



PRIROČNIK

LABORATORIJA ZA MEDICINSKO MIKROBIOLOGIJO ZAVODA ZA ZDRAVSTVENO VARSTVO MURSKA SOBOTA

Na spletni strani Zavoda za zdravstveno varstvo Murska Sobota sta prosto dostopna:

- najnovejša izdaja tega priročnika
- najnovejša izdaja seznama mikrobioloških preiskav.

Poleg tega je zdravnikom, naročnikom našega laboratorija, na voljo tudi knjižica Interpretacija antibiograma za zdravnike (avtorja H. Ribič, I. Štrumbelj, iz leta 2002).

Spletna stran:

www.zzv-ms.si

V stolpcu "Storitve" na levi strani domače strani ZZV MS klikni povezavo "Mikrobiološke preiskave", tam je povezava na ta priročnik in seznam preiskav.

Veseli bomo odzivov na vsa besedila, na naslov:

- iztok.strumbelj@zzv-ms.si

<i>Pripravil: Iztok Štrumbelj</i>	<i>1. spletna izdaja</i> <i>Objava: december 2007</i>
<i>Pregledal in odobril: Davorin Sabotin</i>	<i>Oznaka: 507na0001 Iz002</i> <i>Stran 1 od 37</i>

KAZALO VSEBINE:

DELOVNI ČAS LABORATORIJA ZA MEDICINSKO MIKROBIOLOGIJO	4
SPOROČANJE IZVIDOV IN INFORMACIJ MED POTEKOM PREISKAVE	4
RAVNANJE Z NUJNIMI VZORCI	5
SPLOŠNE SMERNICE ZA ODVZEM, SHRANJEVANJE IN TRANSPORT VZORCEV	5
Varnost	5
Lastnosti primerne kužnine	5
Oris postopka za jemanje in transport kužnin	6
Pakiranje in transport	6
Shranjevanje kužnin pred transportom	7
Materiali za odvzem kužnin – pregled najpogostejših	7
Brisi za jemanje kužnin – podrobnejša pojasnila	8
ZAVRNITVENA MERILA ZA VZORCE	9
SPLOŠNO O PREISKAVAH »NA PATOGENE BAKTERIJE«	10
Kdaj je potrebno naročiti preiskavo »na glive« in kaj pomeni preiskava »na (patogene) bakterije«	10
Ciljana preiskava samo na določene bakterije (npr. MRSA)	12
Preiskava na glive	12
POSEBNI DEL – ODVZEMI IN PREISKAVE PO POSAMEZNIH SKUPINAH KUŽNIN	13
TABELA 3: PREGLED NEKATERIH POGOSTIH KUŽNIN	13
NEKAJ PODROBNOSTI O POSAMEZNIH VRSTAH KUŽNIN - BESEDILO	16
Kri za hemokulturo	16
Naravno sterilne tekoče kužnine, vključno likvor (npr. plevralni eksudat, ascites...)	17
Čvrsta naravno sterilna ali nesterilna tkiva, biopsije	17
Abscesi	18
Rane	18
Kužnine z nohtov, las, kože	18

Kužnine iz dihal	18
Odvzem brisa žrela	18
Odvzem brisa nosa	18
Odvzem brisa nosnožrelnega prostora	19
Odvzem sputuma	19
Kužnine iz očesa	20
Kužnine pri okužbah gastrointestinalnega trakta	20
Preiskave iz blata – kaj zajemajo najpogosteje uporabljene preiskave	21
Odvzem perianalnega odtisa za pregled na jajčeca <i>Enterobius vermicularis</i>	22
Odvzem blata	23
Odvzem brisa rektuma	23
Urin	24
Odvzem urina z invazivnimi metodami	24
Odvzem urina iz stalno vstavljenega urinskega katetra	24
Odvzem urina za mikrobiološko preiskavo z metodo čistega mokrenja	25
Odvzem urina za preiskavo na antigene legionele ali pnevmokoka	26
Preiskave kužnin iz genitalnega trakta	27
Brisi na <i>Streptococcus agalactiae</i>	27
Kužnine za pregled na antigen bakterije <i>Chlamydia trachomatis</i>	27
Odvzem brisov na <i>Chlamydia trachomatis</i> - uporaba pribora "Chlamydia direct IF prelevment"	28
Brisi in druge kužnine na MRSA	29
Preiskave na bakterijo <i>Bordetella pertussis</i> v ZZV MS ne izvajamo več, izvaja jo IVZ RS	30
Serološke preiskave v mikrobiološkem laboratoriju ZZV MS: splošno o vzorcih za določanje protiteles in njihovem transportu.	30
Serološke preiskave: na protitelesa proti bakteriji <i>Borrelia burgdorferi</i>	31
Serološke preiskave: na protitelesa proti parazitu <i>Toxoplasma gondii</i>	31
Serološke preiskave: na protitelesa proti bakteriji <i>Helicobacter pylori</i>	31
DODATEK 1 – RAZLIKE IN PODOBNOSTI DVEH METOD KULTIVIRANJA URINA	32
DODATEK 2 – INTERPRETACIJSKI KRITERIJI ZA URIN, ODVZET Z METODO SREDNJEGA CURKA	33
Razvrstitev povzročiteljev glede na verjetnost povzročanja uroinfektov	34
DODATEK 3. PRIČAKOVANI ČAS OD SPREJEMA KUŽNINE DO KONCA PREISKAVE	36

DELOVNI ČAS LABORATORIJA ZA MEDICINSKO MIKROBIOLOGIJO

Sprejem vzorcev:

- od ponedeljka do petka: od 7. ure do 16.30
- ob sobotah: od 7. ure do 12.30
- ob nedeljah in praznikih (za nujne vzorce): od 10. do 11. ure

- izven navedenih ur je za nujne vzorce potreben poseben dogovor.

Informacije, svetovanje mikrobiologov:

- od ponedeljka do petka: od 7. do 14. ure
- ob sobotah: od 7. do 12. ure
- ob nedeljah in praznikih: javimo bolnišnici pozitivne hemokulture in druge nujne rezultate.

Telefonske številke mikrobiološkega laboratorija (omrežna skupina 02):

Sprejemna pisarna laboratorija za medicinsko mikrobiologijo:	5 302 160
Fax. sprejemne pisarne laboratorija:	5 302 161
Vodja laboratorija za medicinsko mikrobiologijo, Iztok Štrumbelj:	5 302 167
Vodja oddelka za mikrobiologijo, Davorin Sabotin:	5 302 165

V nujnih primerih izven zgoraj navedenega delovnega časa je možno klicati na prenosne telefone specialistov mikrobiologov (odziv **ni** zagotovljen, je pa verjetno, da bo vsaj eden od navedenih prisoten):

Iztok Štrumbelj	GSM 031 841 530
Davorin Sabotin	GSM 041 980 157
Marija Maučec Ivanič	GSM 031 841 531

SPOROČANJE IZVIDOV IN INFORMACIJ MED POTEKOM PREISKAVE

Laboratorij samoiniciativno sporoča izvide in daje informacije o delnih rezultatih preiskav pri vzorcih bolnikov, kjer mikrobiolog presodi, da gre za nujne laboratorijske informacije.

Laboratorij omogoča naročnikom v zgoraj navedenem času telefonski ali osebni dostop do svetovanja, ki ga nudijo specialisti mikrobiologi v zvezi z načini odvzema vzorcev, s transportom, s preiskavami, z interpretacijo rezultatov, s priporočenimi dodatnimi laboratorijskimi preiskavami in podobno.

RAVNANJE Z NUJNIMI VZORCI

Kot nujne vzorce obravnavamo:

- vzorce iz naravno sterilnih kužnin (na spremnih listih ni potrebno pisati, da so nujni)
- vzorce, ki jih naročnik označi kot **NUJNO!**

Nujne vzorce obravnavamo z najhitrejšim možnim postopkom in vse po presoji mikrobiologa pomembne vmesne in končne rezultate (v preparatu vidni mikroorganizmi, identifikacija, antibiogram...) po telefonu javimo naročniku takoj, ko je to izvedljivo.

Zato pri z **NUJNO!** označenih vzorcih prosimo za telefonsko številko naročnika.

SPLOŠNE SMERNICE ZA ODVZEM, SHRANJEVANJE IN TRANSPORT VZORCEV

V mikrobiološkem laboratoriju ZZV MS vzorcev pri bolnikih praviloma ne jemljemo!

- Pri odvzemih vzorcev sodelujemo z navodili in naročnikom preskrbimo brise s transportnimi gojišči, sterilne posodice za odvzem blata, sputuma, urina, ... in komplete za odvzem brisov na klamidijo.
- Bolniku vzamemo vzorec le izjemoma, če bolnik pride v laboratorij in so za odvzem potrebnega vzorca pri nas primerne možnosti.
- **Krvi za preiskave sploh ne jemljemo, ker za to nimamo ustreznih pogojev!**

Varnost

- vsi mikrobiološki vzorci so potencialno kužni
- vzorce odvzamemo v zato primerno sterilno embalažo, ki dobro tesni
- ob odvzemu vzorca se primerno zaščitimo z masko in očali, če obstaja možnost tvorbe aerosola; oziroma uporabimo rokavice, če obstaja možnost, da pridemo v stik z kužnim materialom
- pri odvzemu pazimo, da ne kontaminiramo zunanje površine posodic in spremljajočih spremnih listov
- odvzete vzorce zaščitimo tako, da vsebina med transportom ne more iztekati, ter da se posodice mehanično ne morejo poškodovati.

Lastnosti primerne kužnine

- Odvzamemo kužnino, ki je značilna za bolezenski proces; kolikor je možno, se izognemo mikroorganizmom, ki so na preiskovanem področju normalno prisotni.
- Kužnina mora biti odvzeta ob pravem času, z ustrežno tehniko in priborom, **če je možno, pred zdravljenjem z antibiotiki.**
- Količina kužnine mora biti zadostna.
- Kužnina mora biti shranjena v ustrezni embalaži (sterilna, nepoškodovana in mora dobro tesniti).

