

Προκαταρτική ταυτοποίηση Συμβατικές μέθοδοι

Μαρία Φουστούκου



Ταξινόμηση, ονοματολογία, ταυτοποίηση μικροβίων

- **Ταξινόμηση** είναι η κατάταξη των μικροβίων σε Οικογένειες και Γένη
- **Ονοματολογία** είναι μέσο επικοινωνίας. Τα μικρόβια έχουν δύο ονόματα: το 1^ο δηλώνει το γένος, το 2^ο το είδος π.χ. *Staphylococcus aureus*
- **Ταυτοποίηση** είναι η χρήση των κριτηρίων ταξινόμησης για να ξεχωρίσουμε κάποιους μικροοργανισμούς από κάποιους άλλους.

Ταυτοποίηση

Καθαρή καλλιέργεια

- Μορφολογία αποικίας και Gram χρώση – προκαταρτική ταυτοποίηση
- Βιοχημικές, αντιγονικές ιδιότητες, χαρακτηριστικά ανάπτυξης →
2 ονόματα → κλινικούς σκοπούς
- *Molecular and genetic characteristic*
- *G+C, DNA homology, thermal stability* →
επιδημιολογικούς και δικαστικούς σκοπούς

Gram(+) **μικρόβια**



- **Gram(+) κόκκοι**

- καταλάση +

- καταλάση -

- **Gram(+) βακτηρίδια**

Κατάλαση (+) Gram (+) κόκκοι

Γένη :

- Staphylococcus
- Micrococcus
- Stomatococcus
- Rothia
- Planococcus

Κατάλαση (+) Gram (+) κόκκοι

Αποικίες κίτρινες, ή
λευκές κοκκιώδεις
στερεά κολλημένες στο άγαρ.
Δεν τις ελέγχουμε.
Διαφορετικά: ↓

Slide Co +
Latex Staph +

Slide Co-

Latex
Staph-

έλεγχος ευαισθησίας σε δίσκο Bacit ≥ 10 mm

Poly B < 10 mm

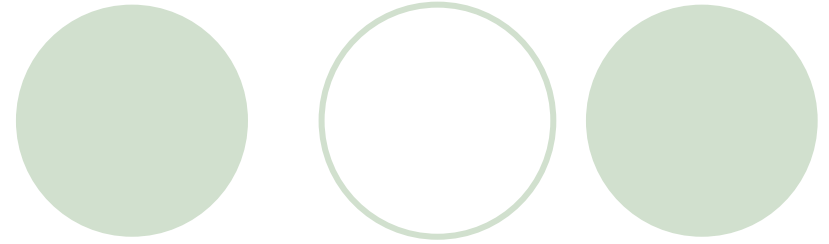
Poly B ≥ 10 mm

Rothia mucilaginosa

Micrococcus group

Bacitacin 0.04-U

δίσκος ταυτοποίησης

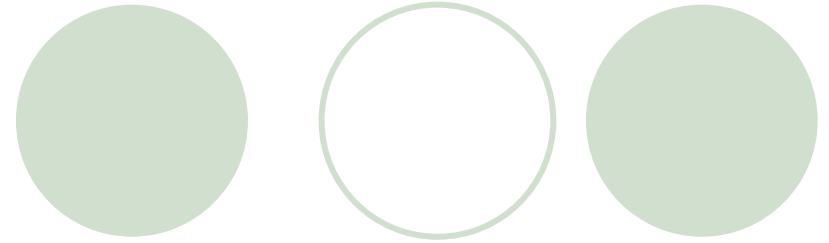


Δοκιμή ευαισθησίας στη Bacitracin χρησιμοποιείται

- προκαταρτική ταυτοποίηση του *Streptococcus pyogenes*
- διαχωρισμό των Staphylococci από *Rothia mucilagenosus* (Stomatococcus m.) και Micrococcus
- Διαχωρισμό των Pen=E Micrococcus και Rothia από τους Pen=A κοαγκουλάση –αρνητικούς σταφυλοκόκκους

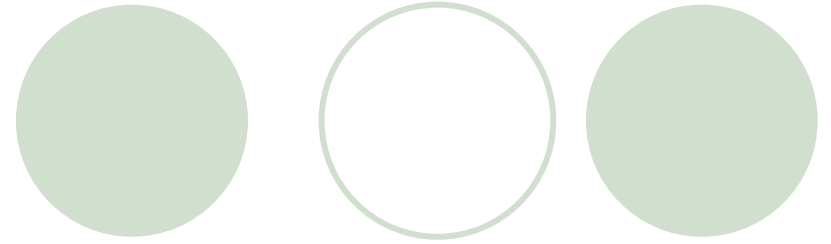
Bacitracin 0.04 U

(συνέχεια)



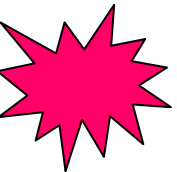
- Ελεγχος σε BA (αιματούχο) ή MH άγαρ
- Ζώνη αναστολής 6mm → Αντοχή
- Ζώνη αναστολής $\geq 10\text{mm}$ → Ευαισθησία
- Ζώνη αναστολής 7-10mm → Επανάληψη
- *Streptococcus pyogenes* = E
- *Streptococcus agalactiae* = A
- Coagulase negative staphylococci = A
- Rothia, Micrococcus = E
- QC *S.Pyogenes* ≥ 12 *S.aureus*: 6

Σταφυλόκοκκοι



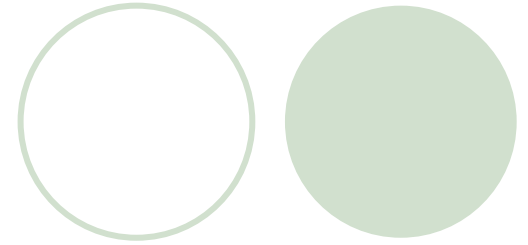
- Κοαγκουλάση θετικοί
 - *Staphylococcus aureus* , *S. intermedius*
- Κοαγκουλάση αρνητικοί
 - *Staphylococcus epidermidis*, *S. warneri* ,
S. haemolyticus, *S. saprophyticus*, *S. hyicus*

Κατά την ταυτοποίηση των Σταφυλοκόκκων εκτός από τη μορφολογία των αποικιών και τη μικροσκοπική εικόνα (Gram) λαμβάνονται υπ' όψη **το ιστορικό του ασθενή και η προέλευση του δείγματος**



