

Validering og brug af Fecal Swab i rutinen med WASP

Alice Friis-Møller, MD, Consultant microbiologist

Gitta Stendal, Louise Barry Christensen

Department of Clinical Microbiology , Hvidovre Hospital, Denmark

<alice.friis-moeller@regionh.dk>

Baggrund for at skifte til "liquid based microbiology"

- Øget antal prøver fra hospitaler og praksissektoren
- Ønske om at indføre automatisk prøvebehandling for at overkomme arbejdsmængden
- Undgå arbejdsskader af bioanalytikernes hænder og arme.
- Kunne forbedre og standardisere kvalitet og dokumentation af prøvebehandlingen.
- Introducere transport medier som muliggør både aerob og anaerob dyrkninger samt PCR diagnostik

Fordelingen af Bakteriologiske prøver på KMA Hvidovre

- Uriner 30%
- Podninger 25%
- Fæces 15%
- Bloddyrkninger 15%
- Ekspektorater, Tracheal sug, BAL 8%
- Væsker, Vævs biopsier 7%

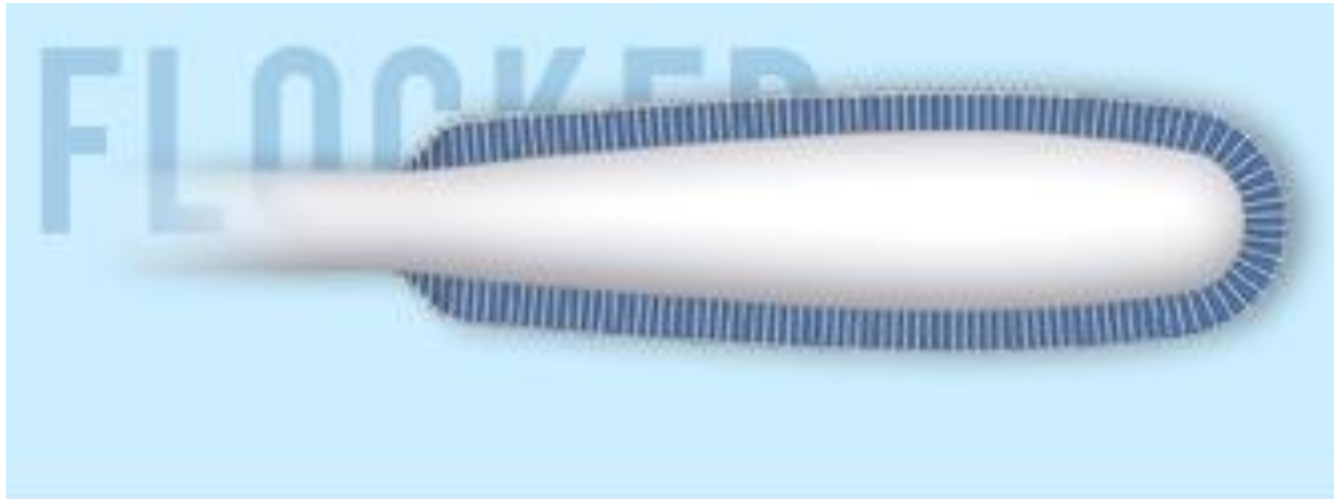
For at overgå til automatiseret prøvebehandling skiftede vi til

