

LABORATORIJI KLINIČKOG ZAVODA ZA MIKROBIOLOGIJU I PARAZITOLOGIJU

- 1. Laboratorij za dijagnostiku respiratornih infekcija i tuberkuloze**
- 2. Laboratorij za dijagnostiku gastrointestinalnih infekcija, mikološku i parazitološku dijagnostiku**
- 3. Laboratorij za dijagnostiku *Helicobacter pylori* infekcije**
- 4. Laboratorij za dijagnostiku infekcija kože, mekih tkiva i anaerobnih infekcija**
- 5. Laboratorij za obradu hemokultura i likvora, kontrolu sterilnosti i kontrolu čistoće okoliša**
- 6. Laboratorij za dijagnostiku urogenitalnih infekcija**
- 7. Laboratorij za serologiju**
- 8. Laboratorij za molekularnu dijagnostiku**
- 9. Laboratorij za kontrolu sterilnosti transfuzioloških pripravaka**

1. Laboratorij za dijagnostiku respiratornih infekcija i tuberkuloze

Voditelj: **doc. prim. dr. sc. Ivana Goić-Barišić**, dr. med., spec. med. mikrobiologije i parazitologije

Telefon: 021 556 201; 021 556 196

POPIS PRETRAGA

1. izravna bakteriološka dijagnostika: kultura, izolacija i identifikacija uzročnika te izrada antibiograma;
2. dokaz antigena respiratornih patogena (BHS-A, RSV virus, Influenza virus A i B,
(za dokaz antigena *Legionella pneumophila* vidi Laboratorij za urogenitalne uzorke);
3. dijagnostika uzročnika tuberkuloze (*M. tuberculosis*)

Uzorci za dijagnostiku respiratornih infekcija:

- bris ždrijela
- bris vestibuluma nosa
- bris nazofaringsa
- aspirat nazofaringsa
- uzorak (aspirat) dobiven timpanocentezom
- uzorak (aspirat) dobiven punkcijom sinusa
- sputum (iskašljaj)
- BAL-bronhoalveolarni lavat
- traheobronhalni aspirat
- bioptat pluća
- uzorak dobiven zaštićenom četkicom (PBS)

Uzorci za dijagnostiku tuberkuloze:

- sputum (iskašljaj)
- traheobronhalni aspirat
- pleuralni punktati
- urin
- krv
- stolica
- uzorak tkiva
- krv za QuantiFERON-TB test (serološka pretraga EIA)

Uzimanje uzoraka za dijagnostiku infekcija respiratornog sustava:

Bris ždrijela:

Indikacija: bakterijske (streptokokne) infekcije ždrijela, virusne infekcije gornjeg dišnog sustava

Štapić za uzorkovanje označiti imenom i prezimenom pacijenta, vrstom uzorka i vremenom uzorkovanja.

Sterilnom špatulom potisnuti jezik prema dolje. Debljim, sterilnim, krutim, neovlaženim štapićem za uzorkovanje obrisati tonzile, nepčani luk i stražnji zid ždrijela. Izbjegavati dodir s uvulom, jezikom, bukalnom sluznicom i slinom. Odmah po uzorkovanju dostaviti bris u mikrobiološki laboratorij. U slučaju odgođenog transporta štapić za uzorkovanje staviti u transportnu podlogu.

Postoji mogućnost detekcije beta hemolitičkog streptokoka serološke grupe A (BHS-A) iz obriska ždrijela brzim imunokromatografskim testom u radno vrijeme mikrobiološkog laboratorija (nalaz gotov za 10-ak minuta).

Bris vestibuluma nosa:

Indikacija: Obrisk vestibuluma nosa se koristi u otkrivanju kliconoštva na MRSA.

Koristiti tanki elastični štapić za uzorkovanje. Označiti ga imenom i prezimenom pacijenta, vrstom uzorka i vremenom uzorkovanja. Navlažiti štapić za uzorkovanje sterilnom fiziološkom otopinom te ga uvesti u nosnice oko 1-2 cm duboko. Rotirati štapić 10-15 sekundi po sluznici. Odmah po uzorkovanju dostaviti bris u mikrobiološki laboratorij. U slučaju odgođenog transporta štapić za uzorkovanje staviti u transportnu podlogu.

Bris nazofarinksa:

Indikacija: kliconoštvo na moguće respiratorne patogene

Štapić za uzorkovanje označiti imenom i prezimenom pacijenta, vrstom uzorka i vremenom uzorkovanja. Navlažiti štapić (tanki, elastični) sterilnom fiziološkom otopinom. Pacijent treba lagano zabaciti glavu unatrag. Podignuti prstom lagano vrh nosa (da se izravna nosni hodnik). Štapićem za uzorkovanje lagano ući kroz donji nosni hodnik do stražnjeg zida nazofarinksa. Štapić lagano rotirati oko 5 sekundi da se sekret adsorbira. Odmah po uzorkovanju dostaviti bris u mikrobiološki laboratorij. U slučaju odgođenog transporta štapić za uzorkovanje staviti u transportnu podlogu.

Iz brisa nazofarinksa moguća je kultivacija *Bordetella pertussis*, ali samo na zahtjev liječnika.

Ukoliko je postavljena sumnja na hripavac, preporuča se prije uzimanja obriska kontaktirati mikrobiološki laboratorij radi pripreme odgovarajućih podloga.

Aspirat nazofarinksa

Indikacija: infekcija RSV kod djece

Uzorak aspirata nazofarinksa uzima se pomoću nazalnog aspiratora ili katetera odgovarajućeg promjera direktno u sterilnu posudicu. Uzorak odmah dostaviti u mikrobiološki laboratorij.

Sputum

Indikacija: bakteriološka, mikološka ili dijagnostika uzročnika tuberkuloze (*M. tuberculosis*)

Iskašljaj ili sputum je ciljani uzorak za određivanje uzročnika bakterijske pneumonije i infekcija donjeg dišnog sustava. Moguća izolacija uzročnika infekcije ovisi o kvaliteti uzorka iskašljaja koja se procjenjuje mikroskopski određivanjem odnosa epitelnih stanica i polimorfonukleara. U sterilnu posudicu se uzima prvi jutarnji iskašljaj (ekspektorirani iskašljaj) nakon ispiranja usne šupljine sterilnom fiziološkom otopinom ili vodovodnom vodom bez upotrebe zubne paste. Uzorak se odmah šalje u mikrobiološki laboratorij ili pohranjuje kraće vrijeme na +4 °C (hladnjak). Uzimanje iskašljaja tri dana za redom povećava osjetljivost metode u otkrivanju uzročnika pneumonije.

Ukoliko bolesnik ne može spontano iskašljati može se inducirati uzorkovanje inhalacijom sterilne fiziološke otopine u nagnutom položaju prema naprijed, da se dobije uzorak iz donjeg dišnog sustava.

Bronhoalveolarni lavat (BAL)

Uzorak se uzima tijekom bronhoskopije, pomoću sterilnog bronhoskopa. Zahvat se obavlja uz sedaciju/anesteziju bolesnika tako da se sterilnom fiziološkom otopinom ispiru donji dijelovi dišnog sustava te se ista tekućina aspirira i stavlja u sterilne posudice. Uzorak se odmah dostavlja u

mikrobiološki laboratorij uz naznaku da se radi o BAL-u. Osim identifikacije mogućeg patogena određuje se i broj mikroorganizama u 1 ml uzorka.

Traheobronhalni aspirat

Aspirat traheje/bronha je ciljani uzorak u dijagnozi pneumonije, uz komplementarne uzorke krvi za hemokulturu. Uzorak se uzima i kod intubiranih bolesnika u svrhu nadzora kolonizacije/infekcije. Uzorak se uzima nakon uvođenja sterilnog katetera u traheju i aspiracije sadržaja. Uzorak se stavlja u sterilnu posudicu i odmah dostavlja u mikrobiološki laboratorij.

Serološka pretraga (EIA) za dokaz stvaranja interferona-gama na peptidne antigene *Mycobacterium tuberculosis* (određivanje latentne/akutne infekcije/kontakta s *M. tuberculosis*)

- **QuantiFERON - TB test** – krv za ovu pretragu uzorkuje se u mikrobiološkom laboratoriju svaki radni dan od 8-10 sati.