Καταλάση (+), Gram (+) κόκκοι

εξετάσεις, αντιδραστήρια



- Καταλάση: 3% H₂O₂
- Κοαγκουλάση ελεύθερη: ελέγχεται σε σωληνάριο (μέθοδος αναφοράς)
- Κοαγκουλάση συνδεδεμένη: συγκόλληση σε πλάκα
- Ορνιθίνης αποκαρβοξυλίωση
- Πυρρολιδονυλ-β-ναφθυλαμίνη (ΠΥΡ)
- Δίσκοι ταυτοποίησης:
 - polymyxin B (300U),
 - novobiocin (5 g),
 - bacitracin (0.04U),
 - vancomycin

Καταλάση (+), Gram (+) κόκκοι Σταφυλόκοκκοι-Κοαγκουλάση

- Κοαγκουλάση ελεύθερη: ελέγχεται σε σωληνάριο με πλάσμα κουνελιού
- Κοαγκουλάση συνδεδεμένη ή παράγων θρόμβου ή clumping factor (C.F.) ελέγχεται σε πλάκα:
 - Συγκόλληση σε πλάκα:
 - α) πλάσμα κουνελιού
 - β) εμπορικά κιτ latex Staph (C.F. + Πρωτεΐνη A + αντιγόνα ελύτρου)

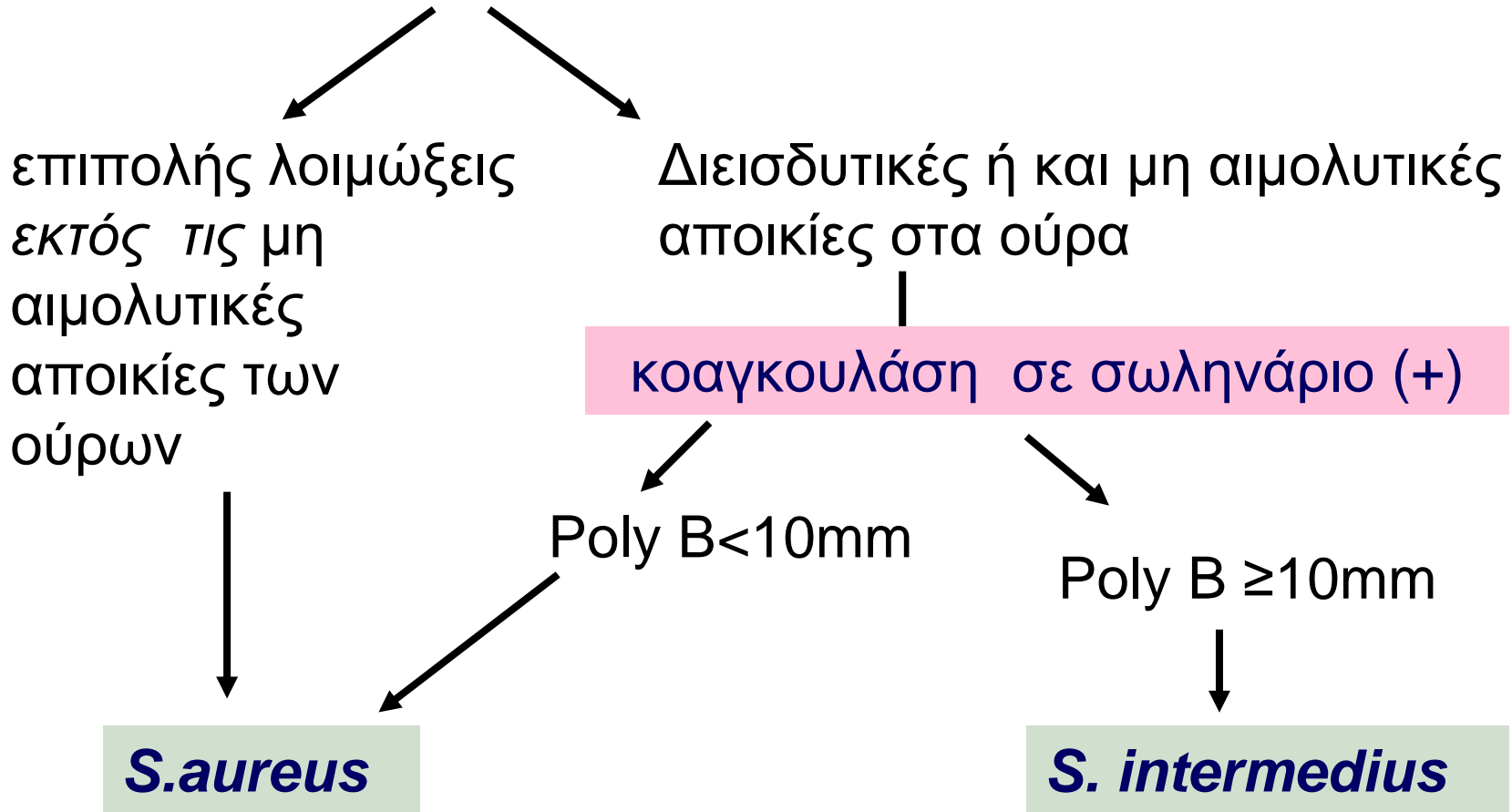
Σχόλια για κοαγκουλάση

Κοαγκουλάση σε πλάκα

- **Δεν ελέγχουμε αποικίες που αναπτύχθηκαν σε εκλεκτικά θρεπτικά υλικά (π.χ Charman, MacConkey) γιατί τα στελέχη αυτοσυγκολλούνται και το αποτέλεσμα είναι ψευδώς θετικό ή ψευδώς αρνητικό.**
- Διαβάζουμε τα ένθετα των εμπορικών kits (latex Staph) για τα ψευδώς θετικά ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα.
 - **Q.C: 1) *S.aureus*, 2) *S. epidermidis***

Κατάλαση (+), Gram (+) κόκκοι Σταφυλόκοκκοι

- Κοαγκουλάση (+) ή latex Staph. (+)



Κατάλαση (+) gram (+) κόκκοι κοαγκουλάση (-) Σοβαρές διεισδυτικές λοιμώξεις

- Κοαγκουλάση (-) ή latex Staph (-)

Κοαγκουλάση σε σωληνάριο (-)

Bacit = A (προαιρετικό)