Oris postopka za jemanje in transport kužnin

POSTOPEK PRIPRAVE IN JEMANJE KUŽNIN

1. Izpolnimo spremni list (napotnico) s podatki:
 - o bolniku (ime in priimek, datum rojstva / EMŠO, naslov)
 - o pošiljatelju (naročnik, oddelek, napotni zdravnik)
 - o vrsti kužnine (vzorca) in mestu odvzema
 - o dnevu in uri odvzema
 - o preiskavi, ki je željena
 - podatki o bolezni (prejšnje preiskave; klinični znaki, napotna diagnoza; zdravljenje z antibiotiki).
2. Označimo posodico, v katero bomo vzeli kužnino. Zapišemo: ime in priimek pacienta, datum rojstva, vrsto kužnine, datum (in po potrebi uro odvzema).
3. Odvzamemo kužnino in znova preverimo skladnost podatkov na spremnem listu in kužnini.
4. Ustrezno zapakiramo vzorec (glej spodaj) in ga do transporta ustrezno shranimo.
5. Pošljemo po kurirju ali vzorec odnese pacient (ali svojeci) v mikrobiološki laboratorij.

Pakiranje in transport

Spremni list:

- damo posebej, v PVC ovojnico.

Vzorec:

- pregledamo, ali je posodica (npr. posodica za urin, bris....) z vzetim vzorcem dobro zaprta
- okrog tekočega vzorca damo vpojen papir, ki v primeru razlitja vpije kužnino
- damo v plastično vrečko in jo zapremo
- damo v primerno škatlo
- če je potrebno čakati na transport, uporabimo navodila, napisana na naslednji strani in zunanost škatle označimo s temperaturo hranjenja: a) HLADILNIK, b) SOBNA TEMP., C) TERMOSTAT
- transport poteka v čvrsti hladilni torbi, brez hladilnih vložkov.

Med transportom vzorcev se **izogibamo** neugodnim **učinkom okolja** (izpostavljenost visokemu mrazu/vročini, sušenju). **Dobra izolacija proti tem vplivom je hladilna torba, brez hladilnih vložkov za krajši čas transporta (do 1 ure).**

Shranjevanje kužnin pred transportom

1. TRANSPORT v mikrobiološki laboratorij naj bo opravljen čimprej, praviloma v dveh urah, če pa to ni možno, v okviru 24 ur, izjemoma v okviru 48 ur.
2. Če transport v dveh urah ni možen, vzorce začasno shranimo na naslednje načine:

HLADILNIK (4 - 8°C)	SOBNA TEMPERTURA (18 - 25 °C)	TERMOSTAT (inkubator) (35 - 37 °C)
<ul style="list-style-type: none"> • Serum in kri za določanje protiteles (serološke preiskave) • Urin • Blato (in brisi rektuma) • Sputum in aspirati <u>spodnjih</u> dihal • Konice intravaskularnih katetrov • Stekelca z nanešenim in fiksiranim brisom za preiskavo na antigen klamidij (IFT) 	<ul style="list-style-type: none"> • Kužnine, vzete z brisom*, razen brisa rektuma • Drugi vzorci, ki niso za hladilnik in ne za termostat (gnoj iz abscesov, biopsije, ostružki nohtov...) <p><i>Zaščitimo pred soncem in viri toplote!</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Kri za hemokulturo in drugi naravno sterilni vzorci, vbrizgani v stekleničke za hemokulturo • Na "urikult" nacepljeni urin. • Blato, cepljeno na XLD

* Za odvzem in transport kužnin vedno uporabimo brise, ki imajo priloženo transportno gojišče: če ni anatomskih ovir, uporabimo debelejše brise na plastični paličici (več vzorca), za ozke prostore uporabimo brise na kovinski žički (manj vzorca, a boljša dostopnost do odzemnega mesta).

Bris brez transportnega gojišča uporabimo le kot dodatni bris poleg brisa v transportnem gojišču, če je potrebno barvanje kužnine po Gramu.

Materiali za odvzem kužnin – pregled najpogostejših

- različne prazne, praviloma plastične sterilne posodice s pokrovom, ki posodico dobro zapira
- brisi s priloženim transportnim gojiščem
- sterilne posodice za blato imajo na pokrovček znotraj pritrjeno lopatico
- stekleničke za hemokulture (različne: aerobna, anaerobna, pediatrična) niso le materiali za odvzem, vsebujejo pravo gojišče, v katerem ob pravi temperaturi poteka rast mikroorganizmov
- odzemni set za direktni IFT-test za ugotavljanje *Chlamydia trachomatis* v kužnini
- agarji za primarno cepljenje na bolnišničnem oddelku (navedeni so v posebnem delu)

Brisi za jemanje kužnin – podrobnejša pojasnila

Svetujemo, da za vse kužnine za kultiviranje, vzete z brisom, uporabite bris, ki ima priloženo transportno gojišče. Na suhem brisu namreč večina bakterij hitro odmira, zato suhi brisi niso primerni za odvzem kužnin za kultiviranje.

V trenutku odvzema kužnine z brisom začneta dva procesa: različno hitro odmiranje večine bakterij in razmnoževanje nekaterih. Dogaja se aktivna selekcija, boj med bakterijami. Transportno gojišče je običajni naziv za gel v epruveti, v katerega potisnemo kužnino: v gelu se kužnina načeloma ne razmnožuje (v bistvu torej ni gojišče), a le počasi propada (cilj je, ohraniti žive mikroorganizme in njihovo količinsko razmerje). Seveda tega cilja transportna gojišča v popolnosti ne dosegajo, zato naj kužnina prispe v laboratorij **čim prej, vendar naj bi večina bakterij v transportnem gojišču (gelu) preživela vsaj 24 ur.**

(Tekoča gojišča v hemokulturni steklenički, kamor cepimo kri ali druge naravno sterilne tekočine, niso transportna gojišča, ampak že prava gojišča, namenjena razmnoževanju bakterij. Primerna so tam, kjer se pričakuje le ena vrsta mikroorganizmov, kjer do medsebojnega delovanja večih vrst verjetno ne bo prišlo.)

Vrste brisov:

1. SUHI BRISI so običajni brisi brez transportnega gojišča. So sterilni, vloženi v plastično epruveto.

Niso primerni za odvzem in transport kužnin za kultiviranje!

Priporočamo jih le za:

- odstranitev površinske kontaminacije z določenih mest, npr. vhoda v sluhovod, pred odvzemom kužnine
- kot dodaten bris, iz katerega naredimo preparat kužnine po Gramu.

2. BRISI OBIČAJNEGA PREMERA S TRANSPORTNIM GOJIŠČEM

Plastični bris, vsajen v zamašek, je položen ob plastično epruveto, v kateri je poltrdo transportno gojišče, zaprto z drugim zamaškom. Bris in plastična epruveta s transportnim gojiščem sta v prozornem, sterilnem ovoju. Transportno gojišče je lahko prosojno ali črno (dodatek oglja, smiselno predvsem za rod *Neisseria*).

3. TANKI BRISI S TRANSPORTNIM GOJIŠČEM.

Ti brisi so na tanki kovinski žički, pa tudi »vata« na koncu je v tankem sloju. Namenjeni so za odvzemna mesta, pri katerih je **potrebno, da je bris tanek**. Primer: nazofarings, uretra. Ti brisi niso primerni za odvzem brisov žrela ali druge kužnine, ker na njih ostane manj kužnine kot na običajnih brisih.

Kdaj je smiselno pred odvzemom vzorca bris omočiti s sterilno (fiziološko) raztopino?

Takrat, ko gre za bris suhega odvzemnega mesta. Primer: bris nosa ali kože na MRSA.

ZAVRNITVENA MERILA ZA VZORCE

Nepravilnosti pri odvzemu in transportu vzorcev lahko pomembno vplivajo na rezultat mikrobioloških preiskav. Ob sprejemu kužnine v mikrobiološkem laboratoriju preverimo ustreznost vzorca (količina, vrsta...) in ugotovimo, ali se podatki na vzorcu in spremnem listu ujemajo. Podatke iz spremnih listov vnesemo v računalnik, oštevilčimo vzorce in jih odnesemo v laboratorij.

Vzorec je lahko zavrnjen (ali opravljen le del naročenih preiskav):

- ✓ če je vzorec brez spremnega lista oz. manjkajo bistveni podatki o bolniku in pošiljatelju
- ✓ če se podatki na kužnini ne ujemajo s podatki na spremnem listu
- ✓ če na posodici s kužnino ni podatkov o bolniku
- ✓ če je kužnine premalo ali je neustrezna za željeno preiskavo (npr. hemoliziran serum)
- ✓ ni označena zahtevana preiskava (če pojasnitev s strani naročnika ni možna, izjemoma obdelamo po presoji mikrobiologa, glede na vrsto vzorca)
- ✓ če posodica pušča
- ✓ če je od odvzema kužnine do prispetja v laboratorij minilo preveč časa.

Če ugotovimo problem, **ga skušamo rešiti z naročnikom**, če rešitev ni možna, kužnine ne moremo obdelovati in o tem obvestimo naročnika in se dogovorimo za nadaljnji postopek.

SPLOŠNO O PREISKAVAH »NA PATOGENE BAKTERIJE«

Kdaj je potrebno naročiti preiskavo »na glive« in kaj pomeni preiskava »na (patogene) bakterije«

Če v okviru preiskave na bakterije najdemo patogene glive (najpogosteje različne kvasnice ali rod *Aspergillus*), jih vključimo v izvid.

Večina drugih gliv (npr. dermatofiti) na gojiščih in v času inkubacije, ki je prilagojen bakterijam, ne zraste, zato je potrebno ob kliničnem sumu na glive preiskavo na glive posebej naročiti.

V medicinskih laboratorijih pri preiskavi »na patogene bakterije« na osnovi strokovnih smernic v kužninah iščemo bakterije, ki so možni povzročitelji okužb v določenem tkivu. Temu je prilagojen nabor gojišč in metod.

V našem laboratoriju preiskav na mikobakterije in mikoplazme ne izvajamo.

Kot osnovno izhodišče za nabor iskanih bakterij v različnih kužninah praviloma uporabljamo smernice Health Protection Agency (HPA) iz Velike Britanije. Nabor zajema bakterije, ki so v našem geografskem področju pomembne in jih je možno najti s kulturo v smiselnem času. HPA navaja tudi modifikacije postopkov za iskanje redkih, a pomembnih povzročiteljev.

