

Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Ιατρική Σχολή
Εργαστήριο Μικροβιολογίας
ΜΟΝΑΔΑ ΜΥΚΗΤΟΛΟΓΙΑΣ
Υπεύθυνος : Γ. Βρυώνη, Επίκουρη Καθηγήτρια
Τηλ.: 210-7462129, 210-7462127
Fax: 210-7462210
Email: gvrioni@med.uoa.gr

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΟΝΑΔΑΣ είναι η διάγνωση μυκητιακών λοιμώξεων (επιπολής, υποδόριων και διεισδυτικών) με την εφαρμογή συμβατικών και μοριακών τεχνικών.

Το εργαστήριο εκτελεί καθημερινά εξετάσεις κατόπιν προγραμματισμού, αλλά **δεν** εφημερεύει.

Τα αποτελέσματα δίδονται γραπτά σε χρόνο που ποικίλει ανάλογα με το είδος της ζητούμενης εξέτασης, από αυθημερόν (π.χ. άμεση μικροσκοπική) έως ένα μήνα (π.χ. καλλιέργεια για δερματόφυτα) από την παραλαβή του κλινικού δείγματος.

Για τη χρέωση των υπηρεσιών του εργαστηρίου, παρέχεται απόδειξη παροχής υπηρεσιών, σύμφωνα με τους οικείους κανονισμούς του Πανεπιστημίου Αθηνών, καθώς και απόσπασμα της απόφασης του Πρυτανικού Συμβουλίου, όπου διαφαίνεται η συγκεκριμένη κοστολόγηση.

Η απόδειξη αυτή γίνεται δεκτή από τα ασφαλιστικά ταμεία ως δικαιολογητικό δαπάνης.

ΓΕΝΙΚΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ

Το δείγμα παρακαλείσθε να συνοδεύεται από σύντομο ενημερωτικό σημείωμα με:

Πλήρη στοιχεία του ασθενούς: ονοματεπώνυμο, ηλικία, επάγγελμα, εθνικότητα, χώρα προέλευσης ασθενούς, αιτούμενη εξέταση.

Συμπτώματα, υποκείμενα νοσήματα (ειδικά αν υπάρχει ανοσοκαταστολή), πρόσφατο ταξιδιωτικό ιστορικό, άλλα σχετικά εργαστηριακά ευρήματα και αν λαμβάνει κάποιο σχήμα φαρμακευτικής αγωγής (ανοσοκατασταλτικά, αντιβιοτική και αντιμυκητιακή θεραπεία).

Ονοματεπώνυμο θεράποντος ιατρού και τηλέφωνο επικοινωνίας μαζί του.

Το Εργαστήριο παραλαμβάνει δείγματα καθημερινά, εκτός Σαββάτου και Κυριακής, από τις 9.00 ως τις 15:00.

Το Εργαστήριο μπορεί να συστήσει τον τρόπο λήψης, καθώς και τα κατάλληλα υλικά λήψης και μεταφοράς των δειγμάτων.

ΓΕΝΙΚΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΛΗΨΗΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Ολικό Αίμα

Για καλλιέργεια αίματος: συνεννόηση με το Εργαστήριο για παραλαβή κατάλληλης φιάλης αιμοκαλλιέργειας και άμεση αποστολή της για επώαση

Για μοριακές τεχνικές: ποσότητα περίπου 2.5-3.0 cc σε αντιπηκτικό EDTA (όπως για τη γενική εξέταση αίματος). Το δείγμα μπορεί να διατηρηθεί στους 4°C για 24 ώρες.

Ορός

Για ανίχνευση μυκητιακών αντιγόνων/αντισωμάτων και γενετικού υλικού (DNA): Ποσότητα 2.5-3 cc σε σωληνάριο πήγματος. Άμεση αποστολή ή αποχωρισμός του ορού, μετά από φυγοκέντρηση, και φύλαξή του στους -20°C μέχρι την αποστολή του στο Εργαστήριο

Εγκεφαλονωτιαίο Υγρό (ENY)

Για καλλιέργεια, μοριακές τεχνικές, ανίχνευση αντιγόνων: συλλογή σε αποστειρωμένο δοχείο. Ποσότητα 0.5-1.0 cc (αν χρειάζονται περισσότερες της μιας εξέτασης από το ίδιο δείγμα, απαραίτητη η επικοινωνία με το Εργαστήριο).