Bacit \geq 10mm

PYR(-) ή
PYR(+) &/ή ornithine (-) ή
Poly B \geq 10mm

CoNS

PYR (+) &/ή ornithine (+) ή
Poly B < 10mm

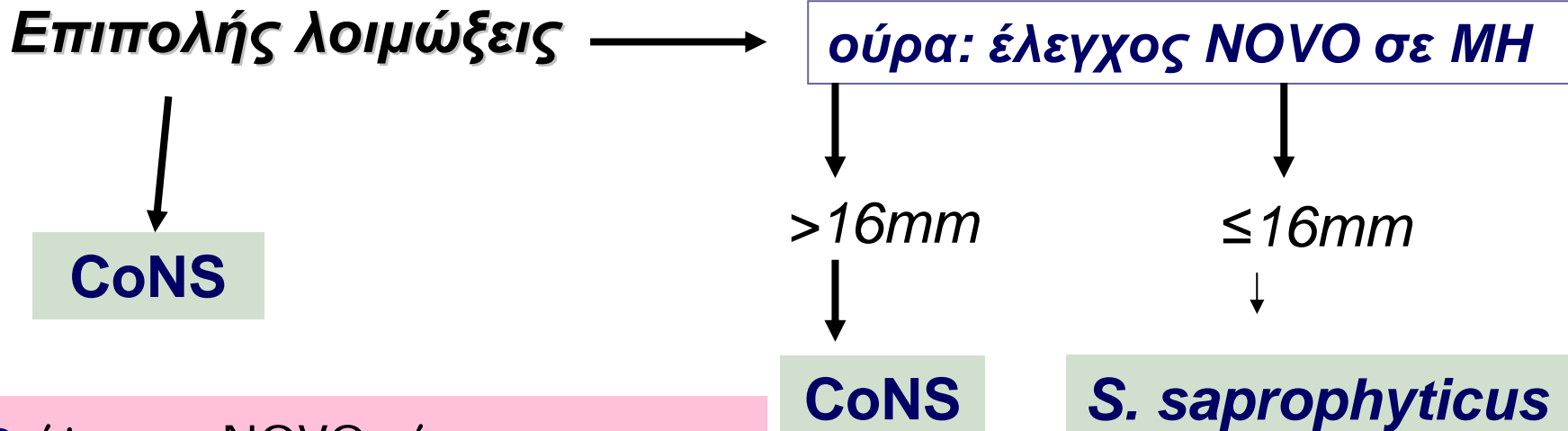
S. lugdunensis

***Micrococcus
Rothia***

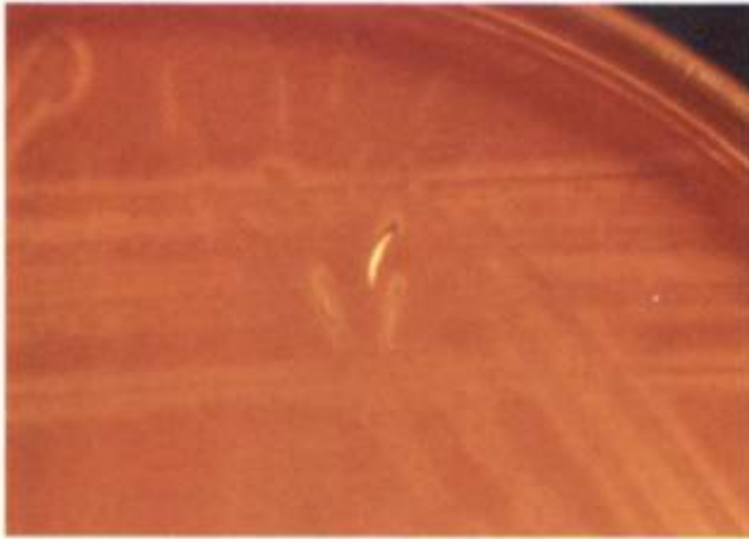
Κατάλαση (+) gram (+) κόκκοι κοαγκουλάση (-) Επιπολής λοιμώξεις

- Κοαγκουλάση σε πλάκα (-) ή latex Staph (-)

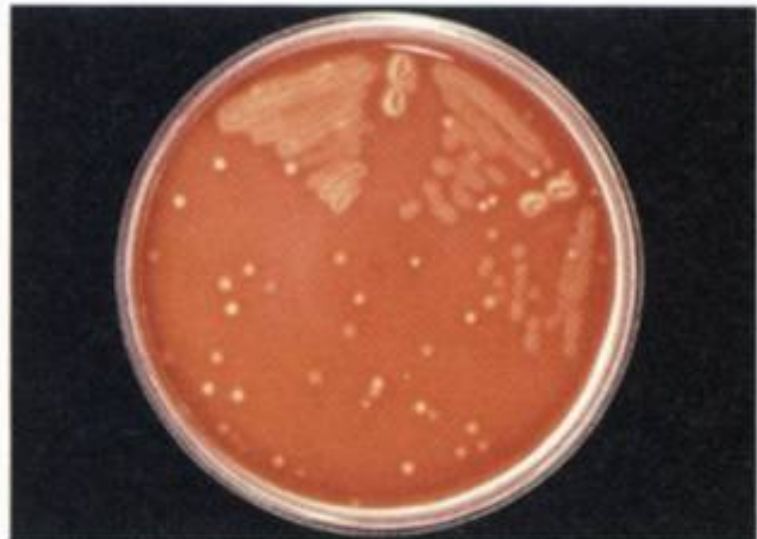
Κοαγκουλάση σε σωληνάριο (-)



SOS έλεγχος NOVO μόνο για ταυτοποίηση Co(-) στα ούρα.
NOVO σε αιματούχο αντοχή ≤12 mm



α -hemolysis on a streak and stab plate.



β -hemolysis on a pour, streak and stab plate.



α -hemolysis surrounding a colony in a pour plate.



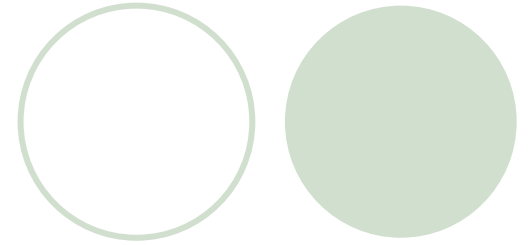
α -prime hemolysis surrounding a subsurface colony in a pour plate.