Napomena:

- nalazi vezani uz dokaz antigena (bakterijskog, virusnog) gotovi su za 15 minuta od primitka uzorka te se mogu odmah priopćiti
- za uzorke dobivene punkcijom ili timpanocentezom nalaz je gotov za 48-96 h
- za uzorke iz donjeg respiratornog sustava nalaz je gotov za 48-72 h

Bakteriološka dijagnostika uzročnika tuberkuloze:

- mikroskopski nalaz na prisustvo ili odsustvo acidorezistentnih bacila dostupan je unutar 24 h
- za kultivaciju uzročnika potrebno je 6 tjedana, i to je vrijeme kada se izdaju negativni nalazi

- u slučaju porasta uzročnika u kulturi unutar 6 tjedana, radi se identifikacija uzročnika i test rezistencije na antituberkulotike prvog reda, te je i pozitivan nalaz moguće dobiti u razdoblju od 4 tjedna od porasta i identifikacije *Mycobacterium tuberculosis*

Za respiratorne patogene poput *Bordetella pertussis* i *Corynebacterium diphtheriae* treba kontaktirati mikrobiologa prije uzorkovanja.

2. Laboratorij za dijagnostiku infekcija gastrointestinalnog sustava, mikološku i parazitološku dijagnostiku

Voditelj: **Anita Novak**, dr. med., spec. med. mikrobiologije i parazitologije

Telefon: 021 556-201

POPIS PRETRAGA

1. Koprokultura za izolaciju i identifikaciju najčešćih bakterijskih uzročnika probavnih infekcija (*Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., EPEC, EHEC)
Ukoliko postoji opravdana klinička sumnja na infekciju drugim bakterijskim uzročnicima (npr. *Vibrio* spp., *Yersinia* spp.) kontaktirati mikrobiološki laboratorij prije slanja uzorka.
2. Brzi imunokromatografski test za dokaz antigena *Helicobacter pylori* iz stolice pacijenta
3. Brzi imunokromatografski testovi za dokaz specifičnog GDH antigena te toksina A i B *Clostridium difficile*
4. Metoda koncentracije (MIFC) za otkrivanje jaja i cista crijevnih parazita
5. Brzi imunokromatografski test za dokaz antigena *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* i *Cryptosporidium parvum*.
6. Kultivacija i identifikacija gljiva iz različitih kliničkih uzoraka (primarno sterilni i nesterilni uzorci)
7. Dijagnostika krvno-tkivnih parazita iz različitih kliničkih uzoraka

UZORCI

1. Uzorci za dijagnostiku infekcija probavnog sustava:

- stolica (feces)
- bris rektuma

2. Uzorci za mikološku dijagnostiku:

- brisevi sluznica (ždrijela, spojnice oka, rodnice, itd.)
- iskašljaj, aspirat broha, bronho-alveolarni lavat (BAL)
- urin
- stolica
- strugotina rožnice oka, kože tijela, vlasišta i noktiju
- hemokultura, cerebrospinalna tekućina

3. Uzorci za parazitološku dijagnostiku:

- stolica
- perianalni otisak
- urin
- strugotina rožnice
- iskašljaj, aspirat bronha, BAL
- krv (razmaz periferne krvi, gusta kap)
- puktat koštane srži
- punktat limfnog čvora

UZORKOVANJE

1. a. Uzorak stolice za bakteriološku pretragu

Uzorak uzeti na početku bolesti, u pravilu prije početka antibiotskog liječenja, u čistu posudu s navojem. Uzeti 2-3 ml tekuće stolice ili 1-2 g čvrste stolice (veličine lješnjaka) žličicom koja se nalazi na čepu posudice. Uzorak treba dostaviti u laboratorij unutar 2 sata od uzimanja. Ukoliko to nije moguće, uzorak se može pohraniti na +4°C najduže 24 sata.

Nalaz je gotov za 3-4 dana.

Uzorkovanje ponoviti kroz tri uzastopna dana.

1. b. Uzorak stolice za virološku pretragu

Uzorak stolice uzeti u prva 2-3 dana od početka simptoma (najbolje unutar 24 sata).

Uzeti 2-3 ml tekuće stolice ili 1-2 g čvrste stolice (veličine lješnjaka) u čistu posudu s poklopcem na navoj. Uzorak treba odmah dostaviti u laboratorij, a ukoliko to nije moguće, uzorak može biti pohranjen na +4°C tijekom 48 sati.

Nalaz je gotov za 1-2 dana.

1. c. Uzorak stolice za parazitološku pretragu

Tjedan dana prije uzimanja uzorka stolice, pacijent ne smije biti podvrgnut radiološkoj pretrazi probavnog sustava uz pomoć kontrastnog sredstva (irigografiji) niti endoskopskoj pretrazi crijeva (kolonoskopiji) jer ovi postupci umanjuju vjerojatnost nalaza crijevnih parazita.

Potrebno je uzeti 2-3 ml tekuće stolice ili 1-2 g čvrste stolice (veličine lješnjaka).

Uzorak dostaviti odmah ili ga pohraniti na +4°C tijekom 24-48 sati.

Nalaz je gotov za 1-2 dana.

Uzorkovanje ponoviti tri puta u razmacima od 2-3 dana.

1. d. Uzorak stolice za mikološku pretragu

Uzeti 2-3 ml tekuće stolice ili 1-2 g čvrste stolice (veličine lješnjaka) u čistu, plastičnu posudu te odmah dostaviti u laboratorij ili ga pohraniti na +4°C tijekom 24-48 sati.

Uzorak stolice treba uzeti 7-10 dana nakon završene antibiotske terapije.

Nalaz je gotov za 3-5 dana.

2. Obrisak rektuma za bakteriološku pretragu

Uzeti jedino kada nije moguće dobiti uzorak stolice (djeca, teški bolesnici). Bris uložiti 2,5 cm iza analnog sfinktera i nježno zarotirati. Na brisu moraju biti vidljivi tragovi stolice.

Daljnji postupak kao s uzorkom stolice.

3. Perianalni otisak za dokaz jaja *Enterobius vermicularis*

Potreban pribor za uzorkovanje (predmetno stakalce i ljepljiva traka "selotejp") se može dobiti u Zavodu. Perianalni otisak se uzima ujutro, prije ustajanja. Pacijent se 12 sati prije uzorkovanja ne smije tuširati niti prati perianalno područje. Potrebno je raširiti gluteuse i nalijepiti traku preko perianalnih nabora uz blago pritiskanje.

Traku zatim nalijepiti preko stakalca, pazeći da ne dođe do stvaranja mjehurića zraka.

Predmetno stakalce staviti u papirnatu omotnicu i dostaviti u laboratorij tijekom 24 sata.

Rezultat pretrage je dostupan za 24 sata.

4. Uzorak aspirata bronha i bronhoalveolarnog lavata (BAL) za mikološku pretragu

Uzorak dostaviti u laboratorij što prije ili ga do dostave pohraniti na + 4°C.

Rezultat izravne mikroskopije pri sumnji na pneumocistozu dostupan je za 24 sata.

Rezultat izolacije i identifikacije gljiva dostupan je za 7 dana.

5. a. Uzorak strugotine rožnice za parazitološku pretragu

Za dokaz amebnog keratitisa treba uzeti strugotinu (abrazivni materijal) rožnice, staviti u 1 ml Pageove ili sterilne fiziološke otopine i dostaviti što prije u laboratorij.

Potrebno je prethodno kontaktirati liječnika mikrobiologa radi pripreme podloge.

Nalaz je gotov za 7 dana.

5. b. Uzorak strugotine rožnice za mikološku pretragu

Za dokaz gljivične infekcije rožnice (keratomikoze) treba uzeti strugotinu rožnice, staviti u 1 ml sterilne fiziološke otopine i dostaviti što prije u laboratorij.

Nalaz izolacije i identifikacije gljiva dostupan je za 5-7 dana.

6. Uzorci za dijagnostiku kožne lišmanioze

Za pretragu na uzročnika kožne lišmanioze uzima se punktac z zdravog ruba lezije. Iglom sa špricom, u kojoj se nalazi 1 mL sterilne fiziološke otopine, ubode se u zdravi rub lezije, nekoliko puta zarotira iglom, uštrca fiziološka otopina i odmah aspirira. Dobiveni uzorak se odmah dostavlja u laboratorij.