Rutinsko iskane bakterije zajemajo večji del možnih bakterijskih povzročiteljev okužb, ne pa vseh. V določenih okoliščinah je potrebno iskati tudi redke bakterije z modifikacijo rutinskih postopkov. Nekatere bakterije so pri nas tako redke (ker npr. bolezni v Sloveniji že več desetletij ni), da specifičnih selektivnih gojišč, na katerih bi ciljano iskali te povzročitelje, rutinsko ne uporabljamo (v skladu z vodili HPA).

Navedimo dva primera. Na običajnih gojiščih za brise žrela ali nosa *Corynebacterium diphtheriae* sicer zraste, a bakterije v rutinski preiskavi najverjetneje ne bomo našli, ker jo bodo druge bakterije prekrile. Enako velja za *Vibrio cholerae* – na običajnih gojiščih vibrijev verjetno ne bomo našli*.

Gojišča za posebne povzročitelje imamo včasih pripravljena, včasih pa jih pripravimo sproti za posamezni vzorec, zato je **dobro laboratorij čimprej opozoriti, da bo poslan vzorec, ki potrebuje poseben postopek.**

**Leta 2005 smo (neopozorjeni na anamnezo bolnika) v našem laboratoriju na običajnih gojiščih pri bolniku našli *V. cholerae*, a šlo je za izolat v čisti kulturi na primarnem gojišču. Če bi šlo le za maloštevilne bakterije med številnimi drugimi bakterijami navadne flore bakterije verjetno ne bi našli. Šlo je za *V. cholerae*, vendar ni šlo za bolezen kolero (kolero povzroča le *V. cholerae* s posebnimi antigeni in posebnim toksinom).*

Povzetek: če gre za bolnika, pri katerem bi na osnovi anamneze ali klinične slike lahko šlo za oboje: za običajne ali pri nas zelo redke bakterije, je potrebno naročiti preiskavo »na patogene bakterije« in dodatno navesti posebno, neobičajno ciljno bakterijo. Npr.: **(blato) na patogene bakterije + *V. cholerae*.** Najpomembnejši neobičajni povzročitelji so navedeni v tabeli 1 na naslednji strani.

Tabela 1: Dodatno naročanje preiskave na neobičajne bakterije

Potrebno <u>dodatno</u> naročiti preiskavo na:	Pojasnilo
<i>Vibrio cholerae</i>	<p>Običajna preiskava blata je s selektivnimi gojišči usmerjena na povzročitelje drisk zmernega podnebne pasu. <i>V. cholerae</i> na teh gojiščih lahko raste, na krvnem agarju ga iščemo, vendar ga je med drugimi bakterijami težko najti.</p> <p>Posebno naročilo je potrebno, da naboru gojišč dodamo posebna selektivno - diferencialna gojišča, kjer ciljano iščemo <i>V. cholerae</i> in njegove sorodnike.</p>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<p>Običajna preiskava žrela, nosa ali rane ne uporablja selektivnih gojišč za <i>C. diphtheriae</i>, zato je malo verjetno, da bi bakterijo z rutinskim postopkom našli.</p> <p>Posebno naročilo je potrebno, da naboru gojišč dodamo posebna selektivno - diferencialna gojišča, kjer ciljano iščemo <i>C. diphtheriae</i>.</p> <p>(Ta gojišča posebej pripravimo, če naročnik naroči preiskavo na <i>C. diphtheriae</i>.)</p>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<p>Pri vseh genitalnih vzorcih (vključno bris uretre) <u>ni potrebno</u> naročati posebne preiskave, ker se <i>N. gonorrhoeae</i> rutinsko išče s selektivnimi gojišči pri vsaki preiskavi na patogene bakterije.</p> <p><u>Pri drugih vzorcih</u>, npr. pri kužnini iz ustne votline ali rektuma je potrebno posebno naročilo.</p>
<i>Neisseria meningitidis</i>	<p>Posebno naročilo je potrebno pri iskanju bakterije iz nesterilnih mest (npr. nazofarinksa).</p> <p>V naravno sterilnih tkivih (likvor, sklepna tekočina) ni potrebno posebno naročilo ali sprememba običajnega postopka kultiviranja.</p>
<i>Nocardia</i> spp.	Laboratorij uporabi posebna selektivna gojišča in podaljša čas inkubacije.
<i>Actinomyces</i> spp.	Laboratorij podaljša čas inkubacije splošnih in selektivnih anaerobnih gojišč.

Ciljana preiskava samo na določene bakterije (npr. MRSA)

Za razliko od zgoraj navedene situacije, ko nas zanimajo posebne "dodatne" bakterije, nas včasih **iz zelo različnih razlogov** zanimajo **le določene bakterije** v kužnini, ostale pa ne.

Če zdravnik naroči **le preiskavo na ciljno bakterijo, drugih izolatov v kužnini ne iščemo** (na napotnici zdravnik ne napiše »na patogene bakterije«, ampak le na »ciljno bakterijo«).

V tabeli 2 navajamo najpogostejše primere, ko se uporablja ciljana preiskava, možne so še ciljane preiskave na druge bakterije.

Če zdravnik želi oboje, npr. ciljano preiskavo na MRSA in preiskavo "na patogene bakterije", naroči oboje. V laboratoriju izvedemo iz kužnine oba postopka.

Npr. bris rane "na MRSA" in "patogene bakterije" (če gre npr. za vneto rano v okolju, kjer je trenutno prisotna MRSA). Tako se zveča možnost za izolacijo MRSA iz rane, če je ta prisotna v majhni količini med drugimi bakterijami. MRSA se sicer rutinsko išče v skoraj vsaki klinični kužnini, a ne s selektivnimi gojišči.

Tabela 2: Naročanje preiskave samo na ciljno bakterijo

Potrebno naročiti preiskavo na:	Pojasnilo
<i>MRSA</i>	V kliničnih vzorcih proti meticilinu (oksacilinu) odporni <i>Staphylococcus aureus</i> sicer iščemo, a ne s posebnimi selektivnimi gojišči.
<i>ESBL</i>	V kliničnih vzorcih enterobakterije z ESBL mehanizmom odpornosti sicer iščemo, a ne s posebnimi gojišči.
<i>VRE</i>	V kliničnih vzorcih VRE enterokoke (<u>v</u> ankomicinu <u>r</u> ezistentni <u>e</u> nterokoki) sicer iščemo, a ne s posebnimi gojišči.
<i>Streptococcus agalactiae</i>	V kliničnih vzorcih bakterijo sicer iščemo, a ne s posebnimi gojišči.
<i>Staphylococcus aureus</i>	V kliničnih vzorcih bakterijo sicer iščemo, a ob tem iščemo še druge bakterije.
<i>Neisseria meningitidis</i>	V kliničnih vzorcih bakterijo sicer iščemo, a ne s selektivnimi gojišči – selektivna gojišča so potrebna, če gre za kužnino z mešano floro: npr. iskanje nosilcev bakterije v nosnožrelnem prostoru.

Preiskava na glive

Preiskava na glive traja od nekaj dni do nekaj tednov (npr. dermatofiti). V njej iščemo kvasnice in puhaste glive (plesni). Nasprotno od bakteriologije tu antimikograma rutinsko ne delamo.

Če naročnik želi (praviloma ob izolaciji gliv iz naravno sterilnih kužnin) določitev občutljivosti za antimikotike, izolat pošljemo v referenčni laboratorij.

POSEBNI DEL – ODVZEMI IN PREISKAVE PO POSAMEZNIH SKUPINAH KUŽNIN

TABELA 3: PREGLED NEKATERIH POGOSTIH KUŽNIN

KUŽNINA/ VZOREC	NAČIN odvzema/količina vzorca	TRANSPORT (čas, temperatura)	ZAČASNO SHRANJEVANJE
--------------------	----------------------------------	---------------------------------	-------------------------

RANE, KOŽNE SPREMEMBE, KONICE KATETRA			
BRIS kože (K) Bris rane	- bris ovlažen s fiziološko raztopino - površino rane očistimo s sterilno fiziološko raztopino in gazo, z brisom odvezamemo vzorec iz roba, globine rane	< 2 uri na sobni temperaturi	< 24 h na sobni temperaturi
PUNKTAT (abscesi, fistule)	- punktiramo in vsaj 2 mL kužnine damo v dobro zaprto sterilno posodico - če je punktata malo, ga nanesemo na bris in bris vstavimo v transportno gojišče.	čimprej, <2 uri na sobni temp.	<24 h na sobni temperaturi
Konica KATETRA	3/5cm katetra v sterilno posodo s pokrovom	<15 min. na sobni temp.	HLADILNIK

URINARNI TRAKT			
URIN*/sanford	približno 5 - 10 mL urina v sterilno posodico s pokrovom	<2 uri na sobni temperaturi	HLADILNIK
URIN*/urikult	približno 5 mL urina prelijemo po obeh straneh ploščice z gojišči, vložimo v posodo	<2 h na sobni temperaturi	TERMOSTAT (INKUBATOR)

* običajno jemljemo urin s tehniko čistega mokrenja (srednji curek – opis glej kasneje); če gre za **punkcijo mehurja ali enkratno kateterizacijo mehurja**, je treba to napisati na spremni list.

Urin iz stalnega katetra: zažmemo kateter, razkužimo odvzemno mesto, z iglo in brizgalko aspiriramo nekaj mL urina iz katetra. Nikoli ne vzamemo urina iz vrečke, v kateri se urin zbira.