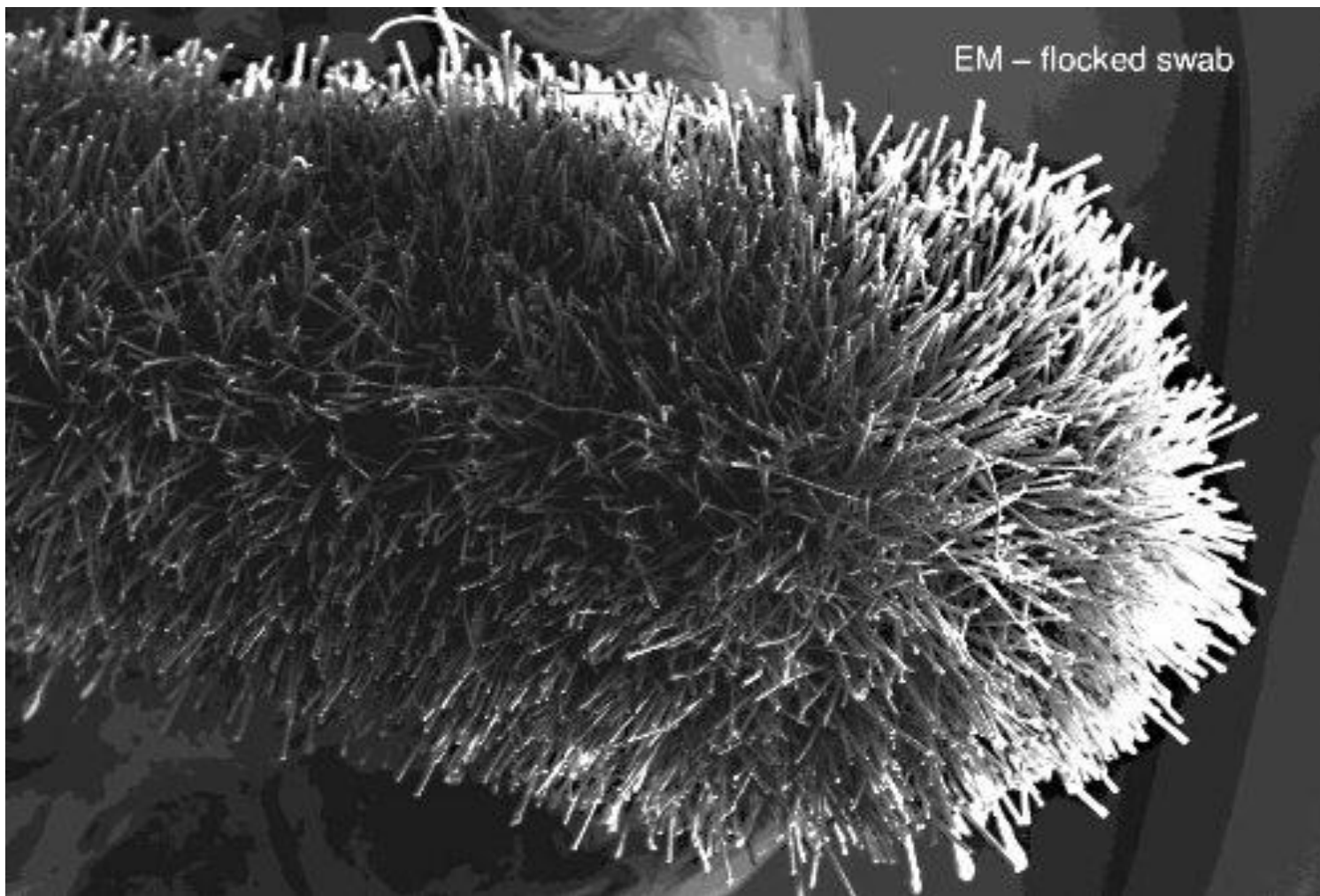
Podninger: fra kulpodepinde i Stuarts medie til **Eswabs**- flocked swabs i Amiens medie

Fæces prøver: fra fæces uden transportmedie til **Fecalswabs**- flocked swabs i Cary-Blair medium

Inokulum

Der måtte laves forsøg og beregninger for at få de bedste resultater ved WASP udsåningerne





Standardisering af inokulum på alle medier

- Ved inokulation fra flydende medie, bliver alle plader inokuleret med samme inokulum, uanset hvor mange plader prøven bliver udsået på.
- Dette i modsætning til inokulation med podepind, hvor første plade vil få det største inokulum og de næste plader vil blive en fortyndingsrække.