Κατάλαση (-) Gram (+) κόκκοι

Γένη:

- Streptococcus
- Enterococcus
- Aerococcus, Gemella, Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus - σπάνια παθογόνα για τον άνθρωπο

Κατάλαση (-) Gram (+) κόκκοι **Streptococcus**



Γένος: **Streptococcus**

- *S. pyogenes* (group A)
- *S. agalactiae* (group B [GBS])
- *S. dysgalactiae* (group C& G)
- *S. pneumoniae*
- *S. anginosus* group, *S. mitis* group, *S. salivarius* group, *S. mutans* group, *S. bovis* group = Viridans streptococcal groups

ΣΤΡΕΠΤΟΚΟΚΚΟΙ

Ταξινόμηση και ιδιότητες (I)

● Ταξινόμηση

- ✓ σύμφωνα με την αιμόλυση στο αιματούχο άγαρ:
αλφα-ατελής, βήτα-πλήρης, γάμμα-χωρίς αιμόλυση
- ✓ σύμφωνα με τις ορολογικές κατά Lancefield ομάδες A-H, K-V, όμως δεν έχουν όλοι οι στρεπτόκοκκοι το ειδικό αντιγόνο της ομάδας στο κυτταρικό τους τοίχωμα

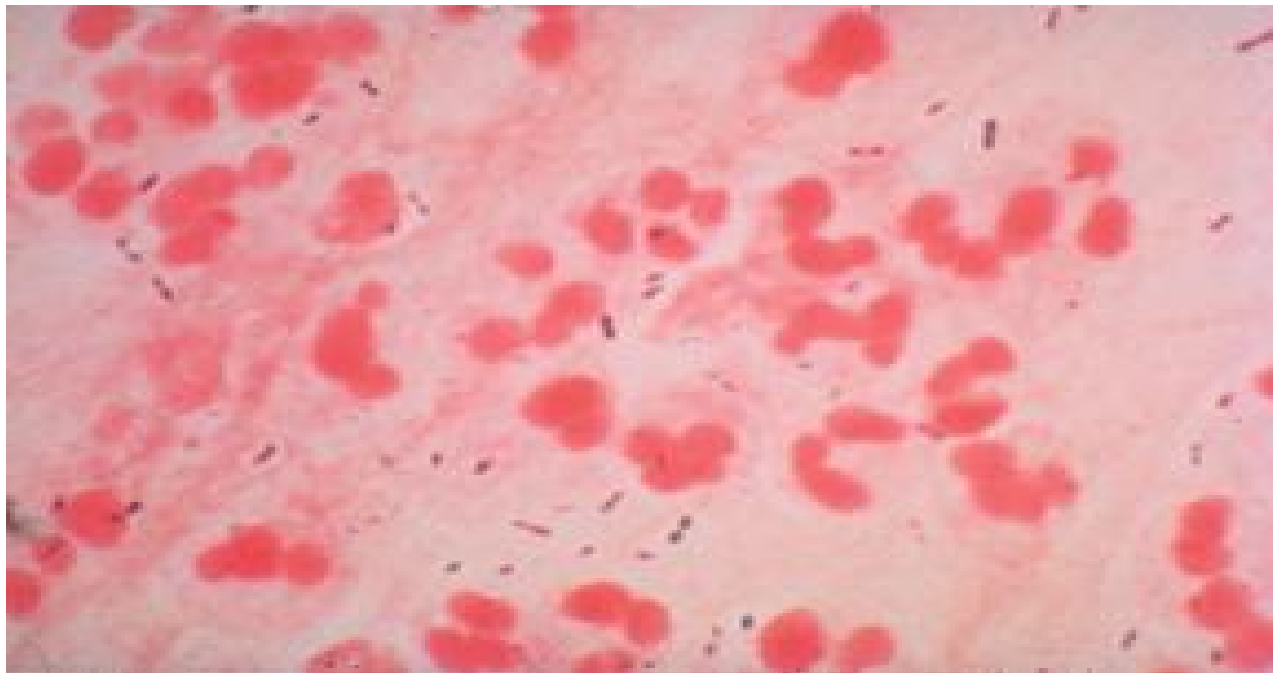
ΣΤΡΕΠΤΟΚΟΚΚΟΙ

Ταξινόμηση και ιδιότητες (II)

- A *S.pyogenes* bacitracin β-αιμόλυση
- B *S.agalactiae* CAMP β-αιμόλυση
- C *S.aginosus* β , α
- D *S.bovis* α , γ
- - *S.pneumoniae* optochin + α
- - *S.salivarius* optochin - α

Streptococcus pneumoniae

- Gram + κόκκος, λογχοειδής, σε ζεύγη (διπλόκοκκος) ή κοντές αλυσίδες



Πνευμονιόκοκκος ή πρασινίζων Στρεπτόκοκκος ?

- Αποικίες του πνευμονιοκόκκου σε αιματούχο και σοκολατόχρωμο είναι μικρές, γκριζωπές, βλεννώδεις και περιβάλλονται από πράσινη ζώνη αλφαιμόλυσης.
- Η ανάπτυξή του ευνοείται από την παρουσία CO₂ 5-10 %

Πνευμονιόκοκκος ή πρασινίζων Στρεπτόκοκκος ?

● Ταυτοποίηση *Streptococcus pneumoniae*

❖ Οι **αποικίες** των πνευμονιοκόκκων και των αιμολυτικών πρασινιζόντων στρεπτοκόκκων όταν είναι νεαρές μοιάζουν.