GASTROINTESTINALNI TRAKT

BLATO (koprokultura)	V posodico z žličko (2 do 3 mL tekočega blata ali polnimo do 1/3 posodice)	< 2h sobna temp.	HLADILNIK
BRIS rektuma	Bris z gojiščem (obrišemo 2,5 cm globoko v danki Blato mora biti VIDNO .)	< 2h na sobni temperaturi	HLADILNIK

KRI za hemo kulturo, LIKVOR, ASCITES, PLEVRALNI IZLIV, drugi naravno sterilni punktati

KRI za hemokulturo (HK) in druge naravno sterilne tekočine	- odrasli 8 do 10 mL v aerobno in anaerobno stekleničko za HK - otroci 1 do 3 mL; v otroško stekleničko za HK	TAKOJ < 2h	<u>čim prej</u> v mikrobiološki laboratorij, do takrat v TERMOSTAT (INKUBATOR)
--	---	------------	---

KRI za serološke preiskave

KRI/serum	5 mL krvi (vakuumski odvzem, brez antikoag.)	<2 uri na sobni temp	HLADILNIK
------------------	---	-------------------------	------------------

RESPIRATORNI TRAKT

Bris nosu, nosnic	bris navlažimo, 1,5 cm globoko, 3x zavrtimo; 1 bris za obe nosnici	<2 uri na sobni temp.	<24 ur na sobni temperaturi
Bris žrela	jezik potisnemo navzdol, obrišemo zadnji farinks in tonzile, ne jezika in ličnic	<2uri sobna temperatura	<24 ur na sobni temperaturi
Aspirat traheje Sputum	>1mL kužnine v sterilno posodo s pokrovom	< 2uri na sobni temp.	HLADILNIK
Izpirek bronhijev	>1mL kužnine v sterilno posodo s pokrovom	TAKOJ	NE hranimo

TKIVO

TKIVO na bakterije, glive	vsaj 1g tkiva v sterilno posodico s pokrovom	<15 min na sobni temp.	<24h na sobni temp.
-------------------------------------	---	---------------------------	------------------------

GENITALNI TRAKT

BRIS cerviksa (bakterije, glive)	V transportno gojišče z ogljem (<i>Neisseria</i>)	<2 h na sobni temperaturi	<24 h sobna temperatura
IFT na <i>Chlamydia trachomatis</i> (isto velja za uretro in cerviks)	Posebni bris razmažemo na posebno stekelce in fiksiramo s priloženo ampulo kompleta.	<2h; hladilnik	<24 h hladilnik
BRIS vagine	V transportno gojišče z ogljem (<i>Neisseria</i>)	<2h sobna temp.	<24 h sobna temp.
IUD	Vložimo IUD v sterilno posodo	<2h sobna temp.	<24 h sobna temp.
BRIS uretre na običajne bakterije	V transportno gojišče z ogljem (<i>Neisseria</i>)	<2 h sobna temp.	<24 h sobna temp.
BRIS eksprimata prostate ali ejakulat	Na bris in vložimo v transportno gojišče	<2 h sobna temp.	<24 h sobna temp.

OKO

BRIS očesne veznice na patogene bakt.	V transportno gojišče	< 2h sobna temperatura	<24 h sobna temp.
Posebni bris veznice na <i>Chlamydia trachomatis</i> (IFT)	Posebni bris razmažemo na posebno stekelce in fiksiramo s priloženo ampulo kompleta.	<2h; hladilnik	<24 h hladilnik
Skarifikat roženice, intraokularni vzorci	Oftalmolog naroči gojišča v laboratoriju, cepi direktno nanje.	< 2h sobna temperatura	Takojšen transport v laboratorij, če ni možen: termostat.

UHO

BRIS sluhovoda	bris ovlažen s fiziološko raztopino, damo v transportno gojišče	<2 h sobna temp.	<24 h hladilnik
-----------------------	---	------------------	-----------------

V nadaljevanju so navedene nekatere podrobnosti in pojasnila za pogostejše kužnine iz različnih področij.

Za redke kužnine, ki tudi v nadaljevanju besedila niso dovolj pojasnjene, je najboljši telefonski posvet naročnika z mikrobiologom.

NEKAJ PODROBNOSTI O POSAMEZNIH VRSTAH KUŽNIN - BESEDILO

Kri za hemokulturo

Podroben postopek aseptičnega jemanja krvi za hemokulturo je opisan v standardu zdravstvene nege Splošne bolnišnice Murska Sobota. Tu navajamo le mikrobiološke principe. Hemokulturo po možnosti vzamemo pred aplikacijo antibiotika, čeprav stekleničke vsebujejo tudi snovi, ki zavrejo delovanje antibiotika in s tem zmanjšajo vpliv antibiotika (a ga ne izničijo). Sestava seta za odraslega omogoča rast tako aerobnim kot anaerobnim bakterijam ter glivam. Večina bakterij lahko zraste v obeh stekleničkah (fakultativni anaerobi), a nekatere zrastejo le v anaerobnih, druge pa v aerobnih pogojih. Otroška steklenička omogoča rast aerobnim bakterijam.

Hemokultura pri odraslem bolniku

Ključni dejavnik za uspešno detekcijo bakteriemije je dovolj velika **količina** vzorca. Koncentracija bakterij v krvi je namreč izredno majhna, zato strokovne smernice za hemokulturo navajajo potrebo po odvzemu 30 mL krvi. Če upoštevamo, da ena steklenička za odrasle v povprečju »povleče« približno 7,5 mL krvi, so potrebne skupaj 4 stekleničke, torej je potreben **odvzem 2-krat po 2 steklenički** (ena aerobna in ena anaerobna). Optimalna količina krvi je 8-10 mL na stekleničko.

Po novejših dognanjih **čas odvzema krvi** ni tako bistven, a vendar: če klinična slika dopušča, odvzem vsakega seta (aerobna in anaerobna steklenička) opravimo v časovnem razmiku, ki je odvisen od nujnosti; če je možno vzamemo kri ob začetku dviganja temperature. Če z antibiotikom ni možno odlašati, vse 4 stekleničke vzamemo brez vmesnega čakanja, vendar je za vsaki dve steklenički potrebna posebna venepunkcija (**2 odvzemni mesti**). Jemanje iz katetrov ni ustrezno, smiselno je le, če venepunkcija ni možna ali ko ugotavljamo, ali gre za katetrsko sepso, hkrati z odvzemom krvi iz vene. Če je odvzem krvi iz katetra, na napotnici to navedemo.

Hemokultura pri otrocih

Pri otrocih je koncentracija bakterij v krvi ob sepsi večja, veliki volumni krvi niso niti potrebni niti možni.

Temu so prilagojena tudi gojišča, otroško kri vzamemo v posebne pediatrične stekleničke, kjer je optimalna količina krvi od 1-3 mL. Anaerobna sepsa je pri otrocih izredno redka, a če v posebnih okoliščinah posumimo nanjo, je potrebno del krvi odvzeti tudi v anaerobno stekleničko za odrasle (otroška anaerobna steklenička ne obstaja).

<p>Po odvzemu ustrezno označene stekleničke skupaj s spremnim listom čimprej pošljemo v mikrobiološki laboratorij, kjer ga vložimo v aparaturo, ki kontinuirano beleži morebitno rast in javi pozitiven rezultat. Če takojšnji transport v mikrobiološki laboratorij ni možen, damo stekleničke v inkubator v bolnišnici.</p>

Naravno sterilne tekoče kužnine, vključno likvor (npr. pleuralni eksudat, ascites...)

Pošiljanje je možno na dva načina:

- kot nativno kužnino v sterilni posodici (čimprej pošljemo v mikrobiološki laboratorij).
- vbrizgamo kužnino v stekleničke za hemokulture (glej okvirček spodaj).

Novejše študije so pokazale, da je drugi način uspešnejši. **Priporočamo torej:**

- **delček kužnine uporabimo za preparat po Gramu: glej okvirček spodaj**
- **preostalo tekočo kužnino (recimo 20 mL, če je možno), vbrizgamo v stekleničko za hemokulturo: polovico volumna v aerobno, polovico v anaerobno stekleničko**
- **če je kužnine malo (3 mL ali manj), celoten vzorec vbrizgamo v pediatrično stekleničko**

Po odvzemu ustrezno označene stekleničke skupaj s spremnim listom **čimprej pošljemo v mikrobiološki laboratorij (glej okvirček spodaj). Če takojšnji transport v mikrobiološki laboratorij ni možen, damo stekleničke v inkubator.**

Gojišča v stekleničkah za hemokulture so predvidena za vzorec, ki je kri: sestava gojišča skupaj s krvjo omogoča rast tudi najzahtevnejšim bakterijam, brez krvi nekatere najzahtevnejše bakterije ne rastejo. Večina bakterij zraste tudi brez krvi ali spodaj opisanega dodatka.

Pri vzorcu, ki ni kri, vlogo hranilnih sestavin, ki so drugače v krvi, prevzame poseben rastni dodatek, ki ga dodamo v laboratoriju. Gojišče v steklenički skupaj s tem dodatkom omogoča rast tudi najzahtevnejšim bakterijam brez dodatka krvi (**zato je pri teh kužninah hitro pošiljanje v laboratorij posebej pomembno**). Vzorec z vbrizganim dodatkom vložimo v aparaturo, ki kontinuirano beleži morebitno rast.

Iz kužnine, ki je bila vbrizgana v stekleničko za hemokulturo, v laboratoriju naredimo tudi Gramski preparat, vendar je verjetnost, da bi v razmazu videli bakterije majhna, saj je vzorec razredčen z gojiščem.

Zato priporočamo, da se delček naravno sterilne tekoče kužnine pošljete posebej v sterilni posodici ali kot razmaz na predmetnem stekelcu, da preparat kužnine po Gramu lahko naredimo iz neredčene kužnine.

Čvrsta naravno sterilna ali nesterilna tkiva, biopsije

Pošljemo nativno kužnino v sterilni posodici (čimprej pošljemo v mikrobiološki laboratorij).

Abscesi

Pri teh gre pogosto za mešano floro bakterij, zato ni primerno, da bi abscesno tekočino vbrizgali v pravo (netransportno) gojišče, kot je npr. v stekleničkah za hemokulture: tam bi hitro rastoče bakterije prerastle manj odporne in bi dobili popačeno bakterijsko sliko.

Če gre za aspirat iz abscesa, dobljen z iglo in brizgalko, je postopek odvisen od količine:

- pri veliki količini je nativno kužnino najbolje izbrizgati v sterilno posodico in čimprej poslati v mikrobiološki laboratorij (do transporta pa kužnino shranimo v hladilniku). Le če ni mogoče kužnine v kratkem času poslati v laboratorij, je smiselno s kužnino dobro prepojiti bris, ki ga vstavimo v transportno gojišče.
- pri majhni količini (npr. 0,5 mL) kužnino vbrizgamo v plastično epruveto s transportnim gojiščem, vanjo delno vstavimo bris, ga prepojimo s kužnino in potisnemo v želatinozno transportno gojišče.