Ταχεία μεταφορά (το δείγμα μπορεί να διατηρηθεί στους 4°C για 24 ώρες).

Άλλα βιολογικά υγρά παρακέντησης (περικαρδιακό, πλευριτικό, ασκитικό, περιτοναϊκό, αρθρικό)

Για καλλιέργεια, μοριακές τεχνικές, ανίχνευση αντιγόνων: συλλογή σε αποστειρωμένο δοχείο. Ποσότητα 2.5-3.0 cc (αν χρειάζονται περισσότερες της μιας εξέτασης από το ίδιο δείγμα, απαραίτητη η επικοινωνία με το Εργαστήριο).

Ταχεία μεταφορά (το δείγμα μπορεί να διατηρηθεί στους 4°C για 24 ώρες).

Δείγματα από το αναπνευστικό (πτύελα, βρογχικό έκπλυμα, BAL)

Το δείγμα τοποθετείται σε αποστειρωμένο δοχείο. Απαιτείται ταχεία μεταφορά του στο Εργαστήριο.

Κολπικό έκκριμα

Λήψη 2 δειγμάτων κολπικού εκκρίματος με βαμβακοφόρο στυλεό

- ένα σε φυσιολογικό ορό (για νωπό παρασκεύασμα και χρώση Gram)
- το δεύτερο κολπικό δείγμα τοποθετείται σε υλικό μεταφοράς για καλλιέργεια.

Υλικά βιοψίας – ιστοτεμαχίδια

Τα δείγματα τοποθετούνται σε αποστειρωμένα δοχεία με λίγο φυσιολογικό ορό και πρέπει να αποστέλλονται αυθημερόν στο εργαστήριο.

Για υλικά που έχουν τοποθετηθεί σε φορμόλη ή παραφίνη πρέπει να προηγείται συνεννόηση με το Εργαστήριο.

Οφθαλμικά δείγματα

Ξέσματα κερατοειδούς: Συνεννόηση με το Εργαστήριο για άμεσο ενοφθαλμισμό του δείγματος από τον Οφθαλμίατρο στα κατάλληλα θρεπτικά υλικά.

Ενδοφθάλμιο υγρό: τοποθέτηση σε αποστειρωμένο σωληνάριο και άμεση αποστολή στο Εργαστήριο

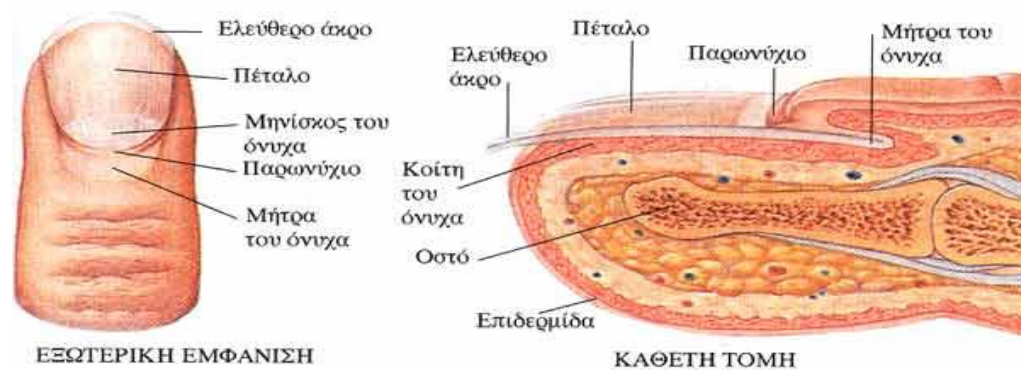
Δερματικές βλάβες

- Καθαρισμός της βλάβης με 70% αλκοόλη για απομάκρυνση αλοιφών και βακτηρίων
- Απόξεση με αντικειμενοφόρο πλάκα ή με ανατομικό μαχαιρίδιο ή, σε περίπτωση ύπαρξης φλεγμονής, με βαμβακοφόρο στυλεό εμποτισμένο σε φυσιολογικό ορό.
 - ο Τα δείγματα πρέπει να λαμβάνονται από την περιφέρεια της βλάβης και, σε περίπτωση φυσαλίδων, από την οροφή τους.