Može se uzeti bioptički materijal sa zdravog ruba kožne promjene, staviti u 1 mL sterilne fiziološke otopine i odmah dostaviti u laboratorij.

7. a. Uzorak krvi za dijagnostiku malarije

Za dokaz malarije treba napraviti 3-4 preparata razmaza periferne krvi razmaza i 2-3 preparata guste kapi.

Izrada preparata krvnog razmaza:

Jednu kap krvi iz jagodice prsta pacijenta kapnuti na rub čistog, odmašćenog predmetnog stakalca (veličina 26×76 mm), a drugim stakalcem položenim pod kutem od 45° razvući kap krvi u jednom potezu. Osušiti na zraku i poslati u laboratorij.

Izrada preparata guste kapi:

Na sredinu predmetnog stakalca kapnuti 2-3 kapi krvi i vrhom drugog stakalca spojiti kapi u krug promjera 1,0 cm. Osušiti na zraku i poslati u laboratorij.

Nalaz je dostupan za 1-2 dana.

7. b. Uzorak krvi za mikološku dijagnostiku

Krv za mikološku dijagnostiku se uzima i dostavlja na isti način kao i za bakteriološku dijagnostiku (hemokultura).

Ukoliko u uzorku nisu prisutne gljive, nalaz se izdaje 7. dan kao sterilan.

Ukoliko za vrijeme inkubacije hemokulture (1.- 7. dana) porastu kvasci, isti se mogu preliminarno identificirati FISH metodom za 2-3 sata, a

konačna identifikacija i test osjetljivosti na antimikotike su dostupni u idućih 48 sati.

8. Uzorak koštane srži za mikološku pretragu

Aspirirati najmanje 0,5 ml koštane srži u sterilnu epruvetu s antikoagulansom.

Uzorak treba odmah dostaviti u laboratorij.

Rezultat kultivacije dostupan je za 7 dana.

9. Uzorak koštane srži za dijagnostiku visceralne lišmenioze (kala azar)

Aspirirati 1-2 mL koštane srži u sterilnu epruvetu s antikoagulansom.

Uzorak treba odmah dostaviti u laboratorij.

Rezultat izravne dijagnostike (mikroskopije) lišmenioze dostupan je za 1-2 dana.

10. Uzorak mokraće za dijagnostiku trihomonijaze

Uzeti prvi mlaz prve jutarnje mokraće i dostaviti u laboratorij u roku od 2 sata na temperaturi od 30-37°C (u džepu uz tijelo u dobro zatvorenoj sterilnoj posudici).

Nalaz izravne mikroskopije dostupan je isti dan.

11. Uzorak mokraće za mikološku dijagnostiku

Uzorak je prvi jutarnji urin dobiven metodom srednjeg mlaza (kao za bakteriološku dijagnostiku).

Urin dostaviti unutar 2 sata u laboratorij, a do tada ga čuvati na +4 C.

Nalaz je dostupan za 2-7 dana.

12. Strugotina kože, vlasišta i noktiju za mikološku dijagnostiku

Pacijent ne smije 7 dana tretirati zahvaćeni dio tijela antibioticima i antifungalnim pripravcima niti uzimati sistemske antiungalne terapije.

S ruba kožne lezije ili nokta (na granici prema zdravom) sterilnim skalpelom uzeti strugotinu, spremiti je u sterilnu posudu i što prije dostaviti u laboratorij.

Ukoliko je zahvaćeno vlasište, lagano počupati 10-15 dlaka te ih što prije, u čistoj posudi, dostaviti u laboratorij.

Uzorkovanje se može napraviti i u Zavodu.

Nalaz kvasaca je dostupan za 2-7dana, a dermatofita za 3-4 tjedna.

3. Laboratorij za dijagnostiku *Helicobacter pylori* infekcije

Voditelj: **Izv. prof. dr. sc. Marija Tonkić**, dr. med., spec. med. mikrobiologije i parazitologije

Telefon: 021 556 206; 556 201

U laboratoriju se obrađuju uzorci bioptata želučane sluznice u kojima se direktnim ureaza testom i kultivacijom dokazuje prisustvo *Helicobacter pylori*. Izoliranom soju se određuje osjetljivost na antimikrobna sredstva.

UZORAK

- bioptat želučane sluznice

UZORKOVANJE

Uzorak se uzima u gastroenterološkom endoskopskom laboratoriju i dostavlja se u Klin. zavod za mikrobiologiju u transportnom bujonu (može se dobiti u Klin. zavodu za mikrobiologiju). Transportni apodlog ase do upotrebe drži u hladnjaku pri +4 °C. Ako je slanje uzorka odgođeno, uzorak treba pohraniti u hladnjak, na +4 °C.

Rezultat pretrage (test ureaze, identifikacija i antibiogram) je dostupan u razdoblju od 2-4 tjedna.

4. Laboratorij za dijagnostiku infekcija kože, mekih tkiva i anaerobnih infekcija

Voditelj: **Žana Rubić**, dr. med., spec. med. mikrobiologije i parazitologije

Telefon: 021 556 201

U laboratoriju se provodi izravna bakteriološka i mikološka dijagnostika uzročnika infekcija kože i mekih

tkiva, primarno sterilnih područja (osim krvi i likvora), infekcija vezanih uz kateter (osim urinarnih katetera i

testiranje osjetljivosti na antimikrobne lijekove.

Uzorke uzima odjelni liječnik prema uputama o uzorkovanju (u nastavku teksta). Iznimno, bris upalne promjene na koži ili bris rane izvanbolničkih pacijenata, može se uzorkovati u Kliničkom zavodu za mikrobiologiju.

Svaki uzorak treba biti popraćen temeljito ispunjenom uputnicom, u kojoj se nalaze svi potrebni podaci. Osobitu pažnju treba posvetiti vrsti uzorka, dijagnozi, terapiji, te eventualnom prethodnom nalazu mikrobiološke pretrage.

Brisevi se u pravilu kultiviraju samo aerobno, a ostali uzorci (vidi uzorkovanje) aerobno i anaerobno.

Upute za uzorkovanje

BRIS RANE

Rane su podložne kolonizaciji ili kontaminaciji mikroorganizmima normalne fiziološke flore kože. Zato je bris rane najmanje pogodan uzorak za mikrobiološku dijagnostiku.

Adekvatnim uzorcima smatraju se bioptat tkiva i aspirat eksudata rane.

Ukoliko se ipak uzima bris, on treba biti uzet iz dubokih dijelova rane. Bris rane nije pogodan uzorak za izolaciju anaerobnih bakterija.

Postupak:

- Prije uzorkovanja, ranu treba dekontaminirati, odnosno ukloniti površinsku mikrofloru, kruste, nekrozu i eksudat. Mehaničko

čišćenje se izvodi pomoću štrcaljke (35 ml) i igle (19 gage), sterilnom fiziološkom otopinom zagrijanom na 37 °C, umjerenom jačinom mlaza s udaljenosti 2,5-5,0 cm. Čišćenje rana fiziološkom otopinom se može primijeniti u svim fazama cijeljenja, kod akutnih i kroničnih rana.

- Dekontaminacija rana antiseptikom ovisi o vrsti rane i fazi cijeljenja, a jedina prava indikacija je akutna faza akutne rane, prije pojave granulacija. Individualno se indikacije mogu postaviti i kod inficirane akutne rane s prisutnim nekrotičnim tkivom, akutne traumatske povrede ili kronične rane u dijabetičara ili neutropeničnih bolesnika. Nakon primjene antiseptika, ranu je potrebno temeljito isprati sterilnom, zagrijanom fiziološkom otopinom.
- Uzorak se uzima suhim ili u fiziološkoj otopini navlaženim brisom, kojim se ulazi duboko u „džepove rane“ ne dotičući rubove kože. Pobrišu se dno i/ili rubovi rane, te se bris ostavi 30 sekundi da upije prisutni sadržaj. Postupak se ponovi s još jednim brisom (jedan za mikroskopski preparat, drugi za kulturu), te se precizno naznači koji je prvi, a koji drugi bris.
- Transportirati u laboratorij unutar dva sata, na sobnoj temperaturi.
- Ako transport traje duže (do 24h), staviti bris u transportnu podlogu i čuvati na sobnoj temperaturi.