Rane

Če je možna biopsija roba rane, je to boljša možnost. Postopamo, kot je zgoraj opisano. Če to ni možno, odvezamemo bris rane:

- rano na površju očistimo s tamponi s sterilno (fiziološko) raztopino
- nato prepojimo bris z izločkom najbolj aktivnega dela rane (vzorec) in bris v transportnem gojišču pošljemo v laboratorij.

Kužnine z nohtov, las, kože

Te kužnine najpogosteje jemljemo za preiskavo na glive. Ustrezna kužnina je postružek z obolele kože ali del nohta, oboleli lasje.

Vzorec postrgamo na predmetno stekelce, pokrijemo z drugim predmetnim stekelcem, zavijemo v papir, damo v čvrsto embalažo in pošljemo v laboratorij.

Kužnine iz dihal

Odvzem brisa žrela

Bolnik naj se sprosti, običajno pomaga, če globlje diha ob napol odprtih ustih, manjšega otroka naj držijo starši v naročju (naslonijo otrokovo glavo nase in z eno roko učvrstijo čelo). Delamo ob dobri osvetlitvi.

1. s »spatulo« potisnemo jezik bolnika navzdol, da je žrelo dobro vidno in osvetljeno (oba nebna loka in uvula).
2. z brisom na plastični paličici dobro obrišemo obe tonzili oz. njihovo ležišče (pri tonzilektomiranih) in uvulo. Ostalih delov ustne votline (jezik, sluznica lica) se izogibamo, kolikor je le mogoče, ker je tam veliko normalne flore. Za žrelo ne uporabljamo drobnih brisov na žički, ki so predvideni za ozka anatomska mesta.

Odvzem brisa nosa

Kužnino nosne sluznice vzamemo iz obeh nosnic. Sežemo 1 – 2 cm globoko. Bris petkrat zavrtimo in obrišemo sluznico. Če gre za izcedek iz nosa, bris prepojimo z izločkom (in ga predhodno ne omočimo).

Če gre za bris suhe sluznice, je bris pred odvzemom smiselno omočiti s sterilno (npr. fiziološko) raztopino.

Odvzem brisa nosnožrelnega prostora

Kužnino vzamemo s tankim, upogljivim brisom na žički (nazofaringealni bris). Najpogosteje pristopamo skozi nos. Pri odvzemu se čim bolj izognemo običajni nosni flori (ali ustni flori pri odvzemu skozi usta). Če je v nosu izcedek, ga obrišemo z običajnim brisom, ki ga nato zavržemo.

Bris potisnemo do zadnje stene žrela, nato bris zavrtimo in ga nekaj sekund zadržimo na tem mestu, da se navitje "vate" prepoji z izločki. Bris previdno izvlečemo in damo v transportno gojišče. Če zaradi ovire brisa ne moremo uvesti, poskusimo skozi drugo nosnico.

Odvzem sputuma

Sputum je izkašljana kužnina z vsebino spodnjih dihalnih poti.

Da bi dobili primerno kužnino, si mora bolnik umiti zobe s krtačko brez zobne paste, odstraniti zobno protezo, če jo ima, si dobro izprati usta, s čimer zmanjša normalno floro v ustih, ter izkašljati gnojno gmoto iz globine dihalnih poti. Sputum bolnik izkašlja v sterilno posodico, ki jo je treba dobro zapreti.

Kužnino v laboratoriju pregledamo tudi mikroskopsko in rezultat izpišemo v izvidu: **če je v kužnini veliko epitelnih celic, pomeni, da gre za neustrezen vzorec** (tu običajno ni nobenih izolatov, le izjemoma poročamo, če v kulturi zraste potencialno pomemben mikroorganizem: MRSA, ESBL bakterije, pseudomonas, kvasnice... Vendar izolat v takem primeru najverjetneje ni izolat iz globine dihal!).

Če je v preparatu kužnine **veliko levkocitov, številne bakterije**, v kulturi pa zraste mikroskopski morfologiji ustrezen izolat, gre najverjetneje za povzročitelja okužbe spodnjih dihal.

Antibiogram takih izolatov je pomemben tako za bolnika kot za statistiko bakterijske odpornosti (za smislen izbor izkustvenega zdravljenja). Če se bo trend zmanjševanja števila vzorcev in izolatov iz dihal v Sloveniji nadaljeval, kmalu ne bomo več mogli oceniti, kakšna je odpornost slovenskih bakterij na antibiotike.

Aspirati iz dihal

Vzorec vzamemo v sterilno posodico, čim prej pošljemo v laboratorij.

Aspirati/brisi iz dihal za določanje antigena RSV (respiratorni sincicijski virus)

Vzorec aspiriramo iz dihal s katetrom in damo v sterilno posodico, čim prej pošljemo v laboratorij.

Možno je preiskavo delati tudi iz brisa nosnožrelnega prostora, a aspirat je priporočljivejši.

Preiskava na antigen <u>legionele</u> in <u>pnevmokoka</u> je preiskava na povzročitelje okužb dihal, a izvaja se iz urina, zato je opis jemanja vzorca opisan v delu besedila, ki govori o urinu (običajen odvzem).

Urin za dokazovanje legionel in pnevmokokov se vzame in transportira kot urin za običajne bakteriološke preiskave.

Kužnine iz očesa

Bris očesne veznice

Kužnino odvezamemo pred nanosom lokalnega anestetika ali drugih zdravil. Z brisom dobro obrišemo veznico spodnje veke in forniksa.

Kužnine iz roženice

Priporočljivo je cepljenje direktno na gojišča (ostružki roženice), ki jih na željo naročnika pošlje mikrobiološki laboratorij. Če to ni možno, je možno jemanje kužnine z brisom. Koristno je hkrati vzeti bris veznice.

Izcedek iz zagnojenega nazolakrimalnega kanala

Pošljemo na običajnem brisu s transportnim gojiščem.

Druge kužnine iz očesa

Najbolje po dogovoru mikrobiologa in zdravnika.

Preiskav na parazite, ki lahko povzročijo lokalno okužbo oči, v laboratoriju ZZV MS ne delamo.

Kužnine pri okužbah gastrointestinalnega trakta

Najbolj reprezentativna kužnina za dokaz povzročitelja pri črevesnih okužbah je blato. Možen je bris rektuma, perianalni odtis, bris anusa in duodenalni sok. Če je mogoče, odvezamemo kužnine pred zdravljenjem z antibiotiki.

Blato

Za preiskavo na bakterije in viruse je najprimernejše sveže mehko ali tekoče blato.

Blato za ugotavljanje parazitov s katerokoli metodo: priporočljivo je poslati v preiskavo 3 kužnine blata, odvzete v obdobju 10 dni (ne tri dni zapored, lahko npr. 1., 6. in 10. dan).

Vse vzorce prebavil čim prej pošljemo v laboratorij. Če to ni mogoče takoj, jih shranimo pri 4-8 °C (hladilnik).

Izjema: če želimo preiskavo na gibajoče se trofozoite (amebiaza), mora blato prispeti v laboratorij najkasneje v 30 minutah po odvzemu (transportirano na sobni temperaturi).

Preiskave iz blata – kaj zajemajo najpogosteje uporabljene preiskave

BAKTERIJE in TOKSIN C. DIFFICILE

Preiskava blata »na patogene črevesne bakterije«: zajema izolacijo in identifikacijo predstavnikov rodov *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, vrste *Yersinia enterocolitica*, serotipa *E. coli* O 157, enterotoksični *S. aureus*, *Bacillus cereus*.

Izjemoma poročamo tudi o drugih bakterijah ali kvasnicah, če so prisotne v velikem številu.

Kot je navedeno v uvodu, je potrebno ob možnosti *Vibrio cholerae* in drugih vibrijev laboratorij obvestiti, da dodamo posebna gojišča in postopek

Posebej je potrebno naročiti tudi preiskavo na *Clostridium difficile*: pri tej preiskavi direktno v fecesu z imunološkimi metodami določamo direktno prisotnost toksinov A in B vrste *C. difficile*.

Preiskavo na verotoksin *E. coli* trenutno delamo le po dogovoru zdravnika in mikrobiologa, preskusno.

Druge možne bakteriološke preiskave iz blata: na MRSA, na ESBL, na VRE.

Tu ne iščemo povzročiteljev okužb prebavil, ampak nosilce odpornih bakterij.

VIRUSI

Preiskava blata z nazivom »na viruse« zajema:

- preiskavo na rotaviruse in adenoviruse
- preiskavo na noroviruse (kaliciviruse)

Možno je naročiti le eno od obeh zgoraj navedenih preiskav.

Preiskava na rotaviruse in adenoviruse (preiskava z imunokromatografsko tehniko dokazuje antigene obeh virusnih povzročiteljev) glede odvzema in transporta blata nima posebnosti.

Preiskava na kaliciviruse (norovirus) (izvaja se z ELISA metodo, ki je zelo specifična, dokazuje antigene različnih norovirusov, nekaterih tipov virusa pa ne zazna) glede odvzema in transporta blata nima posebnosti.

PARAZITI

Običajna preiskava blata »na parazite« zajema:

- preiskavo na jajčeca in ciste parazitov (s koncentracijo)
- posebno barvanje blata na *Cryptosporidium spp.*

Preiskava blata ciljano na *Cryptosporidium spp.* in/ali *Giardia spp.* z imunofluorescenčno tehniko:

preiskava ima visoko občutljivost in specifičnost, s specifičnimi imunofluorescirajočimi protitelesi se parazita v imunofluorescenčnem mikroskopu zeleno obarvata. Preiskavo uporabimo, če je naročena ciljana preiskava na enega ali drugega parazita. Naročilo na spremnem listu: **IFT na *Cryptosporidium* ali/in *Giardia*.**

Preiskava »identifikacijo najdenega odraslega parazita v blatu«: čimprej pošljemo v laboratorij parazita v zaprti posodici.