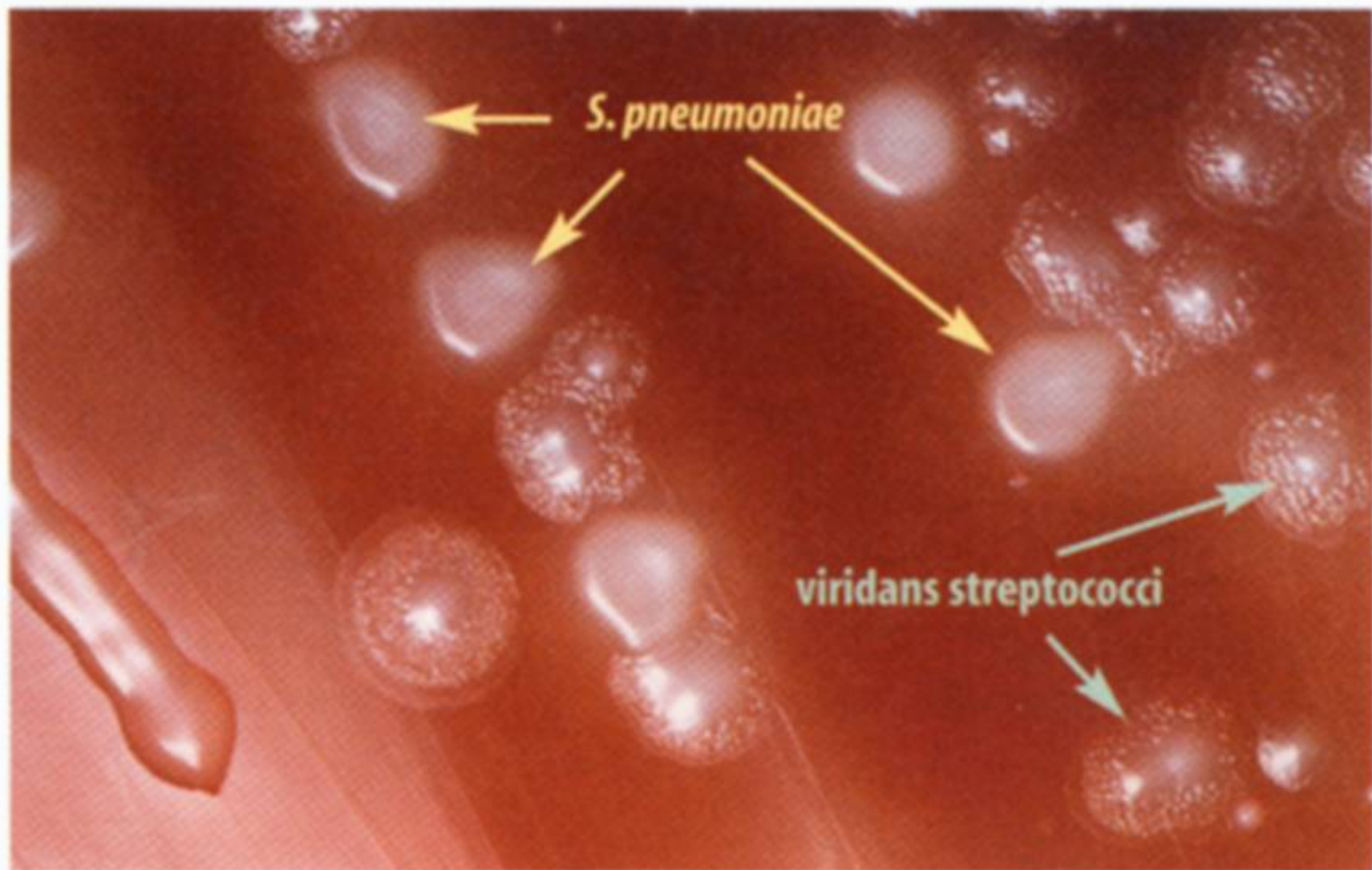
❖ Μετά 24-48 ώρες το κέντρο της αποικίας των πνευμονιοκόκκων κατεβαίνει, σχηματίζοντα «πιατάκια», ενώ των πρασινιζόντων όχι (παραμένουν επηρμένες)

Οπτοχίνη:

• *S. pneumoniae*=E, *viridans strep.*=A

Διαλυτότητα στη χολή:

• *S. pneumoniae*=E, *viridans.strep* =A



The *S. pneumoniae* has a depressed center (yellow arrows) at 24 – 48 hours incubation, whereas the viridans streptococci retain a raised center (black arrows).

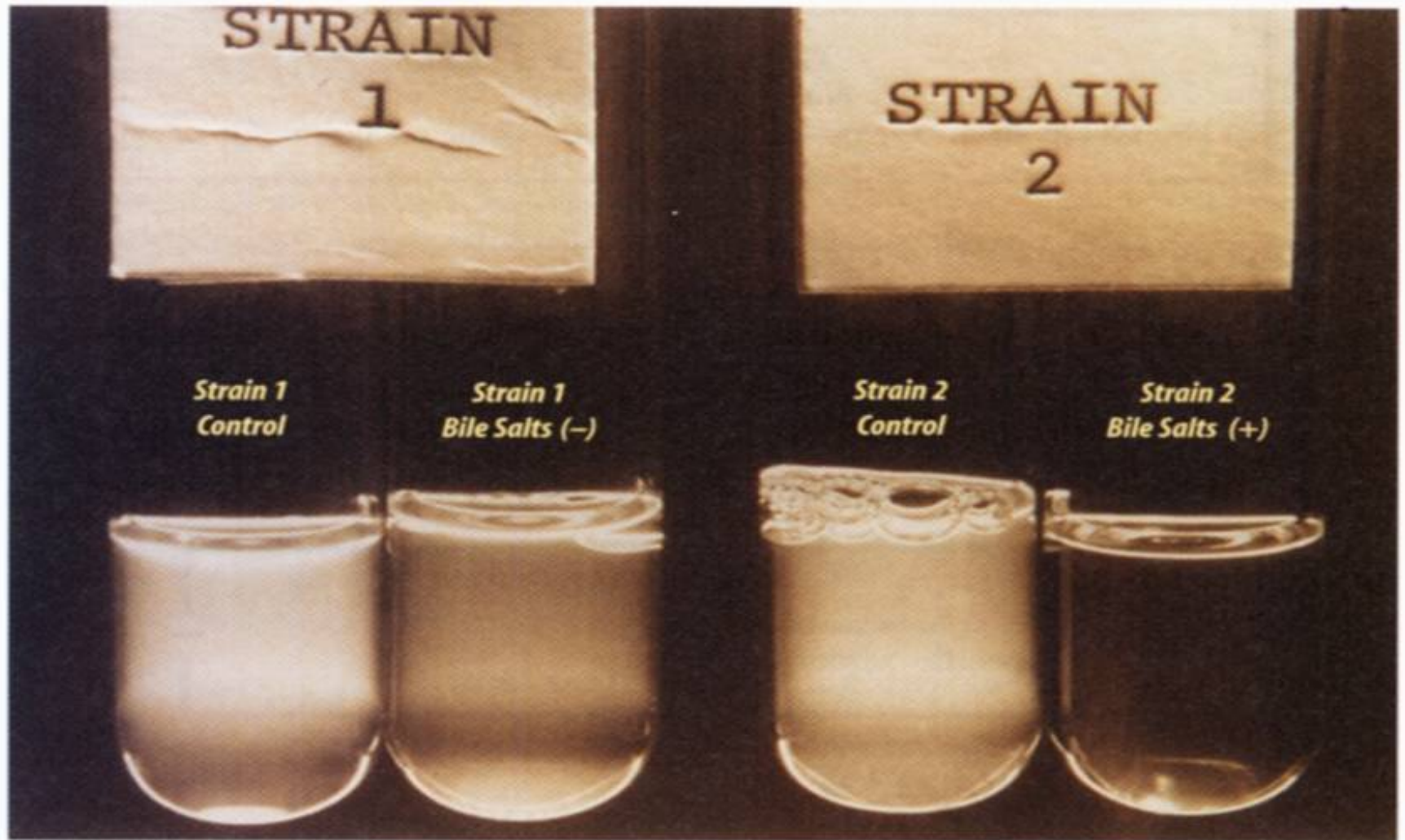
Πνευμονιόκοκκος: ο μοναδικός στρεπτόκοκκος ευαίσθητος στην οπτοχίνη



