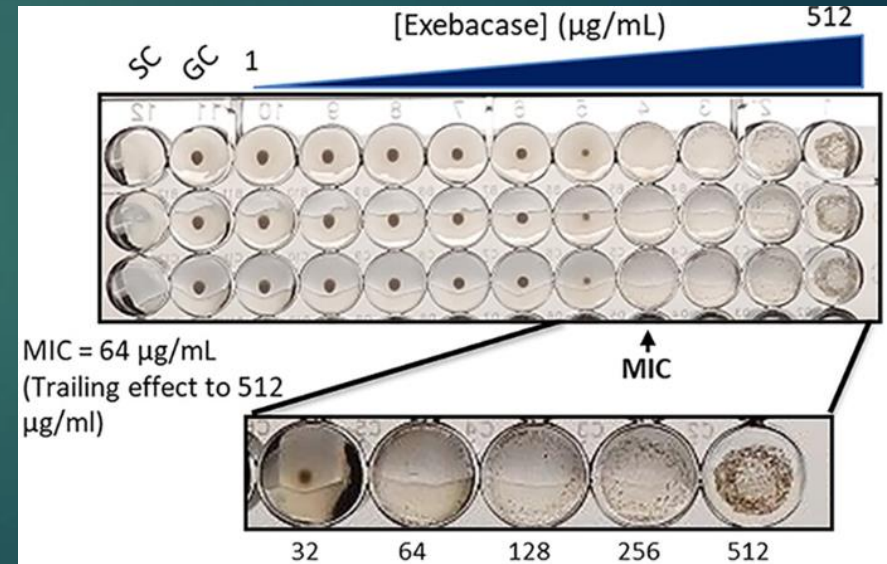
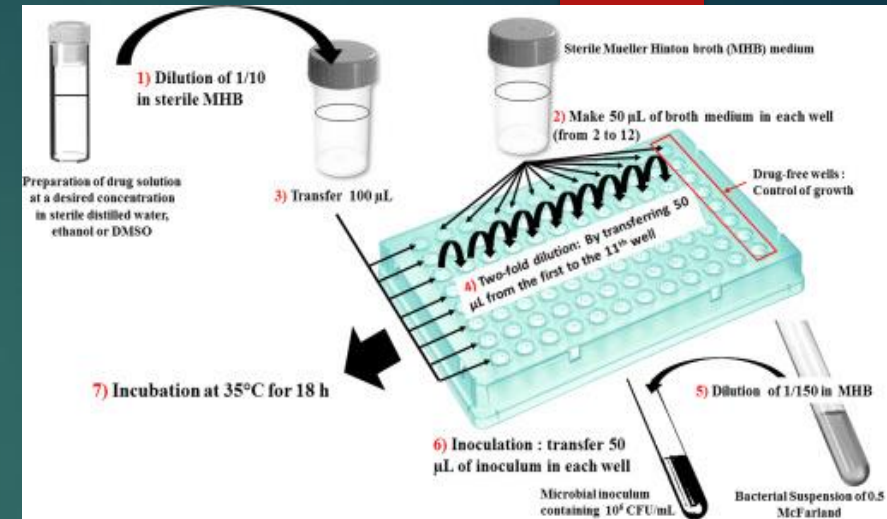
Broth Microdilution Method

- ▶ **Περιλαμβάνει:**
 - σειρές αραιώσεων του αντιβιοτικού σε μικροπλάκα,
 - ενοφθαλμισμό με εναίωρημα 0.5 mcFarland,
 - επώαση για 16–20 ώρες, 37°C και
 - οπτική ή αυτόματη ανάγνωση ανάπτυξης.
- ▶ **Επιβεβαίωση:**
 - αμφιλεγόμενων αποτελεσμάτων
 - αντιβιοτικά όπου άλλες μέθοδοι δεν είναι αξιόπιστες (πχ Colistin)

Πλεονεκτήματα: απόλυτη ακρίβεια, διεθνές πρότυπο αναφοράς.

Μειονεκτήματα: υψηλό κόστος, τεχνική πολυπλοκότητα, μη κατάλληλη για ρουτίνα.

- ▶ Πρέπει να υπάρχει στο εργαστήριο η δυνατότητα να εκτελείται σε επιλεγμένες περιπτώσεις, ειδικά αν θα επηρεάσει τη θεραπεία.



od



RAST – Rapid Antimicrobial Susceptibility Test

- ▶ Μόνο για θετικές αιμοκαλλιέργειες.
- ▶ Ταχεία εφαρμογή της disk diffusion,
- ▶ Παρέχει αποτελέσματα ευαισθησίας μέσα σε 4–8 ώρες από τη θετικοποίηση της φιάλης, χωρίς να χρειάζεται να προηγηθεί καλλιέργεια απομόνωσης.
- ▶ Διαδικασία:
 - Από τη θετική φιάλη αιμοκαλλιέργειας λαμβάνεται δείγμα
 - Επιστρώνεται σε **Mueller-Hinton άγαρ**
 - Τοποθετούνται **επιλεγμένοι δίσκοι** αντιβιοτικών ανάλογα με τον μικροοργανισμό (π.χ. με βάση τη χρώση Gram)
 - Η επώαση διαρκεί **4, 6 ή 8 ώρες**, ανάλογα με το είδος και το αντιβιοτικό.
 - Οι ζώνες μετρώνται και ερμηνεύονται με βάση τα **RAST-specific breakpoints**

RAST – Rapid Antimicrobial Susceptibility Test

► Πλεονεκτήματα:

- Πολύτιμη πρώιμη ένδειξη ευαισθησίας σε σηψαιμία.
- Επιτρέπει άμεση έναρξη ή προσαρμογή στοχευμένης θεραπείας.
- Μειώνει τον χρόνο διάγνωσης κατά τουλάχιστον 24 ώρες.

► Περιορισμοί:

- Εφαρμόζεται μόνο σε αιμοκαλλιέργειες, επί θετικής ένδειξης.
- Οι πρώιμες ζώνες μπορεί να είναι ασαφείς.

► Παράδειγμα εφαρμογής:

Σε θετική αιμοκαλλιέργεια με *E. coli*, το RAST μπορεί να δείξει αντοχή σε 3ης γενιάς κεφαλοσπορίνες μέσα σε 6 ώρες, → δυνατότητα άμεσης αλλαγής θεραπείας άμεσα

Πρακτικές Επισημάνσεις

- ▶ Καμία μέθοδος δεν είναι αλάνθαστη.
- ▶ Μικρά τεχνικά σφάλματα (inoculum, χρόνος επώασης, θερμοκρασία, επιμόλυνση, λάθος ανάγνωση) μπορούν να οδηγήσουν σε ψευδή MIC ή εσφαλμένη κατηγοριοποίηση.
- ▶ Για κρίσιμα περιστατικά ή ύποπτα αποτελέσματα, **πρέπει να γίνεται δεύτερος έλεγχος** με διαφορετική μέθοδο.
- ▶ Ευθύνη του εργαστηρίου → **ακριβή, επαληθευμένα και τεκμηριωμένα αποτελέσματα.**