- Τα δείγματα τοποθετούνται σε αντικειμενοφόρο πλάκα, τρυβλίο ή σκουρόχρωμο χαρτί (αποφυγή στατικού ηλεκτρισμού).
- Η διατήρηση και αποστολή τους γίνεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.
- **Για ταχεία διάγνωση *Malassezia***: λήψη δείγματος με διαφανές σελοτέιπ. (Χρήση λυχνίας Wood - υπεριώδες φως 365 nm για εντοπισμό βλαβών)

Ξέσματα νυχιών

- Οδηγίες προς τον ασθενή ΠΡΙΝ τη λήψη του δείγματος:
 - A) να μην έχει γίνει χρήση αντισηπτικού ή αντιμυκητιακού σκευάσματος τοπικά στα νύχια **30 ημέρες πριν** την λήψη του δείγματος.
 - B) να μη λαμβάνεται από το στόμα αντιμυκητιακή θεραπεία για **1 μήνα**.
 - Γ) να μην είναι βαμμένα τα νύχια τουλάχιστον **3 ημέρες πριν** τη λήψη του δείγματος.
 - Δ) να μην είναι κομμένα ή καθαρισμένα τα νύχια **για ένα μήνα** πριν τη λήψη
- Καθαρισμός με 70% οινόπνευμα (αν χρειάζεται μπορεί να προηγηθεί καθαρισμός με σαπούνι και νερό)
- Λαμβάνονται τρίματα από το υπονύχιο, στο όριο μεταξύ υγιούς και προσβεβλημένου τμήματος του νυχιού, με ανατομικό μαχαιρίδιο. Συλλογή σε τρυβλίο ή σκουρόχρωμο χαρτί
- Ξέσματα ανάλογα με τη βλάβη
 - ο Περιφερικές βλάβες (άπω υπονύχιος ονυχομυκητίαση): κόψιμο με αποστειρωμένο νυχοκόπτη ή νυστεράκι, κατά το δυνατό από το υπονύχιο, κοντά στη κοίτη του νυχιού.
 - ο Κεντρικές βλάβες (εγγύς υπονύχιος ονυχομυκητίαση): ξέσματα κοντά στη μήτρα του νυχιού
 - ο Βλάβες στην επιφάνεια (επιφανειακή λευκή ονυχομυκητίαση): με αντικειμενοφόρο πλάκα ή ανατομικό μαχαιρίδιο ξύνεται η εξωτερική επιφάνεια. Τα ξέσματα αυτά απορρίπτονται. Ξύνεται η βαθύτερη περιοχή και αυτά συλλέγονται.
 - ο Αποφυγή λήψης δειγμάτων από το πλάγιο άκρο (Δείγματα από το πλάγιο άκρο πιθανόν να δώσουν ψευδώς αρνητικές καλλιέργειες επειδή ο μύκητας εκεί δεν είναι βιώσιμος)
- Η συλλογή των ξεσμάτων γίνεται σε αποστειρωμένο τρυβλίο ή σκουρόχρωμο χαρτί
- Παρωνυχία: το υλικό συλλέγεται με την βοήθεια αποστειρωμένου στυλεού εμποτισμένου με φυσιολογικό ορό από την ερυθρηματώδη και οιδηματώδη ονυχιαία πτυχή
- Διατήρηση και αποστολή δείγματος σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.
- **ΠΡΟΣΟΧΗ**: Απαραίτητη η αποστολή **επαρκούς** ποσότητας υλικού