Preiskava na trofozoite pri sumu na amebiazo

Potrebno je poslati povsem svež feces, drugače gibajočih se trofozoitov ni možno videti.

Preiskava: perianalni odtis na lepilnem traku za iskanje jajčec *Enterobius vermicularis*

Jajčeca parazita *Enterobius vermicularis* (podančica) so v blatu navzoča le izjemoma. Mnogo boljši je perianalni odtis, pri katerem se jajčeca, ki so odložena perianalno, prilepijo na lepilni trak.

Zato ob sumu na podančico pošljemo perianalni odtis, vzet pred jutranjim umivanjem. Lahko poučimo starše (pogosto gre za otroka), ki lahko zjutraj sami odvzamejo odtis. Poleg *Enterobius vermicularis* lahko v odtisu najdemo tudi jajčeca nekaterih drugih parazitov, a le izjemoma.

Odvzem perianalnega odtisa za pregled na jajčeca *Enterobius vermicularis*

- Prozoren lepilni trak ("selotejp", kos dolg približno 10 cm) z nelepljivo stranjo položimo okrog vrha neostrega predmeta, npr. oblike epruvete ali ploščice. Lepljiva stran traku je obrnjena navzven od nosilnega predmeta. S prsti pridržimo trak, napet okrog nosilca. Nosilni predmet služi temu, da lepljivo stran traku v naslednjem koraku pritisnemo ob perianalne gube.
- Lepilni trak z lepljivo stranjo pritisnemo ob perianalne gube (kjer so, če so, prisotna jajčeca podančice in se prilepijo na lepilni trak).
- Trak s tako odvzetim vzorcem nalepimo na predmetno stekelce, ovijemo v papir in vstavimo v ustrezen ovoj, da se predmetno steklo ne razbije in ga pošljemo v laboratorij.

Odvzem blata

Bolnik naj se iztrebi v **čisto posodo** ali čisto **plastično vrečko**, od koder s sterilno žličko iz stekleničke za blato prenesemo kužnino v stekleničko. Za preiskavo odberemo sluzavo, tekoče ali krvavo blato, ki ne sme biti kontaminirano z urinom in vsebovati ostankov razkužil ali čistil.

Za vse preiskave zadošča, da sterilno posodico napolnimo do 1/3.

Brisi anusa in rektuma

Uporabljamo za bakteriološke preiskave izjemoma, če ne moremo dobiti blata, npr. pri novorojenčkih, otrocih, pri hudo bolnih osebah ali če preiskovanec blato težko iztreblja. Uporabimo bris s transportnim gojiščem.

Odvzem brisa rektuma

Za bris rektuma vstavimo bris približno 2,5 cm globoko za analnim sfinktrom in rotiramo. Za ugotavljanje povzročiteljev mora imeti bris na površini blato.

Bris v transportnem gojišču do transporta shranimo v hladilniku, če gre za preiskavo na povzročitelje okužb prebavil, ESBL, MRSA ali VRE.

Izjema v primerjavi z ostalimi preiskavami iz brisa rektuma: če gre za preiskavo na *Neisseria gonorrhoeae*, bris **čim hitreje** pošljemo v laboratorij, **na sobni temperaturi**.

Pošiljanje blata, cepljenega na XLD agar

Če blata ni možno poslati v laboratorij takoj, obstaja možnost odmrtnja bakterijskih povzročiteljev.

Najobčutljivejši je rod *Shigella*. Da odmrtnje bakterij preprečimo, laboratorij infektivnemu oddelku dostavlja XLD agar: na oddelku blato cepijo na agar, ustrezno redčijo kužnino na agarju, preko noči inkubirajo in pošljejo zalepljen in ustrezno zapakiran agar v laboratorij.

Agar ne omogoča rasti vseh ciljnih bakterij, zato je potrebno ob XLD poslati še sveže blato za kultiviranje.

Urin

Možni **načini odvzema kužnine** (od najredkejše do najpogostejše):

- urin, dobljen z invazivnimi metodami
- urin iz dolgotrajno vstavljenega katetra pri bolniku (»stalni kateter«)
- urin, ki ga odvezamemo po metodi "srednjega curka".

Transport. Urin čimprej pošljemo v laboratorij. Na sobni temperaturi sme biti urin skupno največ dve uri. Če urina ni možno takoj poslati v laboratorij, ga do transporta hranimo v **hladilniku** pri temperaturi 4 – 8 °C, vendar **najdlje 24 ur**. Če seč ni shranjen v hladilniku, se bakterije razmnožijo in rezultat ni realen!

Ob daljšem transportu je potrebna hladilna torba s hladilnimi vložki.

Odvzem urina z invazivnimi metodami

Odvzem urina z invazivnimi metodami se uporabi, če metoda čistega mokrenja ni možna ali ustrezna.

- Najboljši je vzorec urina, pridobljen z najbolj invazivnim načinom: **s suprapubično punkcijo**.
- Druga možnost je odvzem urina z **enkratno kateterizacijo urina**.

Metodi sta bolj ali manj invazivni in se pri nas tako redko uporabljata, da svetujemo, da pred pošiljanjem tovrstnih vzorcev pokličete laboratorij in na napotnici poudarite način jemanja urina!

Pri teh kužninah namreč kvantitativni kriteriji, ki veljajo za urin, odvzet z metodo čistega mokrenja, ne veljajo.

Postopek s takim urinom v mikrobiološkem laboratoriju je drugačen od običajnega postopka!

Način odvzema urina s tema metodama je opisan v kliničnih učbenikih, tu le poudarjamo, da mora biti na spremnem listu jasno označeno, da gre:

- **za urin iz suprapubične punkcije**
- **za urin iz enkratne kateterizacije**.

Odvzem urina iz stalno vstavljenega urinskega katetra

Gre za povsem drugačno situacijo kot je zgoraj opisana pri enkratni kateterizaciji. Pri stalnem katetru pogosto pride do kolonizacije urina. Stalni kateter se izliva v zbiralno vrečko. **Bistveno je, da urina nikoli ne vzamemo iz te vrečke, ampak iz katetra**. Opis postopka odvzema:

- Distalno od mesta, kjer bomo kateter punkturali, za kratek čas zažmemo kateter, da se začne nabirati urin v katetru nad zažemom. Nekateri katetri imajo za odvzem urina v katetru poseben zbiralnik.
- Površino katetra razkužimo in urin odvezamemo s punkcijo katetra s sterilno iglo z brizgalko.
- Urin izbrizgamo v sterilno posodico in pošljemo v laboratorij.

Za ta urin veljajo enaki interpretacijski kriteriji kot za urin, vzet z metodo srednjega curka, vendar je za laboratorij vseeno pomembno, da ve, da gre za bolnika s stalnim katetrom. **Zaželjeno je, da na spremnem listu piše: »urin iz stalnega katetra«**. Tu gre lahko za večkratnoodporne mikroorganizme in več hkratnih, različnih povzročiteljev.

Odvzem urina za mikrobiološko preiskavo z metodo čistega mokrenja

Postopek je pomemben, ker omogoča, da preiskujemo seč in ne bakterije, ki so vedno prisotne na koži in sluznicah (tudi v distalnem delu uretre)!

Za ambulantne bolnike, pri katerih ne gre za akutno stanje, je po našem mnenju najbolje, da v zdravstveni ustanovi dobijo ustrezno posodico in navodila, nato pa postopek opravijo doma. Predhodno se z milom in tušem dobro umijejo, nato pa oddajo urin po spodaj opisanih navodilih. Poučeni morajo biti tudi o shranjevanju odvzetega urina v hladilniku, če ne morejo vzorca v roku 1 – 2 ur prinesiti v mikrobiološki laboratorij.

Močno priporočamo, da bolnikom ob navodilih pokažemo tudi slikovni material, nazorne slike so npr. v knjižici ***Priporočeni postopek za odvzem, zbiranje, hranjenje, stabiliziranje in transport urina***, ki je verjetno dostopna v večini kliničnih laboratorijev, saj jo je leta 2001 izdalo Slovensko združenje za klinično kemijo.

NAVODILA ZA ŽENSKE

(Nekateri ob tem priporočajo uporabo tampona, da se zmanjša možnost kontaminacije urina z vaginalnimi izcedki.)

Udobno se namestite na straniščno školjko. Z eno roko razširite sramne ustnice in jih ves čas držite razmaknjene.

Z **namiljenim** zložencem z enkratnim potegom med prsti od spredaj navzad očistite spolovilo.

Z vsakim **vlažnim** zložencem (namočen z vodo, uporabite tri) z enkratnim potegom med prsti od spredaj navzad očistite spolovilo.

S **suhim** zložencem z enkratnim potegom med prsti od spredaj navzad osušite spolovilo.

Nato oddajte seč: **spustite začetni del curka** v straniščno školjko, v priloženo posodico ujemite srednji del curka, končni del curka zavržite v straniščno školjko.

Zložence vrzite v koš za smeti.

NAVODILA ZA MOŠKE

Povlecite prepucij (kožico) z glavice spolnega uda.

Umijte glavico spolnega uda z milom in vodo.

Z **vlažnim** zložencem z enkratnim potegom še enkrat očistite glavico spolnega uda.

S **suhim** zložencem z enkratnim potegom osušite glavico spolnega uda.

Nato oddajte seč: **spustite začetni del curka** v straniščno školjko, v priloženo posodico ujemite srednji del curka, končni del curka zavržite v straniščno školjko.

Zložence vrzite v koš za smeti.

Izbor preiskave urina

Dve pojasnili glede preiskav urina:

»Uricult ®« je v osnovi **tovarniško ime** ploščice z dvema ali tremi agarji v plastični posodici z navojem, ki se po nacepitvi urina praviloma inkubirata izven mikrobiološkega laboratorija. Ker pa se v klinični praksi ime uporablja kot generično ime za tovrstno preiskavo, ga **zaradi lažjega sporazumevanja** uporabljamo, pisano z malo začetnico kot **generično ime za tovrstne preiskave**. Seveda lahko naročniki uporabljajo ploščice katerihkoli proizvajalcev in uporaba besede urikult ne pomeni, da naj bi naročniki uporabljali ravno Uricult ®. Podobno velja za »Sanford«, to je ime avtorja, ki je opisal metodo, kako kvantitativno kultivirati urin. Današnje tehnike kultiviranja urina (in intepretacije rezultatov) niso enake prvotni, vendar se je ime preiskave v praksi obdržalo, princip tudi, zato ne vidimo razloga, da bi to besedo v vsakdanjem sporazumevanju menjali.