Streptococcus pneumoniae
on Blood Agar Plate
"P" disc (Optochin sensitive)

Δίσκος Οπτοχίνης διαμέτρου 6mm και περιεκτικότητας 5 mg

- Καλλιεργούμε την αποικία σε αιματούχο τοποθετούμε δίσκο Οπτοχίνης
- Επώαση τρυβλίων:
 - σε CO₂ 5% / 35°C/ 18-24 ώρες
- **Αξιολόγηση αποτελεσμάτων**
 - ❖ Ζώνη αναστολής ≥ 14 mm: πνευμονιόκοκκος
 - ❖ Καμία ζώνη αναστολής: πρασινίζοντες στρεπτόκοκκοι
 - ❖ Ζώνη-αναστολής 9-13 mm: έλεγχος διαλυτότητας στη χολή .



Results of the bile solubility test are shown for two different strains of bacteria. A slight decrease in turbidity is observed in the tube containing bile salts for strain 1 (2nd tube from left), but the contents are almost as turbid as the control tube (far left); therefore, strain 1 is not *Streptococcus pneumoniae*. Strain 2 is *S. pneumoniae*: all turbidity in the tube on the far right has disappeared, the clearness indicating that the cells have lysed; in contrast, the control tube (2nd from right) is still turbid and cells are intact.

Αλγόριθμος ταυτοποίησης *S. pneumoniae* σε δείγματα από στείρες περιοχές (αίμα, ΕΝΥ)

Εμβολιασμός σε αιματούχο και/ή σοκολατόχρωμο

Χρώση Gram

Αποικίες μικρές, γκριζωπές,
υδαρείς, περιβαλλόμενες από
πράσινη ζώνη α-αιμόλυσης

Gram (+) διπλόκοκκοι ή
Gram (+) κόκκοι σε
αλυσίδες

Δοκιμή ευαισθησίας στην οπτοχίνη (δίσκος 6mm, 5μg)

α-αιμολ.στελ.
Opt \geq 14 mm

S. pneumoniae

α-αιμολ.στελ.
Opt 9-13mm

**Δοκιμασία διαλυτότητας
στη χολή**

Διαύγαση

S. pneumoniae

α-αιμολ.στελ.
Opt \leq 8mm

***Viridans
strep***

Opt = A

***S.pn.* = αρν**

Θολερότητα

ΌΧΙ *S. pneumoniae*

Gram (-) Μικρόβια



- Τα Gram-αρνητικά μικρόβια είναι μία ετερογενής ομάδα που περιλαμβάνει πολλές οικογένειες, γένη και είδη πολλά από τα οποία προκαλούν σοβαρές λοιμώξεις και ενδοτοξικό σοκ .
- Η ταχεία και ακριβής ταυτοποίηση των Gram (-) βακτηριδίων και Gram (-) διπλοκόκκων παρέχει έγκαιρη και σωστή έναρξη της αντιμικροβιακής αγωγής.
 - Gram (-) cocci
 - Gram (-) rods

Ταυτοποίηση Gram-αρνητικών μικροβίων

Αντιδραστήρια I

1. Καταλάση 3 και 30%
2. Ινδόλη (spot, Kovac's, Ehrlich's)
3. Οξειδάση
4. Polymyxin B (300U) ή colistin 10mg & penicillin 10U
5. MH agar
6. Butyrate test (spot test –Remel)

Ταυτοποίηση Gram-αρνητικών μικροβίων

Αντιδραστήρια (II)

7. Aminolevulinic acid (ALA)
8. Pyrrolidonyl-b- naphthylamide (PYR)
9. Triple sugar iron agar (TSI) ή Kligler's iron agar (KIA)
10. Ταχεία μέθοδος ουρίας
11. Υλικό κινητικότητας
12. Kit ταυτοποίησης *Neisseria*
13. Kit(s) enteric και αζυμωτικών και άλλων απαιτητικών βακτηριδίων
14. Δίσκοι 0/129 μg (δ.δ. *Aeromonas, Vibrio, Plesiomonas*)

Καλλιέργεια Gram-αρνητικών μικροβίων

- Κοινά θρεπτικά υλικά:
 - Αιματούχο (BA)
 - Σοκολατόχρωμο (CHOC)
- Εκλεκτικά διαφορο-διαχωριστικά υλικά:
 - MacConkey
 - SS
 - EMB

1. Καλλιέργεια δείγματος από στείρες περιοχές (αίμα, ΕΝΥ, αρθρικό κ.λ.π)

1^η περίπτωση

- Αιματούχο: ανάπτυξη
- Σοκολατόχρωμο: ανάπτυξη
- MacConkey: καμία ανάπτυξη

2^η περίπτωση

- Ανάπτυξη μόνο στο σοκολατόχρωμο

3^η περίπτωση

- Ανάπτυξη και στα τρία υλικά

1^η και 2^η περίπτωση

- Αιματούχο (BA) +, Σοκ.+ , MacConkey –
- Μορφολογία της αποικίας
- Gram-χρώση → Gram αρνητικός κόκκος, ή Gram αρνητικό βακτηρίδιο
- Οξειδάση από το Αιμ. ή το Σοκ.*
- Καταλάση test

* Για να αποφύγουμε την λάθος ταυτοποίηση η εξέταση δεν παραλείπεται . Εξαιρούνται οι φανερά ερπύζουσες και οι δορυφορικές αποικίες.