Nalaz:

- Na zahtjev, mikroskopski nalaz brisa rane može se priopćiti istog dana.
- Nalaz kultivacije i testa osjetljivosti na antimikrobne lijekove može se očekivati za 2-5 dana. Preliminarni rezultati se mogu saznati kontaktiranjem laboratorija.
- Kako se uzorci u mikrobiološkom laboratoriju nasijavaju na tzv. krute podloge i tekuće podloge za obogaćivanje, mikrobiološki nalaz će sadržavati semikvantitativne podatke, pa će za bakteriju koja je porasla na krutoj podlozi i prisutna je u najvećem broju, biti naznačeno „dominantna bakterijska vrsta“, dok će za onu koja

porasla samo preko tekuće podloge, biti naznačeno „bakterija prisutna u malom broju“.

- Nalaz izolata s antibiogramom se izdaje samo kod porasta jedne ili najviše dvije vrste bakterija, koje se smatraju potencijalnim uzročnicima infekcije i ne pripadaju fiziološkoj flori kože.
- Izolacija više od dvije vrste bakterija podrazumijeva neadekvatno uzet ili transportiran uzorak, te se preporuča ponoviti pretragu. (Izuzetno, u pojedinim stanjima i u dogovoru s liječnikom, može se raditi identifikacija većeg broja bakterija).
- U slučaju kad iz brisa rane poraste bakterija *Staphylococcus epidermidis* ili neka druga vrsta tzv. koagulaza negativnog stafilokoka, koji su dio fiziološke flore kože, antibiogram se radi samo u slučaju infekcija povezanih s prisutnošću stranog tijela, što mora biti jasno naznačeno na uputnici.
- U slučaju neadekvatno uzetog uzorka (npr. neadekvatna toaleta rane i prisutnost staničnog debrisa koji ometa izolaciju uzročnika) ili već započetog antimikrobnog liječenja, moguće je dobiti sterilan nalaz unatoč znakovima infekcije.

BRIS RANE PRI SUMNJI NA PLINSKU GANGRENU

Nekrotizirajući fasciitis i plinska gangrena su hitna medicinska stanja koja zahtijevaju hitnu i neodgodivu dijagnozu i liječenje.

Postupak:

- Kod kliničke sumnje, najbolje je uzeti bioptat tkiva ili aspirat eksudata rane. Ako se uzima bris, onda se mora uzeti iz dubokih dijelova rane.
- Uzimaju se najmanje dva uzorka; jedan za mikroskopski preparat, a drugi za kulturu.
- Uzorci se odmah, uz obavezan kontakt mikrobiološkog laboratorija ili mikrobiologa u pripravnosti, dostavljaju u laboratorij u transportnoj podlozi za anaerobe.

Nalaz:

- Dijagnoza se potvrđuje mikroskopskim preparatom uzorka bojanim po Gramu. Mikroskopski nalaz se odmah javlja liječniku koji je uputio uzorak (obavezno navesti kontakt telefon).
- Kulturom se dodatno potvrđuje etiologija i testira osjetljivost na antimikrobne lijekove (3-8 dana do izdavanja antibiograma).

OPEKLINE

Adekvatni uzorci su bioptat tkiva, aspirat eksudata rane ili eventualno bris eksudata rane.

Postupak:

- Prije uzorkovanja, ranu treba dekontaminirati (vidi postupak kod brisa rane) i učiniti kirurški debridman.
- Uzima se bioptat tkiva s ruba lezije, na granici granulacijskog i nekrotičnog tkiva.
- Bioptat se stavlja u sterilnu posudu s čepom na navoj, u koju se doda nekoliko kapi sterilne fiziološke otopine da se izbjegne sušenje tkiva. Aspirat se aspirira s dna lezije i ostavi u šprici ili sterilnoj posudi. U slučaju kratkog vremena dostave (15 minuta), bioptat i aspirat se dostavljaju u sterilnoj posudi ili šprici, a u suprotnom se dostavljaju u transportnoj podlozi za anaerobe. Bris eksudata se također stavlja u transportnu podlogu za anaerobe.
- Transportirati u laboratorij unutar dva sata, na sobnoj temperaturi.
- Ako transport traje duže (do 24h), staviti u transportnu podlogu za anaerobe i čuvati na sobnoj temperaturi.

Nalaz:

- Nalaz kultivacije i testa osjetljivosti na antimikrobne lijekove može se očekivati za 2-5 dana. Preliminarni rezultati se mogu saznati kontaktiranjem laboratorija.

DEKUBITALNI ULKUS

Bris nije adekvatan uzorak za mikrobiološke obradu dekubitalnog ulkusa, jer se najčešće izoliraju bakterije koje koloniziraju površinu, a ne one koje su uzročnici infekcije. S obzirom da ne pruža potrebne kliničke informacije, treba ga izbjegavati.

Odgovarajući uzorci su bioptički materijal ili aspirat s dna lezije. Ako ih nije moguće uzeti, iznimno se uzima energični bris dna lezije, nakon obavljene temeljite toaleta ulkusa.

Postupak:

- Sterilna gaza se navlaži sterilnom fiziološkom otopinom, i odlučnim pokretima temeljito očisti ulkus od fibroznih naslaga. Postupak se ponavlja po potrebi, a nakon svakog čišćenja ispire se sterilnom fiziološkom otopinom, da se otplave površinske bakterije. Očišćeno mjesto se potom dva do tri puta pobriše sterilnim navlaženim brisom koji se odbacuje. Tek tada se uzima uzorak za analizu.
- Najpogodnije je uzeti bioptat, ili se aspirira upalni sadržaj s dna ulkusa. Ako se uzima bris, onda se navlaži u fiziološkoj otopini i rotira po očišćenom dnu ulkusa. Postupak se ponovi s još jednim brisom (jedan za mikroskopski preparat, drugi za kulturu), te se precizno naznači koji je prvi, a koji drugi bris.
- Bioptat lezije se stavlja u sterilnu posudu s čepom na navoj, u koju se doda nekoliko kapi sterilne fiziološke otopine da se izbjegne sušenje tkiva. U slučaju kratkog vremena dostave (15 minuta), bioptat i aspirat se dostavljaju u sterilnoj posudi, a u suprotnom se stavljaju u transportnoj podlozi za anaerobe. U slučaju briseva, jedan bris se stavlja u transportnu podlogu, a drugi služi za izradu mikroskopskog preparata.
- Transportirati u laboratorij unutar dva sata, na sobnoj temperaturi.
- Ako transport traje duže (do 24h), staviti u transportnu podlogu za anaerobe i čuvati na sobnoj temperaturi.

Nalaz:

- Nalaz kulture i testa osjetljivosti na antimikrobne lijekove može se očekivati za 4-8 dana. Preliminarni rezultati se mogu saznati kontaktiranjem laboratorija.

CELULITIS

Postupak:

- Isprati površinu promjene sterilnom fiziološkom otopinom ili 70% alkoholom.
- Iglom i špricom aspirirati područje najizraženije upale (najčešće je to centralno područje promjene). Ako je potrebno, može se uraditi irigacija malom količinom sterilne fiziološke otopine, te potom aspirirati u špricu.
- Aseptički prebaciti u sterilnu epruvetu ili posudu s čepom na navoj. Ne preporučuje se transport u šprici.
- Transportirati u laboratorij unutar 15 minuta na sobnoj temperaturi.
- Ako transport traje duže (do 24h), staviti u transportnu podlogu i čuvati na sobnoj temperaturi.

Nalaz:

- Nalaz kulture i testa osjetljivosti na antimikrobne lijekove može se očekivati za 4-8 dana. Preliminarni rezultati se mogu saznati kontaktiranjem laboratorija.

OTVORENI APSCES; BRIS IZLAZIŠTA FISTULE

Adekvatni uzorci su bioptat ili aspirat apscesa, no ukoliko je potrebno uzeti bris, uzimaju se dva duboka brisa apscesa, jedan za mikroskopski preparat, a drugi za kulturu. Treba voditi računa da se uzorak ne kontaminira bakterijama s površine apscesa, koje predstavljaju fiziološku floru ili kolonizaciju, a ne uzročnike upalnog procesa.

Postupak:

- Prije uzorkovanja, s površine apscesa ili okoline fistule ukloni se eksudat sterilnom fiziološkom otopinom ili 70% etanolom.