Urin, vzet z »metodo srednjega curka« lahko pošljete v laboratorij kot nativni urin za semikvantitativno preiskavo »po Sanfordu« (priporočljivo), lahko pa se uporabi »urikult« (pri nas uveljavljeno poimenovanje za pošiljanje urina na ploščici z gojiščem). Preiskavi nista enaki. Primerjava obeh metod kultiviranja urina je v tabeli v dodatku št.1 tega besedila. Povzetek primerjave privede do naslednjega zaključka:

- »Sanford« ima številne prednosti, zato je »Sanford« preiskava izbora, »urikult« priporočamo le, če ni možen transport urina v laboratorij na dan odvzema urina.
- Posebej pomembno je, da pošljete »Sanford«, če želite, da je izvid čimprej.

Interpretacija rezultatov urinske kulture na povzročitelje okužb sečil

Izhodišča in rutinski protokol so opisani v dodatku 2 tega besedila.

Odvzem urina za preiskavo na antigene legionele ali pnevmokoka

Bakterije, ki povzročajo respiratorne ali sistemske okužbe s tema dvema povzročiteljema, se izločajo z urinom in tu dokazujemo prisotnost njihovih antigenov.

Za preiskavo na antigen bakterij rodu *Legionella* ali antigen vrste *Streptococcus pneumoniae* vzamemo urin na običajen način z metodo srednjega curka in ga čimprej pošljemo v laboratorij. Do pošiljanja vzorec shranimo v hladilniku.

Označiti je potrebno le pravo preiskavo (po možnosti z rdečo barvo ali obkroženo in podčrtano, ker gre za redko preiskavo urina med množico običajnih preiskav na bakterije). V rubriki spremnega lista, vzorec, napišemo urin, v rubriki preiskava pa:

- na **legionelo**
- na **pnevmokokni antigen** (ali: na *Streptococcus pneumoniae*, **antigen**).

Nekaj mililitrov urina je dovolj za obe preiskavi na antigene povzročiteljev okužb dihal, ki se iščejo v urinu.

Preiskave kužnin iz genitalnega trakta

Za kultiviranje »na patogene bakterije« se uporabljajo splošna navodila za odvzem kužnin.

Odvzete kužnine hranimo na sobni temperaturi in čimprej transportiramo v mikrobiološki laboratorij.

Pri teh kužninah je eden od možnih povzročiteljev gonokok, ki je zelo občutljiva bakterija na vplive okolja, zato je kužnine potrebno hraniti na sobni temperaturi, za odvzem z brisi pa se uporabljajo brisi, ki imajo v transportnem gojišču oglje.

Za kultiviranje poleg splošnih rutinsko uporabljamo tudi selektivna gojišča za bakterijo *Neisseria gonorrhoeae*.

Za brise na *C. trachomatis* in ciljano preiskavo *S. agalactiae* so spodaj posebni opisi.

Brisi na *Streptococcus agalactiae*

Preiskavo na *S. agalactiae* lako uporabite kadarkoli, ko vas zanima le ta bakterija (npr. novorojenčki.).

Najpogosteje se preiskava uporablja z namenom, da bi ugotovili, ali je nosečnica nosilka *S. agalactiae*: pri nosilkah je ob porodu smiselno uporabiti antibiotik za preprečitev okužbe otroka ob porodu.

Če boste preiskavo uporabili za ta namen, priporočamo:

- da pri nosečnici vzamete hkrati dva brisa med 35. in 37. tednom nosečnosti
- da vzamete 2 brisa (distalna vagina in rektum) s transportnim gojiščem (lahko poučite nosečnico, da si brise vzame sama), ki ju bomo delno kultivirali ločeno, delno skupaj
- napišite le eno napotnico
- za vzorec vpišite: **bris vagine + rektuma**, za preiskavo: **na *S. agalactiae***.
- oba brisa bomo obravnavali kot en sam vzorec, izvid bo le eden: rezultat preiskave na *S. agalactiae*, združen za skupni "rektovaginalni bris".

Ločeno jemanje obeh brisov in delno ločeno kultiviranje priporočamo zato, da zmanjšamo morebitni vpliv normalno prisotne flore na uspešnost izolacije. Odvzem vzorca iz obeh mest je potreben, da povečamo občutljivost preiskave: pri delu nosilk je *S. agalactiae* mogoče zaznati le v enem vzorcu, ne pa v obeh.

Kužnine za pregled na antigen bakterije *Chlamydia trachomatis*

Primerne kužnine za IFT test so: **brisi očesne veznice, cervikalnega kanala, uretre.**

Pri vseh je potrebno z brisom odvzeti celice epitelija teh mest, saj so klamidijska telesca večinoma prisotna znotraj celic. Kužnino odvajamo s priborom za odvzem, ki je vsebovan v posebni škatlici, ki vsebuje dva različna brisa (plastičen bris za širše anatomske prostore, kovinski za ozke prostore), predmetno stekelce s centralnim krogcem za odtis brisa, ampulo z acetonom za fiksacijo odtisnjene kužnine na stekelcu.

Odvzem brisov na *Chlamydia trachomatis* - uporaba pribora "Chlamydia direct IF prelevment"

ODVZEM Z OČESA (KONJUKTIVE):

- z brisom na plastični paličici (vsebovana v kitu) z rotiranjem temeljito ostrgamo celice s konjunktive veke
- nadaljnji postopek je opisan spodaj.

ODVZEM IZ CERVIKSA PRI ŽENSKI:

- če je prisotna sluz, jo pred postopkom obrišemo z navadnim suhim brisom (ni v kompletu)
- z brisom (iz kompleta) na plastični paličici bris iz cerviksa postrgamo celice epitela: čvrsto rotiramo 5-10 sekund
- nadaljnji postopek je opisan spodaj.

ODVZEM IZ URETRE:

Koristno je, da oseba 2 uri pred brisom ne urinira.

- tanki bris na kovinski žički (vsebovan v kitu) potisnemo 2-3 cm globoko v uretro
- čvrsto rotiramo 5-10 sekund: posneti je potrebno epitelne celice
- nadaljnji postopek je opisan spodaj.

NADALJNI POSTOPEK ZA VSE BRISE NA KLAMIDIJO JE RAZMAZ BRISA NA PREDMETNO STEKELCE IN FIKSACIJA RAZMAZA PO ODVZEMU:

- odvzeto kužnino z brisom odtisnemo na centralno polje na priloženem objektnem stekelcu (bris ob tem vrtimo, da odtisnemo celotno površino brisa)
- počakamo, da se razmaz na stekelcu na zraku popolnoma posuši
- zdrobimo priloženo ampulo znotraj plastičnega ovoja, aceton iz nje kapnemo na razmaz. **Aceton je vnetljiv!**
- počakamo, da aceton izhlapi (tako smo fiksirali razmaz)

- napišemo podatke bolnika in vzorec z napotnico pošljemo v laboratorij: do transporta naj bo škatlica z nanešeno kužnino v hladilniku

Brisi in druge kužnine na MRSA

- Preiskava "na MRSA" pomeni, da se išče **le MRSA**.
- Če želimo iskanje ostalih bakterij, napišemo na napotnico kot vrsto preiskave "na patogene bakterije" in ne "na MRSA".
- Če želimo oboje, pri preiskavi napišemo "**na patogene bakterije**" in "**na MRSA**".

Izbor bolnikov, pri katerih pošljemo za presejanje bolnikov na MRSA, je v bolnišnici določen s posebnimi navodili, kjer je tudi pojasnjeno, kaj je "dvojček KN" in kako laboratorij sporoča delne rezultate.

Uporabljamo standardne sterilne brise na plastični paličici s transportnim gojiščem. Ne uporabljamo tankih brisov na žički, ki so predvideni le za ozke anatomske prostore! Za jemanje s suhih površin brise pred uporabo omočimo s sterilno (npr. fiziološko) raztopino. Vedno uporabimo brise s transportnim gojiščem.

Tu navajamo le način jemanja posameznih kužnin na MRSA.

"DVOJČEK KN": z enim brisom vzamemo bris nosa (glej spodaj), z drugim brisom vzamemo bris kože (glej spodaj), oba brisa povežemo z lepilnim trakom in izpolnimo eno napotnico; v rubriko "vzorec" na napotnici vpišemo "dvojček KN".

BRIS NOSU: bris omočimo s sterilno (fiziološko) raztopino (odvzem s suhim brisom je zelo neprijeten in verjetno manj učinkovit) in petkrat zavrtimo bris v vsaki nosnici; z istim brisom obrišemo obe nosnici.

BRIS ŽRELA: bolnik naj bo čimbolj sproščen, diha skozi odprta usta, s "spatulo" potisnemo jezik navzdol, ko sta nebna loka dobro vidna, hitro in dobro obrišemo oba nebna loka z nebnicama. Ob brisanju po možnosti bris rotiramo okrog osi.

BRIS KOŽE: bris omočimo s sterilno fiziološko raztopino in z istim brisom temeljito obrišemo čim več delov kože; zlasti v kožnih gubah je stafilokokov največ. Brišemo obe dlani, zapestja, pazduhe, morebitne druge kožne gube, popek in **ingvinalni predel**.

BRIS RANE: s sterilnim tamponom, namočenim v fiziološko raztopino, obrišemo površino rane, nato pa z neomočenim brisom obrišemo rano, da bris postane prepojen z izločkom rane.

ASPIRAT IZ DIHAL, URIN ALI FECES: kužnino za preiskavo na MRSA vzamemo v ustrezno sterilno posodico.

Preiskave na bakterijo *Bordetella pertussis* v ZZV MS ne izvajamo več, izvaja jo IVZ RS

Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije (IVZ RS) trenutno brezplačno izvaja preiskave na bakterijo *Bordetella pertussis*, navodila za odvzem in pošiljanje vzorcev ter pomembne telefonske številke so na spletni strani IVZ RS.