Ταυτοποίηση Gram-αρνητικών μικροβίων περιπτώσεις 1,2

Αξιολόγηση ανάπτυξης σε MacConkey (I)

MaC (-)

Gram απο αιματούχο ή σοκολατόχρωμο



Βακτηρίδιο ή κοκκοβακτηρίδιο



MaC (+)



Οξειδάση

Διπλόκοκκοι



Neisseria
Moraxella catarrhalis

Ανάπτυξη-/+ σε αιματ.αεροβίως + 5% CO₂

BA -



Haemophilus

BA +



Brucella
Pasteurella
Κάποια αζυμωτικά

Gram-αρνητικοί διπλόκοκκοι

Οξειδάση θετικοί

Αιματούχο
αποικίες
«μετακινούμενες»
Butyrate test +

***Moraxella
catarrhalis***

Αποικίες κίτρινες:
σαπροφυτικές
ναϊσσέριες

Kits: rapid ID NH
Neisseria
Screen...

Neisseria meningitidis
N. lactamica, N. gonorrhoeae
Σαπροφυτικές ναϊσσέριες

Αποικίες:

- οχι *M. catarrhalis*
- οχι κίτρινες

καταλάση

ο
χ

Gram(-) κοκκοβακτηρίδια

Οροομάδες A,B,C,
Y, W-135

Σχόλια για τους Gram(-) διπλόκοκκους

- Όλοι οι αερόβιοι Gram (-) διπλόκοκκοι είναι οξειδάση θετικοί.
- Σε περίπτωση αμφιβολίας: **κόκκος ή κοκκοβακτηρίδιο?**
 - ❖ Κάνουμε ανακαλλιέργεια σε άγαρ με δίσκο πενικιλίνης 10U
 - ❖ Κάνουμε Gram χρώση γύρω από τον δίσκο.
 - ❖ *Neisseria & Moraxella catarrhalis* παραμένουν κόκκοι ενώ *Moraxella* spp & *Acinetobacter* είναι βακτηρίδια με νηματοειδείς μορφές.



sos

3^η περίπτωση

- Αιμ (+), Σοκ (+), MacConkey (+)
- Οξειδάση
- Ινδόλη *
- ✓ α) **ινδόλη spot**: για αρνητικά βακτηρίδια που αναπτύσσονται σε B.A
- ✓ β) **ινδόλη με Kovacs**: για μικρόβια που αναπτύσσονται φτωχά σε MAC
- ✓ γ) **ινδόλη σε σωληνάριο με Ehrlich's** για κίτρινες αποικίες
- * για να αποφύγουμε την λάθος ταυτοποίηση δεν παραλείπουμε την εξέταση

Ταυτοποίηση Gram-Αρνητικών Μικροβίων II

3^η περίπτωση [Αιμ(+), Σοκ (+), MaC (+)]

Ανάπτυξη και σε MacConkey (+)

↓
Οξειδάση

↓
αρνητική

Enterobacteriaceae

Μερικά αζυμωτικά
βακτηρίδια

↓
θετική

↓
ινδόλη

↓
θετική

Aeromonas
Plesiomonas
Μερικά *Vibrios*

↓
αρνητική

Χρωστική ?
Ελεγχ. TSI /KIA

Ταξινόμηση Εντεροβακτηριακών (I)

Γένη :

- *Salmonella* ,
- *Shigella*,
- *Escherichia*,
- *Yersinia*,
- *Klebsiella*,
- *Enterobacter*,
- *Citrobacter*,
- *Serratia*,
- *Hafnia* ,
- *Proteus*,
- *Providencia*,
- *Plesiomonas* (*P. shigelloides*)

Ταυτοποίηση Εντεροβακτηριακών (I) κοινά χαρακτηριστικά

- 1. όλα είναι δυνητικά αναερόβια
- 2. όλα ζυμώνουν την γλυκόζη *
- 3. όλα είναι οξειδάση αρνητικά **
- 4. ανάγουν τα νιτρικά σε νιτρώδη

Medical Microbiology & Immunology 6th ed., 2000

** εκτός *Plesiomonas shigelloides* 99% & *Serratia fecaria* 8%

* *P. shigeloides*. 80%

Manual of Clinical Microbiology 9th ed., 2007

Ταυτοποίηση Εντεροβακτηριακών (I) κοινά χαρακτηριστικά

- Αυτές οι 4 (?) αντιδράσεις διαχωρίζουν τα Εντεροβακτηριακά από τα αζυμωτικά, το σημαντικότερο των οποίων είναι η *P. aeruginosa*.
- Η *P. aeruginosa* δεν ζυμώνει την γλυκόζη, δεν ανάγει τα νιτρικά, είναι οξειδάση-θετική, και σε αντίθεση με τα εντεροβακτηριακά είναι αυστηρά αερόβια.

Θρεπτικά υλικά MacConkey, EMB

- Εκλεκτικά, διαφορο-διαχωριστικά υλικά
- Η **διαφορο-διαχωριστική τους ικανότητα** στηρίζεται στη **ζύμωση της λακτόζης** η οποία είναι το σημαντικότερο μεταβολικό κριτήριο που χρησιμοποιείται στην ταυτοποίηση των εντεροβακτηριακών.
- Η **εκλεκτική τους δράση** στηρίζεται στην αναστολή ανάπτυξης των Gram(+) μικροβίων από τα χολικά άλατα και τις χρωστικές που περιέχουν.

Ταυτοποίηση Εντεροβακτηριακών (II)

MacConkey agar: ζύμωση λακτόζης

Ζύμωση	Γένη
Ναι αποικίες κόκκινες / ροζ	<i>Escherichia</i> (lactose +), / <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i>
Όχι αποικίες άχρωμες	<i>Shiggella</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Escherichia</i> (lactose -) , <i>Yersinia</i> , <i>Proteus</i> , <i>Providencia</i> , <i>Morganella</i>
Βραδέως ζυμούνται	<i>Serratia</i> , <i>Citrobacter</i>

Μορφολογία αποικίας των πλέον κοινών εντεροβακτηριακών σε MacConkey & αιματούχο

Γένος, είδος	MacConkey	Αιματούχο.
<i>Salmonella, Shigella</i>	άχρωμες, επίπεδες	λείες 2-3mm
<i>E.coli</i> lactose (+)	κόκκινες, ιζήματα χολής	λείες 2-3mm
<i>E. coli</i> lactose (-)	άχρωμες	λείες 2-3mm
<i>Yersinia enterocolitica</i>	άχρωμες <1mm	λείες<1mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ρόζ, βλεννώδεις, 3-4μμ	βλεννώδεις 3-4mm
<i>Enterobacter</i>	ρόζ βλεν. όχι όσο Klebs.	λείες 3-4mm
<i>P. vulgaris, P. mirabilis</i>	άχρωμες, επίπεδες 2-3μμ	ερπυσμός
Άλλοι <i>Proteus, Providencia, Morganella</i>	άχρωμες, επίπεδες, δεν ερπύζουν, 2-3μμ	επίπεδες, δεν ερπύζουν, 2-3mm