- Biopat (komadić stjenke apscesa) se stavlja u sterilnu posudu s čepom na navoj, u koju se doda nekoliko kapi sterilne fiziološke otopine da se izbjegne sušenje tkiva. Ako je dostava brza (15 minuta), biopat se dostavlja tako, u suprotnom se stavlja u transportnu podlogu za anaerobe.
- Aspirat se uzima ako ima dovoljno sekreta. Aspirira se s dna lezije i ostavi u šprici ili sterilnoj posudi (ako je dostava brza) ili u transportnoj podlozi za anaerobe (u tom slučaju dio uzorka ostaviti u šprici za izradu mikroskopskog preparata). Ako je uzorka malo može se nasaditi u bočicu za anaerobnu hemokulturu i čuvati na + 37°C.
- Bris se uzima ako nema dovoljno sekreta. Tankim brisom se uđe kroz otvor duboko u leziju i odlučnim rotirajućim pokretima pobrišu dno i stjenke apscesa, izbjegavajući vanjske rubove. Jedan bris se stavlja u transportnu podlogu za anaerobe, a drugi služi za izradu mikroskopskog preparata.
- Transportirati u laboratorij unutar dva sata, na sobnoj temperaturi.
- Ako transport traje duže (do 24h), staviti u transportnu podlogu za anaerobe i čuvati na sobnoj temperaturi.

Nalaz:

- Na zahtjev, mikroskopski nalaz sadržaja apscesa se može priopćiti istog dana.
- Nalaz kulture i testa osjetljivosti na antimikrobne lijekove može se očekivati za 4-8 dana. Preliminarni rezultati se mogu saznati kontaktiranjem laboratorija.

ZATVORENI APSCES

Treba voditi računa da se uzorak ne kontaminira bakterijama s površine apscesa, koje predstavljaju fiziološku floru ili kolonizaciju, a ne uzročnike upalnog procesa. Nakon dezinfekcije područja, sadržaj se aspirira iglom i špricom.

Postupak:

- Prije uzorkovanja, površinu apscesa dekontaminirati sterilnom fiziološkom otopinom ili 70% etanolom.
- Pomoću sterilne igle i šprice aspirira se sadržaj iz dubine apscesa. Ako se ne dobiva sadržaj, može se uraditi irigacija malom količinom sterilne fiziološke otopine, te potom aspirirati u špricu.
- Ako je količina uzorka vrlo mala, ostaviti ga u šprici (ako je minimalan uzorak ostao u igli, aspirirati još malo sterilne fiziološke otopine da sadržaj dođe u špricu), te špricu dostaviti u laboratorij unutar 15 minuta. Ako je uzorka malo, može se nasaditi u bočicu za anaerobnu hemokulturu i čuvati na + 37°C.
- Ako je količina uzorka veća, aseptični ga prebaciti u transportnu podlogu za anaerobe.
- Transportirati u laboratorij unutar dva sata na sobnoj temperaturi.
- Ako transport traje duže (do 24h), staviti u transportnu podlogu za anaerobe i čuvati na sobnoj temperaturi.

Nalaz:

- Na zahtjev, mikroskopski nalaz sadržaja apscesa se može priopćiti istog dana.
- Nalaz kultivacije i testa osjetljivosti na antimikrobne lijekove može se očekivati za 4-8 dana. Preliminarni rezultati se mogu saznati kontaktiranjem laboratorija.

BIOPTAT TKIVA

Uzorak se uzima tijekom kirurške operacije ili u postupku ciljane biopsije tkiva.

Postupak:

- Dezinficirati kožu na mjestu biopsije (alkoholni i jodni preparati, klorheksidin).
- Uzeti komadić tkiva se stavi u sterilnu posudu s čepom na navoj, u koju se doda nekoliko kapi sterilne fiziološke otopine da se izbjegne

sušenje tkiva. Tako se može transportirati u laboratorij unutar 15 minuta.

- Ako transport traje duže (do 24h), staviti u transportnu podlogu za anaerobe i čuvati na sobnoj temperaturi. Za izradu mikroskopskog preparata, vrlo mala količina uzorka mora ostati u sterilnoj posudi.

Nalaz:

- Na zahtjev, opis mikroskopskog preparata može se dobiti već isti dan.
- Nalaz kultivacije i testa osjetljivosti na antimikrobne lijekove može se očekivati za 4-8 dana. Preliminarni rezultati se mogu saznati kontaktiranjem laboratorija.

PUNKTATI STERILNIH TJELESNIH TEKUĆINA (pleuralne, perikardijalne, peritonealne, zglobne, amnionske itd.)

Postupak:

- Uzorci sterilnih tjelesnih tekućina i punktati uzimaju se u tijeku operacije ili perkutanom aspiracijom prema svim pravilima aseptičkog postupka.
- Uzorak punktirane ili aspirirane tekućine može se u laboratorij transportirati u šprici tako da se istisne zrak iz šprice, a upotrijebljena igla se zamijeni novom iglom s poklopcem. Šprica s iglom donosi se u laboratorij na tvrdom podlošku ("tacni"), a ne u ruci.
- Najbolje je uzorak staviti u sterilnu epruvetu sa čepom i tako ga transportirati. Manja količina se može aseptično inokulirati u bočicu za hemokulturu. Uvijek je potrebno poslati što veći volumen tekućine (za izolaciju bakterija barem 1ml)
- Ako se uzorak šalje u sterilnoj posudici, mora doći u laboratorij unutar 15 minuta. Ako transport traje duže (do 24h), uzorke treba staviti u transportnu podlogu za anaerobe i čuvati na sobnoj temperaturi, ili u bočicu za hemokulturu i čuvati u termostatu na +37°C. Perikardijalna tekućina i uzorci za mikološku dijagnostiku se

stavljaju u frižider na +4°C. Za izradu mikroskopskog preparata, vrlo mala količina uzorka mora ostati u sterilnoj posudi.

Nalaz:

- Na zahtjev, opis mikroskopskog preparata može se dobiti već isti dan.
- Nalaz kulture i testa osjetljivosti na antimikrobne lijekove može se očekivati za 4-8 dana. Preliminarni rezultati se mogu saznati kontaktiranjem laboratorija.

VRH CENTRALNOG VENSKOG KATETERA

Postupak:

- Prije vađenja katetera, očistiti kožu oko mjesta insercije alkoholom. Izvaditi kateter aseptičnom tehnikom i sterilnim škalicama odsjeći 5 cm distalnog vrha direktno u sterilnu posudu. Poslati u laboratorij unutar 15 minuta da se spriječi sušenje. Eventualno se može čuvati do 2 sata u frižideru na +4°C.
- Uzorak se obrađuje semikvantitativno i kvantitativno, te se po broju poraslih kolonija tijekom 48 sati zaključuje da li je došlo do "značajne kolonizacije katetera", po definicijama CDC-a (Centers for Disease Control and Prevention).
- Uzorci pedijatrijskih katetera obrađuju se samo kvalitativno.
- Kod sumnje na kateter sepsu, uz vrh katetera potrebno je poslati i hemokulturu, a ako je kateter *in situ*, šalju se hemokulture iz periferine vene i iz katetera na način kako je navedeno u uputama za hemokulture.
- Vrh katetera za peritonejsku dijalizu, kao i dren, obrađuju se samo kvalitativno.

5. Laboratorij za obradu hemokultura i likvora, kontrolu sterilnosti i kontrolu čistoće okoliša

Voditelj: **Jakica Karanović**, dr. med., spec. med. mikrobiologije i parazitologije

Telefon: 021 556 283

HEMOKULTURE

Hemokulture predstavljaju važnu dijagnostičku pretragu pomoću koje se detektiraju mikroorganizmi koji su prodrli u krv bolesnika.

Uzorcima krvi za hemokulture se uzimaju prema svim pravilima asepse.

Postupak pri uzimanju krvi:

- Pripremiti sav potreban pribor
- Oprati ruke i navući čiste latex rukavice
- Dezinficirati mjesto venepunkcije alkoholnim dezinficijensom.
Dezinficira se površina kože promjera oko 5 cm kružnim pokretima od središta prema periferiji. Postupak treba ponoviti u razmaku od 1 minute. Nakon toga pričekati 1 minutu da se mjesto punkcije posuši i tek tada punktirati.
- Alkoholnim dezinficijensom dezinficirati i gumeni čep bočice za hemokulturu. Ostaviti 1 minutu prije punkcije.