Liquid based microbiology

Fæces prøver

- Fæces prøver tages enten som **rektalpodning** eller ved at **dyppe nylonpenslen i fæces** og sætte podepinden ned i **Cary- Blair mediet** i Fecal Swab.
- Fæces opløst i Cary-Blair medie kan
 1. Dyrkes direkte på plader
 2. Inokuleres i selenit broth
 3. Anvendes direkte til PCR assays
Fx til *C. Difficile* eller virus påvisning

Fæces (fecalSwab)



Fæces podning for tarmpatogene bakterier og virus
(Noro-, Adeno- og Rotavirus)
Biopsier til dyrkning for *Helicobacter pylori*

Cary-Blair mediet understøtter overlevelsen af

- **Salmonella spp., Shigella spp, Vibrio spp.**
 - **Yersinia spp., Campylobacter spp. og**
 - **Helicobacter spp.**
- **Alle undtagen Campylobacter spp. Kan overleve 4 døgn ved stuetemperatur.**
- **Alle species overlever 4 døgn ved 4 C**

▪

Korrekt opsætning af fæces rack



HUSK altid at sætte en selenit efter en fæces prøve ved kørsel med fæces. Sæt rack'et korrekt ind så Tarzan starter med en fæces prøve.

Forsøg med udregning af fæces inocula til rutine brug i udsåningen på WASP

20 Fecal swabs blev inokuleret fra 20 "positive" fæces som havde været opbevaret i køleskab i 18 timer.

Dag 1:

A) 10 μ l fra hver fecal swab blev inokuleret og spredt efter **SST1*** **spredning** på alle 5 fæces agar plater and 10 μ l inokuleret i selenit broths

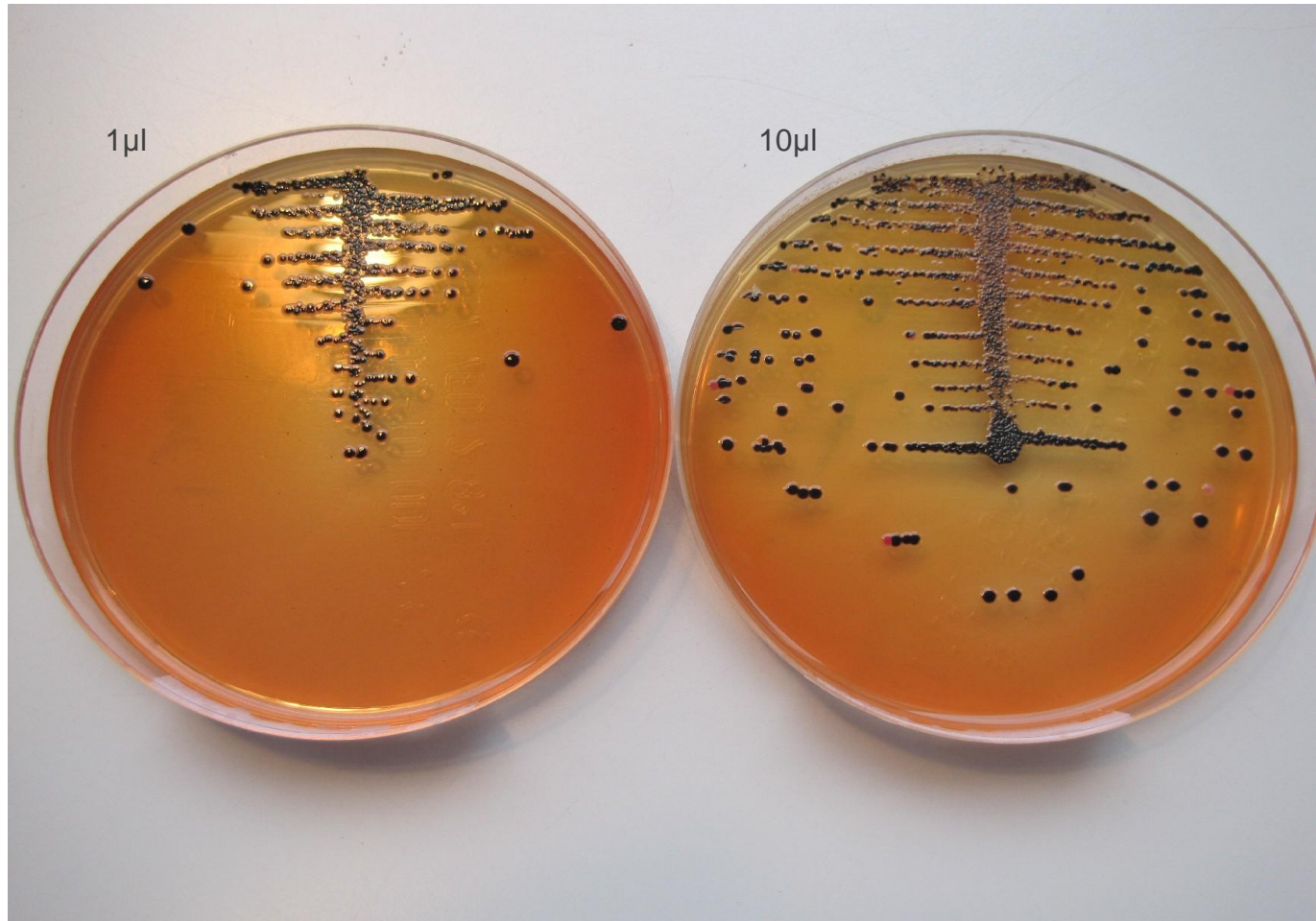
B) 1 μ l fra hver fecal swab blev inokuleret og spredt efter **SST1*** **spredning** på alle 5 fæces agar plater and 1 μ l inokuleret i selenit broths