Triple Sugar Iron Agar (TSI) Kligler Iron Agar (KIA)

- TSI (τριπλοσακχαρούχο σιδηρούχο άγαρ): περιέχει τα σάκχαρα glucose, lactose, sucrose, και ferrous sulfate (δ.phenol red, δ.H₂S)
- KIA: περιέχει δύο σάκχαρα glucose, lactose και ferrous sulfate (δ.phenol red, δ.H₂S)

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

- Ζύμωση γλυκόζης: κίτρινη στήλη, ± αερίου
- Ζύμωση λακτόζης: κίτρινη λοξή επιφάνεια
- Παραγωγή H₂S : μαύρισμα στήλης

QC: *E.coli*, *S.flexneri*, *Salmonella* H₂S(+)

● TSI



On triple sugar iron agar (TSI) or Kligler iron agar (KIA) slants, *S. Typhi* characteristically produces an alkaline slant (red, "K"), an acid butt (yellow, "A"), and a small amount of blackening of the agar (H_2S , +) at the site of the stab on the slant and in the stab line; no gas (G) is produced.

TSI, Kligler

Αντιδράσεις στη				Γένη
Λοξή επιφάνεια	Στήλη	Αέριο	H ₂ S	
Όξινη (κίτρινο)	Όξινη (κίτρινο)	+	-	<i>Escherichia, Enterobacter, Klebsiella</i>
Αλκαλική (κόκκινο)	Όξινη (κίτρινο)	-	-	<i>Singella, Serratia</i>
Αλκαλική (κοκκινο)	Όξινη (κίτρινο)	+	+	<i>Salmonella, Proteus</i>
Αλκαλική (κοκκινο)	Όξινη (κίτρινο)	-	+/-	<i>Salmonella typhi</i>
αλκαλική	αλκαλική	-	-	<i>Pseudomonas</i>

Προκαταρκτική ταυτοποίηση (1,2) Σαλμονέλλας τύπου: δείγματα από στείρες περιοχές & κόπρανα

Δ. στείρες.περιοχές 3^η περίπτωση

BA: γκρι,γυαλιστερές
διαφανείς ή όχι >1μμ
MaC: άχρωμες 2-3μμ

BA → Χρώση Gram
gram- βακτηρίδιο

1. Βιοχ.ταυτοπ.
κ/α TSI / KIA

2.Ορολογική ταυτοπ.
Αντισοροί Vi & D

Anti-Vi +
S. typhi

Anti-D +
Υποπτο για *S.typhi*

κόπρανα

S.S: αχρωμες 1-2μμ

MaC: άχρωμες, γυαλ., 2-3μμ

Κινητικ.+
Ουρία -
Ινδόλη -

Ταυτοποίηση *Salmonella*, *Shigella*

Πρακτικές οδηγίες I

- Σε κάθε θετική Αιμοκαλλιέργεια γίνεται αντιβιογράμμα και δεν περιμένουμε την βιοχημική ή ορολογική ταυτοποίηση.
- Από **μία** αποικία γίνεται ο εμβολιασμός ΚΙΑ/ΤΣΙ, και η ανακαλλιέργεια σε μη εκλεκτικό υλικό.
- Με ίσιο κρίκο αγγίζουμε ελαφρά **μόνο το κέντρο της αποικίας**.
- Δεν παίρνουμε όλη την αποικία , δεν την σύρουμε επάνω στην επιφάνεια του άγαρ γιατί υπάρχει κίνδυνος επιμόλυνσης

Πρακτικές οδηγίες II

- Εάν η αποικία δεν είναι «καθαρή», ανακαλλιεργείται και μετά εμβολιάζεται το KIA/TSI.
- Δοκιμή κινητικότητας : η επιφάνεια του άγαρ πρέπει να είναι στεγνή. Η υγρή επιφάνεια μπορεί να δώσει ψευδώς θετικό αποτέλεσμα. Η δοκιμή μπορεί να γίνει από τις αποικίες του KIA/TSI.
- Από **μία** καθαρή αποικία μπορούμε να εμβολιάσουμε συγχρόνως το άγαρ κινητικότητας και το KIA/TSI. Πρώτα την κινητικότητα μετά την στήλη και τέλος τη λοξή επιφάνεια του KIA/TSI.

CDC, WHO, USAID 2003

Πρακτικές οδηγίες III

- **Μετά τον εμβολιασμό του άγαρ κινητικότητας δεν παίρνουμε δεύτερη αποικία για να εμβολιάσουμε το KIA / TSI. Μπορεί να είναι άλλο μικρόβιο.**
- **Οι ορολογικές δοκιμασίες πρέπει να γίνονται με αποικίες από την επιφάνεια KIA, TSI, heart-infusion agar (HIA) ή άλλων μη εκλεκτικών υλικών.**
- **Οι ορολογικές δοκιμασίες δεν πρέπει να γίνονται από αποικίες που αναπτύχθηκαν σε εκλεκτικά θρεπτικά υλικά MaC, SS,DCA,XLD,EMB. Τα εκλεκτικά υλικά μπορεί να δώσουν ψευδώς αρνητικές ορολογικές δοκιμές.**

Οξειδάση



- Κάνουμε οξειδάση από το Αιματ., το Σοκολ. ,ΜΗ.
- Δεν κάνουμε οξειδάση από MacConkey, EMB.

Αξιολόγηση

- **Οξειδάση θετική:** Ναϊσσέριες, Ψευδομονάδες, Καμπυλοβακτηρίδια, Αερομονάδες, Παστερέλλες, Μοραξέλλες
- **Οξειδάση αρνητική:** Εντεροβακτηριακά (όλα?)

PYR (L-Pyrrolidonyl-b-Naphthylamide) πυρρολινοδάση

- Streptococcus pyogenes +
- Enterococcus +
- E.coli –
- Staphylococcus lugdunensis +
- Citrobacter freundii +
- Salmonella (H₂S+) -

Αναερόβια



- GNB- Bacteroides
- Fusobacterium
- Prevotella
- Porphyromonas
- Selenomonas

- GNC - Veillonella