1 uzorak (set) za hemokulturu za odrasle bolesnike čine **aerobna bočica** (zeleni čep) i **anaerobna bočica** (narančasti čep). Djeci se krv za hemokulturu uzima samo u **pedijatrijsku bočicu** (žuti čep).

Pri febrilitetu bolesnika preporuča se uzeti najmanje 2 seta hemokultura!

Hemokulture se uzimaju bolesnicima:

- **Kod akutne sepse :**
Uzeti 2 seta s različitih mjesta unutar 10 minuta (ne preporuča se uzimanje uzoraka u razmaku većem od 1 sata).
- **Kod nejasnog febriliteta (temperature nepoznatog ishodišta):**

Trebalo bi uzeti 2-3 seta s različitih mjesta s razmacima od 1 sata ili više. Ako je rezultat negativan nakon 24 sata ponoviti još 2-3 seta na isti način.

- **Kod sumnje na akutni endokarditis:**

Izvaditi 3 seta sa 3 različita mjesta u razmaku od 1-2 sata.

- **Kod sumnje na subakutni endokarditis:**

Izvaditi 3 seta s 3 različita mjesta u razmaku od 15 minuta i više (otprilike tijekom sat vremena). Ako je rezultat negativan nakon 24 sata, ponoviti vađenje još 3 seta na isti način.

- **Kod sumnje na kateter sepsu:**

Izvaditi 1 set iz središnjeg venskog katetera. Izvaditi 1 set iz periferne vene.

Hemokulture bi trebalo uzimati prije empirijske antibiotske terapije!

Ako bolesnik već prima antimikrobnu terapiju, hemokultura se uzima prije davanja slijedeće doze antibiotika.

Ako se uzorak krvi uzima iglom i špricom, inokulira se najprije anaerobna bočica, a zatim aerobna.

Ako se krv uzima pomoću zaštićenog nastavka za punkciju bočice, tada se inokulira najprije aerobna bočica, pa zatim anaerobna.

Preporučeni volumen krvi za hemokulture:

- za **odrasle** osobe: **8-10 ml krvi po bočici**
- za **djecu**: **4 ml**
- za **novorođenčad**: **2 ml**

Ne uzimati veću količinu krvi od preporučene zbog mogućeg lažnog pozitiviteta bočice!

Na inokulirane bočice napisati ime i prezime bolesnika, naziv odjela-klinike, vrijeme vađenja hemokulture i datum. Ne pisati preko bar koda i lota na bočici!

Uz inokulirane bočice u mikrobiološki laboratorij poslati i uputnicu koja mora sadržavati čitko ispisane potrebne podatke.

Transport:

Poželjno je inokulirane bočice odmah dostaviti u mikrobiološki laboratorij. Ako to nije moguće, bočice držati na sobnoj temperaturi ili u termostatu na 35°C.

Bočicu s uzetom krvi ne stavljati u hladnjak!

Pozitivne hemokulture se odmah obrađuju te se na odjel – kliniku s kojeg je poslana hemokultura **telefonom** javlja nalaz mikroskopskog preparata napravljenog iz pozitivne bočice. Direktno iz pozitivne bočice se zatim odmah radi identifikacija mikroorganizma i direktni antibiogram te su rezultati tih pretraga gotovi slijedeći dan.

Nalaz negativne hemokulture izdaje se kao sterilan za hemokulture u kojima nakon 7 dana inkubacije u automatiziranom sustavu nije došlo do porasta mikroorganizama.

Kod sumnje na posebno zahtjevne ili spororastuće mikroorganizme, potrebno je konzultirati mikrobiologa ili to naznačiti na uputnici, radi eventualne produžene inkubacije.



Bočice za hemokulturu



BacT/ALERT 3D automatizirani sustav za hemokulture

CEREBROSPINALNI LIKVOR

Set za lumbalnu punkciju treba uzeti u mikrobiološkom laboratoriju.

Set čini: 2 epruvete s krutom podlogom (kosi krvni agar i kosi čokoladni agar)

1 epruveta s tekućom podlogom (BH-brain heart broth)

Likvor se može uzeti i u sterilnu posudicu ili u sterilnu epruvetu s čepom i navojem.

Lumbalna punkcija se izvodi prema pravilima aseptičnog uzimanja uzoraka!

U mikrobiološki laboratorij poslati uzorak likvora uzet lumbalnom punkcijom nakon uzimanja likvora za ostale laboratorijske pretrage (zbog izbjegavanja moguće kontaminacije).

Likvor se prilikom punkcije nakapa na krute podloge te u epruvetu s tekućom podlogom.

Preporučena količina uzorka – likvora:

- minimalno **1 ml** za izolaciju bakterija
- **2 ml** za izolaciju kvasaca i mikobakterija

Označavanje:

- Na inokulirane epruvete s podlogama (posudicu) napisati ime i prezime bolesnika te odjel/kliniku
- Na uputnicu napisati sve potrebne podatke o bolesniku i telefonski broj kao kontakt

Transport:

Likvor se **odmah** odnosi u mikrobiološki laboratorij! **U slučaju odložene dostave čuvati ga u termostatu na 35°C ili na sobnoj temperaturi maksimalno 24 sata. Likvor ne stavljati u hladnjak!**

Uzeti i krv za hemokulturu (odrasli bolesnici – aerobna i anaerobna bočica, djeca – pedijatrijska bočica)!

Kultivacijom uzorka dobivenog aspiracijom moždanog apscesa ili biopsijom, mogu se izolirati anaerobne bakterije ili se iz tih uzoraka mogu pretražiti paraziti.

Obrada likvora započinje odmah nakon dostave u mikrobiološki laboratorij.

Nalaz mikroskopske pretrage se javlja telefonom odjelnom liječniku.

U slučaju pozitiviteta, radi se identifikacija i test osjetljivosti (antibiogram).

Ako je kultura likvora negativna, nalaz se izdaje kao sterilan nakon 4 dana inkubacije.

KONTROLA STERILIZACIJE **(spore *Bacillus stearothermophilus*)**

Biološka kontrola sterilizacije provodi se pomoću spora *Bacillus stearothermophilus*.

Nakon završene sterilizacije provjerava se sposobnost klijanja spora u vegetativne oblike.

Spore se u aseptičnim uvjetima stavljaju u hranjive bujone i odmah dostavljaju u mikrobiološki laboratorij. Inkubiraju se 10 dana i, ako u bujonima nema porasta, nalaz se izdaje kao sterilan.

U slučaju porasta u bujonima, radi se mikroskopski preparat koji se odmah javlja, subkultivacija na krutim hranjivim podlogama te identifikacija poraslog mikroorganizma.

KONTROLA STERILNOSTI MAGISTRALNIH PRIPRAVAKA

U mikrobiološki laboratorij dostavljeni magistralni pripravci se aseptično stavljaju u hranjive bujone i inkubiraju 10 dana. Nalazi uzoraka bez porasta u bujonima izdaju se kao sterilni.

U slučaju zamućenja bujona, radi se mikroskopski preparat koji se odmah javlja, subkultivacija bujona na krute hranjive podloge te identifikacija poraslog mikroorganizma.

MIKROBIOLOŠKA KONTROLA ENDOSKOPA SREDNJEG RIZIKA

Endoskopi srednjeg rizika su oni koji pri uporabi dolaze u kontakt sa sluznicom.

Srednje rizični endoskopi moraju biti dezinficirani dezinficijensom visokog stupnja djelotvornosti.

Mikrobiološka kontrola:

Ispirak endoskopa se kalibriranom ezom nasađuje na krutu hranjivu podlogu te u tekuće hranjive medije – bujone. Inkubacija uzorka traje 7 dana, nakon čega slijedi subkultivacija bujona na krute hranjive podloge.

Ako su inkubirani bujoni ostali bistri, a krute podloge bez porasta, nalaz se izdaje kao sterilan.

U slučaju porasta na primarnoj krutoj podlozi ili zamućenja bujona, radi se mikroskopski preparat koji se odmah javlja, subkultivacija bujona na krute hranjive podloge te identifikacija poraslog mikroorganizma.