alle plater og selenit broths blev inkuberet ved 35C i 18 h.

Day 2: Pladerne blev aflæst og inokulationer og udstrygninger udført med 1 μ l and 10 μ l from **A)** -selenite and **B)** -selenite.

***SST1 = Single Streak Type 1 (with 17 encroaches)**

Plader dag 2 inokuleret med 1 μ l og 10 μ l fra forsøg B: inokuleret selenit broth med 1 μ l dag 1



Konklusion mht inokulering og udstrygnings mønstre for Fecal Swabs

- 1 µl udsås ved primære inokulationer fra Fecal Swabs både til agarplader og til selenit boullion
- 10 µl udsås ved sekundær dyrkning fra selenit boullion på alle plader
- Udsåningsmønstre til **SOS og Yersinia og Campylobacter agar** er både ved primær og sekundær udsåning:
SST5 , som er enkeltstreg med 29 zig-zag
- Udsåning til DEC: **4QT1** som er en 5-spredning for at få enkelt kolonier nok

PCR direkte fra inokulerede Fecal Swabs

Til diagnostik af *Clostridium difficile* :

vi bruger inhouse realtime PCR assay eller GeneXpert realtime PCR til at diagnostisere direkte fra Fecal Swabs ved at overføre materiale fra Cary-Blair mediet til Star- buffer.

Samme gode resultater ved PCR af Noro, Rota og Adenovirus fra fæces i Fecal swabs.

og PCR fra fæces for Helicobacter antigen

Problemer med Fecal swabs/ WASP

1. Cary-Blair mediet bliver tykt i køleskab
2. Fecal swabs er ofte overfyldte
3. Tyk fæces giver nåle problemer
4. Nåleskift
5. Vigtigt at label sidder korrekt

Løsninger

Ad 1.+3. Lade prøverne få stuetemperatur eller omstikke til ny fecal swab

Ad 2.+ 3. Omstikke til ny Fecal swab

Ad 4. Ny teknik i nye modeller WASP