Δείγματα τριχωτού κεφαλής

- Λέπια, τρίχες, περιεχόμενο θυλάκων με ανατομικό μαχαιρίδιο και λαβίδα
 - ο λήψη τριχών από μη φλεγμαίνουσες περιοχές, στο όριο της βλάβης, και απόσπασή (όχι κόψιμό) τους κοντά στη ρίζα με τη βοήθεια της λαβίδας
 - ο λήψη πύου με βαμβακοφόρο στυλεό από το στόμιο των τριχοσημηματογόνων θυλάκων
- Χρήση βούρτσας – οδοντόβουρτσας (άμεσος εμβολιασμός στο θεραπευτικό υλικό)
- Χρήση λυχνίας Wood - υπεριώδες φως 365 nm
- Συλλογή σε **αντικειμενοφόρο** πλάκα – όχι τρυβλίο (ανάπτυξη στατικού ηλεκτρισμού)
- Διατήρηση και αποστολή δείγματος σε θερμοκρασία περιβάλλοντος

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΜΥΚΗΤΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΞΕΤΑΣΕΩΝ

Άμεση μικροσκοπική και καλλιέργεια για μύκητες

- Βιολογικά υγρά και εκκρίματα (αίμα, ENY, πύο, πτύελα, BAL, ούρα, κοιλικό, κόπρανα)
- Ξέσματα δέρματος, ονύχων, κερατοειδούς και τρίχες
- Υλικά βιοψίας και ιστοτεμαχίδια

Ταυτοποίηση απομωνούμενων ζυμομυκήτων με αυξανόγραμμα

Έλεγχος ευαισθησίας (προσδιορισμός MIC) για ζυμομύκητες και νηματοειδείς μύκητες (μυκητόγραμμα) από καθαρό καλλιέργημα

- **Αντιμυκητιακά φάρμακα που ελέγχονται:**
 - Πολυένια: Amphotericine B
 - Εχνοκανδίνες: Anidulafungin, Micafungin, Caspofungin
 - Αντιμεταβολίτες: 5-Flucytosine
 - Αζόλες: Posaconazole, Voriconazole, Itraconazole, Fluconazole

Ανίχνευση Αντιγόνων (Ags) σε ορό, BAL, ENY και άλλα βιολογικά υγρά

- Ag Aspergillus (galactomannan)
- Ag Candida (mannan)
- Ag β-D glucan (παν-μυκητιακός δείκτης, ΕΚΤΟΣ Mucorales & Cryptococcus)
- Ag Cryptococcus

Ανίχνευση Αντισωμάτων (Abs) σε ορό

- Ανίχνευση Ab Candida (anti-mannan)

Ανίχνευση γενετικού υλικού (DNA) μυκήτων με μοριακές τεχνικές (PCR & real-time PCR)

- *Aspergillus* spp. σε ορό, BAL, βιολογικά υγρά και υλικά βιοψίας
- *Candida* spp. σε ορό, βιολογικά υγρά και υλικά βιοψίας
- Δερματόφυτα (*Trichophyton rubrum* & *Trichophyton* spp.) σε ξέσματα νυχιών

ΕΞΕΤΑΣΗ SEPTIFAST

Απομόνωση DNA και μοριακή ανάλυση μικροβίων με πολυπλεκτική (multiplex) real-time PCR

Ανίχνευση περισσότερων από 25 παθογόνα σε γενική αίματος ασθενών σε σήψη

- **Gram-θετικά:** *Staphylococcus aureus*, Coagulase Negative Staphylococci, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus* spp., *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*
- **Gram-αρνητικά:** *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella (pneumoniae/oxytoca)*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter (cloacae/aerogenes)*, *Proteus mirabilis*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*
- **Μύκητες:** *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *Aspergillus fumigatus*

Αποστολή ΔΥΟ (2) γενικών αίματος (αντιπηκτικό EDTA)

Απαραίτητη η επικοινωνία με το Εργαστήριο ΠΡΙΝ την αποστολή του δείγματος

Απαραίτητα επιπλέον στοιχεία ασθενούς:

- ο αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων γενικής αίματος και τιμές CRP και/ή PCT