U nalazu se navodi identificirani mikroorganizam i broj poraslih kolonija u ml uzorka (CFU/ml).

MIKROBIOLOŠKA KONTROLA POVRŠINA

Brisom namočenim u sterilnu fiziološku otopinu prebriše se zadana površina. Preporuka je da ta površina bude od 5x5 cm do 10x10 cm. Okretanjem brisa prelazi se preko površine 3-4 puta okomitim potezima. Obrisci se dostavljaju što prije u mikrobiološki laboratorij, a u slučaju odgode transporta moraju se pohraniti u hladnjak na 4°C, ali najduže 24 sata.

Obrada obrisaka traje 3-5 dana.

U nalazu se navode porasli identificirani mikroorganizmi te njihov broj (mali, veliki).

PASIVNO UZORKOVANJE ZRAKA

Ploča krvnog agara promjera 90 mm se postavlja na prethodno određeno mjesto i otvorena (skinutog poklopca) izlaže 4 sata.

Nakon izlaganja se zatvorena što prije dostavlja u mikrobiološki laboratorij (po mogućnosti unutar 1 sata).

U slučaju odgođene dostave stavlja se u hladnjak na 4°C, ali ne dulje od 24 sata.

Inkubacija ploče na 35°C traje 3-5 dana. Porasle kolonije se identificiraju.

U nalazu se navedu identificirani mikroorganizmi te njihov broj (CFU).

6. Laboratorij za dijagnostiku urogenitalnih infekcija

Voditelj: **prim. dr. sc. Sanda Sardelić**, dr. med., spec. med.

mikrobiologije i parazitologije

Telefon: 021 556 201

UZORCI IZ UROGENITALNOG SUSTAVA

- **mokraća**
- **bris uretre**
- **bris rodnice**
- **bris cerviksa**

Pretrage: izolacija i identifikacija uzročnika, detekcija

***Streptococcus agalactiae* u trudnica**

UZORKOVANJE

Postupak uzimanja mokraće za bakteriološku i mikološku pretragu (metoda srednjeg mlaza)

Uzorak mora biti prva jutarnja mokraća izmokrena odmah nakon cjelonoćnog spavanja (ne manje od 4 sata zadržana u mokraćnom mjehuru). Prije uzimanja mokraće potrebno je oprati vanjsko spolovilo i ruke sapunom i tekućom mlakom vodom te posušiti. Ne treba koristiti nikakva dezinfekcijska sredstva. Muškarci pri uzorkovanju moraju povući kožu glave penisa kako bi se prikazao otvor uretre. Uzme se sterilna posuda za uzorak mokraće (može se nabaviti na prijemnom šalteru Zavoda ili u ljekarnama) izbjegavajući doticanje rukom ili prstima unutrašnjost posudice. Pri mokrenju se ispusti prvi mlaz mokraće u toalet, srednji mlaz se uhvati u posudicu (dovoljno je oko centimetar od dna napuniti posudicu) te se višak mokraće ispusti u toalet. Posudicu treba čvrsto zatvoriti poklopcem. Preporučljivo je da odjelna sestra nadgleda

uzimanje uzorka mokraće u bolesnika koji nisu dobro razumjeli ili za koje se smatra da neće pravilno dati uzorak.

Uzorak mokraće treba biti dostavljen u laboratorij u roku od 2 sata ili pohranjen u frižider (4 °C) te dostavljen najkasnije unutar 24 h od uzimanja uzorka.

Rezultati standardne bakteriološke i mikološke pretrage mokraće su dostupni za jedan do dva radna dana.

NIKADA NE SLATI MOKRAĆU IZ NOĆNE POSUDE, 24-SATNU MOKRAĆU ILI VRŠAK FOLEY KATETERA ZA MIKROBIOLOŠKU PRETRAGU.

Postupak uzimanja mokraće za dokaz infekcije mikoplazmama i ureaplazmama

Uzorak mora biti **prvi mlaz** prve jutarnje mokraće, daljnji postupak je isti. Rezultati pretrage na mikoplazme i ureaplazme dostupni su za 3-4 dana. Nalaz uključuje identifikaciju, kvantifikaciju i antibiogram urogenitalnih mikoplazmi (*Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum/parvum*)

Postupak uzimanja mokraće u kateteriziranih bolesnika (trajni urinski kateter)

Kod lateks katetera postoji dio za uzorkovanje mokraće koji se dezinficira 70% alkoholom i štrcaljkom se uzme 5-10 ml mokraće. Nikada ne uzimati mokraću iz vrećice uz krevet bolesnika.

Postupak uzimanje mokraće u male djece (vrećica)

Ovaj postupak povezan je s najvećim brojem kontaminacija pa se često preporuča napraviti jednokratnu kateterizaciju ili suprapubičnu punkciju. Ako se odlučimo za vrećicu, prethodno treba kožu spolovila dobro oprati sapunom, isprati vodom, posušiti na zraku, kad se koža posuši zalijepiti vrećicu i držati ne duže od jednog sata.

Postupak uzimanja mokraće za dokaz anaerobnih bakterija

Izolacija anaerobnih bakterija je moguća jedino kod uzoraka mokraće dobivenih suprapubičnom punkcijom.

Postupak uzimanja uzoraka za dokaz *Trichomonas vaginalis*

Uzorak je **prvi mlaz** prve jutarnje mokraće, bris rodnice žene ili ejakulat koji je potrebno dostaviti u laboratorij u sterilnoj i zatvorenoj posudi u roku od 2 h na temperaturi od **30-37 °C** (u džepu ili prijenosnom termostatu).

Rezultat izravne mikroskopije dostupan je istog dana. Kultura se za sada ne radi.

Postupak uzimanja mokraće za dokaz *Chlamydia trachomatis*

Bolesnik ne smije mokriti tijekom prethodna dva sata. Uzima se 10-ak ml **prvog mlaza mokraće** u sterilnu polipropilensku čašu. Preporučljivo je urin dostaviti što prije u laboratorij, iako se tolerira do 24 sata na temperaturi od 15-30 °C. Nalaz je gotov za 7-10 dana budući da se za pretragu sakupljaju uzorci do dovoljnog broja.

Uzorci dobiveni obriskom cerviksa, rodnice i uretre

Obrisak cerviksa uzima se pri ginekološkom pregledu spekulima, prvim brisom se odstrani sekret, a drugim brisom uzme uzorak iz endocervikalnog kanala. Brisevi iz spolnomokraćnog sustava žena se pohranjuju u odgovarajuće transportne medije za izolaciju ili identifikaciju bakterija. Za izolaciju kvasaca nije potrebno slati uzorak u transportnom mediju.

Svi obrisci moraju biti dostavljeni u laboratorij u roku od 2 h, ili se uzorci za bakteriološku i mikološku pretragu pohranjuju u frižider (+4 °C).

Rezultat pretrage je gotov za 2-4 dana (ponekad kod izolacije anaerobnih bakterija i duže). Iz uzoraka se radi i Gram preparat koji najčešće pruža dovoljno informacija kod bakterijske vaginoze.

Pri uzimanju **cervikalnog brisa za dokaz infekcije mikoplazmama, ureaplazmama ili klamidijama**, drugi bris kojim energično sakupimo stanice na površini sluznice stavlja se u transportni medij. Uzme se bočica s transportnim medijem (dostupna u Zavodu), bris se dobro promiješa s medijem kako bi se stanice otpustile iz brisa, ocijedi se o unutrašnju stijenku transportne bočice te baci. U laboratorij se šalje bočica za mikoplazme, preporučljivo unutar dva sata od uzimanja, koja se u slučaju odloženog transporta može držati u frižideru do 24 sata. Rezultati su dostupni za 2-4 dana. **Za PCR pretragu na klamidiju** bris se uroni u transportni medij (**isključivo** se može koristiti transportni medij koji je dostupan u Zavodu), odlomi vršak brisa, zatvori epruveta s medijem i označi imenom pacijentice. Ovako transportiran, bris može stajati na sobnoj temperaturi do dolaska u laboratorij. Nalaz je gotov za 7-10 dana budući da se za pretragu sakupljaju uzorci do dovoljnog broja.

Uzorci dobiveni obriskom uretre muškarca

Obrisak uretre muškarca za klasičnu bakteriološku analizu uzima se nakon što bolesnik nije mokrio barem 2 h prije uzimanja. Tanki sterilni bris se stavi 2-4 cm u lumen uretre i lagano rotira. Pohrani se u transportni medij. U slučaju uzimanja **brisa uretre na mikoplazme ili klamidije**, bris treba energično rotirati po površini sluznice uretre te zatim inokulirati u transportni medij (**medij za urogenitalne mikoplazme i klamidije se razlikuju!-kontaktirati laboratorij**). Postupak je dalje isti kao i s cervikalnim brisom. Obrisak uretre za mikološku obradu ne treba slati u transportnom mediju. U slučaju sumnje na gonoreju, najbolje je bolesnika uputiti da se uzorak uzme u laboratoriju ili se sterilnim brisom pokupi iscjedak iz penisa i uputi bolesnika da ga što prije donese u laboratorij.

Uzorci ejakulata

- za bakteriološku/mikološku kulturu

Uzorak ejakulata treba dostaviti u laboratorij u sterilnoj plastičnoj posudici u roku od 2 h od uzimanja. Rezultati pretrage su dostupni za 2-3 dana.

- za dokaz urogenitalnih mikoplazmi

Uzorak ejakulata treba dostaviti u laboratorij u sterilnoj plastičnoj posudici u roku od 2 h od uzimanja. Rezultati pretrage su dostupni za 2 (negativan nalaz)-4 dana (pozitivan nalaz s testom osjetljivosti).

Detekcija *Streptococcus agalactiae* u trudnica

Trudnicama u 35.-37. tjednu trudnoće uzima se obrisak distalnog dijela rodnice i perinealne regije radi pronalaženja *Streptococcus agalactiae* koji može uzrokovati infekcije novorođenčadi. Uzeti obrisak dostaviti što žurnije u mikrobiološki laboratorij.

Razultat pretrage očekivati unutar 3-4 dana.

7. Laboratorij za serologiju

Voditelj: **izv. prof. Marija Tončić**, dr. med., spec. med. mikrobiologije i parazitologije

Telefon: 021 556 039; 556 206

Uzorak: serum

Za serološke pretrage poželjno je uzeti oko 5 ml krvi u epruvetu **bez antikoagulansa** i dostaviti što prije u mikrobiološki laboratorij. U slučaju da se šalje već izdvojeni serum potrebno ga je držati do dolaska u hladnjaku te pri transportu osigurati iste uvjete.

Za postupak vađenja krvi za kvantiferni test molimo nazvati 6039 (epruvete za uzorkovanje dostupne su u mikrobiološkom laboratoriju).

Serološke pretrage:

1. dokazivanje protutijela na bakterijske antigene u serumu bolesnika:

- *S. pyogenes*
 - AST-O - Antistreptolizinski titar (IH)
- Serološka dijagnostika sifilisa:
 - VDRL
 - RPR – brzi plazma reaginski test (odgovara VDRL testu)
 - *Treponema pallidum* hemaglutinacijski test (TPHA)
- *Salmonella* spp. (aglutinacija po Widalu)
- *Brucella* spp.
 - kvantitativna aglutinacija po Wrightu
 - kvalitativni Brucelloslide test (Rose Bengal antigen)
- test aglutinacije s antigenima *Yersinia enterocolitica* O3 i O9
- *Mycoplasma pneumoniae* (EIA)
- *Chlamydia pneumoniae* (EIA)

- *Legionella pneumophila* (EIA)
- *Rickettsia conorii* (IFA)

Kratice: EIA – enzimski imuno test, IFA – indirektni imunofluorescentni test, IH - inhibicija hemolize

2. dokazivanje reumatoidnih stanja i autoimunih bolesti

- AST-O (IH)
- Lateks RF - Lateks reuma faktor (anti IgG)
- WR - Waaler-Rose test (anti IgG) (IHA)

Kratice: IHA-neizravna hemaglutinacija

3. dokazivanje stvaranja interferona-gama na peptidne antigene *Mycobacterium tuberculosis* (EIA)

- QuantiFERON - TB test

4. dokazivanje protutijela na virusne antigene

- Epstein-Barr virus (EBV), uzročnik infektivne mononukleoze:
 - IgM na VCA (EIA)
 - IgG na VCA (EIA)
 - IgG EBNA (EIA)
 - test za dokaz heterofilnih protutijela po Paul-Bunnellu
- Cytomegalovirus (CMV) (EIA)

5. dokazivanje protutijela na antigene tkivnih parazita

- *Toxoplasma gondii* (EIA)
- *Echinococcus granulosus* (IHA)
- *Leishmania donovani* (IFA)

8. Laboratorij za molekularnu dijagnostiku

Voditelj: **prim. dr. sc. Sanda Sardelić**, dr. med., spec. med.
mikrobiologije i parazitologije
Telefon: 021 556 201

Pretrage:

- molekularna dijagnostika infekcija uzrokovanih HBV i HCV:
- **kvantitativan test na HBV (određivanje broja kopija HBV DNK u ml krvi),**
- **kvantitativan test na HCV* (određivanje broja kopija HCV RNK u ml krvi, genotipizacija HCV virusa – određivanje GT1-GT6)**

* u suradnji s Laboratorijem za kliničku genetiku Zavoda za patologiju i citologiju (kontakt osoba dr. sc. Sendi Kuret, dipl.ing., tel. 556 488)

Uzorak: krv uzeta u epruveti s EDTA (ljubičasti čep; preporučamo BD-PPT epruvete) – pretraga se radi iz izdvojene plazme.

Nalaz je gotov za 7-21 dan, ovisno o broju uzoraka (radi se u skupinama uzoraka).

- molekularna dijagnostika infekcija uzrokovanih Cytomegalovirusom i Epstein-Barr virusom (kvantitativni test)

Uzorak: krv uzeta u epruveti s EDTA (zbog odgode testa radi se iz izdvojene plazme), može se poslati i urin, likvor (ljubičasti čep; kontaktirati laboratorij).

Pretraga se dogovara s kliničkim mikrobiologom/infektologom.

Napominjemo da dokaz nukleinskih kiselina virusa nije pretraga koja se radi rutinski za dokaz CMV ili EBV-uzrokovane infektivne mononukleoze (serologija ima prednost) već u iznimnim stanjima problematične diferencijalne dijagnoze, infekcija novorođenčadi, imunokompromitirane populacije (AIDS, transplantirani – posttransplantacijska limfoproliferativna bolest) i sl.

-molekularna dijagnostika infekcija Herpes simpleks virusom 1 i 2 – kvalitativan test

Uzorak: cerebrospinalna tekućina-likvor ili obrisak dna herpetične lezije koji se stavlja u malo sterilne fiziološke otopine. Preporučljivo je pretragu dogovoriti s kliničkim mikrobiologom/infektologom. Uzorci se dostavljaju što prije u laboratorij.

- dokaz DNK *C. trachomatis* metodom real-time PCR.

Uzorak: cervikalni bris (žene), bris uretre (muškarci), urin (žene i muškarci)

Uzorkovanje endocervikalnog brisa obavlja ginekolog. **O detaljima uzorkovanja vidi poglavlje o urogenitalnim uzorcima.**

Medij i bris za uzorkovanje može se uzeti u mikrobiološkom laboratoriju.

Deblji priloženi bris služi za cervikalni obrisak, a tanji za bris uretre.

Urin se daje u sterilnoj polipropilenskoj urinskoj čašici i u roku od 24 sata, bolje što prije, dostavlja u laboratorij. (Vidi poglavlje o urogenitalnim uzorcima)

9. Laboratorij za kontrolu sterilnosti transfuzioloških pripravaka

Voditelj: **Nenad Andrić**, dr. med., spec. med. mikrobiologije i parazitologije

Telefon: 021 556 201

U laboratoriju se radi:

- mikrobiološka kontrola uređaja za proizvodnju krvnih pripravaka,
- mikrobiološka kontrola okoline u kojima se ta proizvodnja obavlja po mjerilima koja su propisana dokumentima Vijeća Europe i pravilima GMP-a (dobra proizvođačka praksa),
- kontrola sterilnosti krvnih pripravaka proizvedenih u Odjelu za transfuzijsku medicinu KBC-a Split,
- kontrola dezinfekcije mjesta punkcije krvi dobrovoljnih davatelja krvi u Odjelu za transfuzijsku medicinu KBC-a Split.