Možno je dokazovanje bakterije z verižno reakcijo s polimerazo (PCR). Metoda je mnogo bolj občutljiva od kulture. Možno je tudi dokazovanje protiteles.

Serološke preiskave v mikrobiološkem laboratoriju ZZV MS: splošno o vzorcih za določanje protiteles in njihovem transportu.

VZOREC ZA PREISKAVE: potrebujemo vsaj 1 mL seruma (ne lipemičnega ali hemoliziranega) ali 5 mL krvi (brez dodatka antikoagulansa).

Do transporta naj bo vzorec v hladilniku.

Priporočamo transport **seruma**, ne krvi, čeprav je tudi kri sprejemljiv vzorec, če gre za krajše čase in razdalje (kri je manj priporočljiva, ker lahko med transportom kri hemolizira, kar lahko onemogoči preiskavo).

Nekaj osnov o izhodiščih in protokolih pri posameznih seroloških preiskavah je na naslednji strani.

Serološke preiskave: na protitelesa proti bakteriji *Borrelia burgdorferi*

Klinična slika borelioze je pogosto neznačilna, zato so pogosto potrebne mikrobiološke preiskave. Po drugi strani je potrebno rezultate mikrobiološke serološke preiskave razlagati v luči klinične slike. Prisotnost protiteles ne pomeni nujno klinične bolezni in odsotnost protiteles ne izključuje bolezni.

Pri različnih bolnikih je imunski odziv različen, od močnega do šibkega, pri nekaterih bolnikih do imunskega odziva ne pride. Ig M protitelesa v serumu dosežejo pozitiven titer med 3. in 6. tednom po okužbi, Ig G protitelesa pa 1. do 3. mesec po okužbi. Zato so protitelesa pri zgodnji obliki bolezni redko prisotna.

Za rutinski postopek zadostuje zahtevek na spremnem listu: **protitelesa na borelijo**.

Koristno je označiti simptomatsko diagnozo na napotnico: npr. paresis n..., arthritis gen...!

Glede jemanja ali pošiljanja vzorca ni posebnosti.

Leta 2005 so izšla evropska priporočila na osnovi katerih tudi v našem laboratoriju rutinsko uporabljamo

dvostopenjski protokol: presejalnemu (EIA = ELISA) testu sledi potrditveni imunoblot test:

1. Kot **presejalni test** uporabljamo encimskoimunski test (EIA) test, posebej za IgM in IgG protitelesa.
 - Če je EIA test negativen, se preiskava zaključí kot negativna. Ne delamo nadaljnih testov.
 - Če je EIA pozitivna ali je rezultat mejna vrednost, je potreben potrditveni test.
2. Kot **potrditveni test** uporabimo IMUNOBLLOT test. Možni rezultati so:
 - pozitiven IMUNOBLLOT test
 - negativen IMUNOBLLOT test
 - mejna vrednost v IMUNOBLLOT testu.
 - izjemoma se lahko zgodi, da pri nekaterih bolnikih pride do nespecifične reakcije seruma in sestavin testnega lističa in imunoblot ni odčitljiv.

Izvidu, ki vsebuje rezultat imunoblota, pripnemo tudi seznam posameznih antigenov borelij, proti katerim v imunoblot testu ugotavljamo protitelesa in **v izvidu izpišemo, proti katerim posameznim antigenom smo protitelesa zaznali (npr. OspC...)**. Rezultat imunoblot testa je končni serološki rezultat.

Serološke preiskave: na protitelesa proti parazitu *Toxoplasma gondii*

Glede jemanja ali pošiljanja vzorca ni posebnosti.

Osnovna preiskava je **ELISA (ELFA) test na IgM in IgG** protitelesa.

Po potrebi določimo **avidnost IgG** protiteles.

Po potrebi določimo **titer IgG protiteles z imunofluorescenčnim testom** (navadno v dveh parnih serumih).

Pri nosečnicah izpišemo interpretacijo rezultatov, za kar moramo vedeti teden nosečnosti.

Zato mora biti na napotnici ob ostalih podatkih napisan teden nosečnosti.

Serološke preiskave: na protitelesa proti bakteriji *Helicobacter pylori*

Glede jemanja ali pošiljanja vzorca ni posebnosti.

DODATEK 1 – RAZLIKE IN PODOBNOSTI DVEH METOD KULTIVIRANJA URINA

Tabela 4: »Sanford« in »urikult«, skupne točke in razlike, splošen prikaz.

»Sanford«	»urikult«
Pri obeh preiskavah je pomembno, da odvzem urina sledi navodilom!	
<p>Postopek:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ kužnina se cepi razredčena, ➤ količina urina je standardizirana, ➤ redčeni urin se cepi na dve relativno veliki plošči, ena od teh je kromogena 	<p>Postopek:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ kužnina se cepi na ploščico nerazredčena, ➤ količina prelitega urina je nepredvidljiva, ➤ neredčeni urin se cepi na dve majhni ploščici
<p>Rezultat nacepitve:</p> <p>Praviloma se vidijo izolirane kolonije, potrebne za nadaljnje delo, določitev količine bakterij je natančnejša, večinoma je lahko ugotoviti, če gre za čisto kulturo ali mešano floro.</p> <p>Če gre za mešano floro, ki največkrat pomeni prenos saprofitnih bakterij v urin (ne pa okužbe), je rezultat praviloma znan <u>1 dan po odvzemu</u>.</p> <p>Pri čisti kulturi je postopek opisan v naslednji tabeli.</p>	<p>Rezultat nacepitve:</p> <p>Pogosto izoliranih kolonij na ploščicah ni, potreben je dodaten dan za precepljanje, določitev količine bakterij je zelo približna, včasih (tudi po precepljanju) je težko ugotoviti, ali gre za čisto kulturo ali mešano floro, če poraste veliko kolonij.</p> <p>V primerih, ko gre za mešano floro, ki največkrat pomeni prenos saprofitnih bakterij v urin (ne pa okužbe), traja <u>2 ali 3 dni od odvzema urina</u> do trenutka, ko je dokončan izvid. Od 1. dne dalje ima zdravnik potencialno zavajajočo informacijo, da je v urinokulturi »signifikantno« število bakterij.</p> <p>Pri čisti kulturi je postopek opisan v naslednji tabeli.</p>
Pri obeh gre za kultivacijo urina, izvid izgleda podobno, ne glede na opisane pomembne razlike.	

Tabela 5: Shematski prikaz običajnega postopka pri »Sanfordu« in »urikultu« pri urinu, v katerem je *Escherichia coli* v čisti kulturi, število 10 000 000 CFU/mL (v praksi pogost primer).

	Sanford	Urin
Dan odvzema urina	Redčeni urin cepimo na plošče.	Neredčeni urin je cepljen na ploščice.
1 dan po odvzemu	Vidi se, da je čista kultura, dovolj izoliranih kolonij za izvedbo preskusov, navadno končana identifikacija <i>E. coli</i> . ZAČNEMO ANTIBIOGRAM, po potrebi dodatne identifikacijske teste.	Zaradi goste, konfluentne rasti kolonij ni jasno, ali gre za čisto kulturo ali za mešanico mikroorganizmov. URIKULT PRECEPIMO na ustrezne agarje*.
2 dni po odvzemu	Praviloma končana identifikacija in antibiogram <u>2 dni</u> po odvzemu vzorca.	ZAČNEMO ANTIBIOGRAM IN IDENTIFIKACIJSKE TESTE.
3 dni po odvzemu		Praviloma končana identifikacija in antibiogram <u>3 dni</u> po odvzemu vzorca*.

* Če se zdi, da je na "urikultu" čista rast (videti tega zaradi goste rasti pogosto ni mogoče), ob precepljanju naredimo antibiogram že iz "urikulta". Če se naslednji dan izkaže, da je res šlo za čisto kulturo in lahko končamo identifikacijske teste, tudi pri "urikultu" izdamo končni izvid dva dni po odvzemu. Če pa po precepljanju ugotovimo, da ni šlo za čisto kulturo, antibiogram zavrzemo in nato iz čiste kulture delamo znova.

DODATEK 2 – INTERPRETACIJSKI KRITERIJI ZA URIN, ODVZET Z METODO SREDNJEGA CURKA

Izhodišča za interpretacijo rezultatov kultiviranja urina, dobljenega z metodo srednjega curka

Razvoj interpretativnih kriterijev glede na količino bakterij v urinu

- Koncept je postavil Kass leta 1957, ki je ugotovil, da imajo bolnice z uroinfektom navadno vsaj 100 000 CFU/mL bakterij v jutranjem srednjem curku urina, redko 10 000 in izjemoma manj kot 10 000. Takrat so kot "signifikantno" postavili mejo 100 000 CFU/mL.
- Kasneje so ugotovili, da meja 100 000 CFU/mL, ki so jo dobili na osnovi prvega jutranjega urina, ne odseva rezultatov, če gre za urin, ki ni prvi jutranji (bolniki pogosto oddajo urin kasneje). Praviloma je bil rezultat urina, ki ni bil prvi jutranji, nižje število bakterij na mL.
- Nato so ugotovili, da je pri določenih bolnikih pomembna že količina 100 ali 1000 CFU/mL, vendar pa pri večini urinov ta količina pomeni le kontaminacijo iz ustja uretre in okolice.

Razvrstitev povzročiteljev glede na verjetnost povzročanja uroinfektov

1. »OBIČAJNI POVZROČITELJI UROINFEKTOV«:

- primarni: *E. coli*, *S. saprophyticus*,
- sekundarni: druge *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa*, *Enterococcus spp.*, *S. aureus*

2. ZELO REDKI (<0,1 %), A PATOGENI POVZROČITELJI: *Salmonella spp.*, *Corynebacterium urealyticum*, pnevmokoki, hemofilus.

3. REDKO POVZROČAJO UROINFEKTE

- *Streptococcus agalactiae*, kvasnice, drugi stafilokoki, *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas spp.*, *S. maltophilia*

4. SKORAJ VEDNO NEPATOGENA NORMALNA FLORA

- zeleneči streptokoki, laktobacili, drugi difteroidi (ne *Corynebacterium urealyticum*).

Število vrst povzročiteljev v urinu in verjetnost, da je najdeni izolat povzročitelj uroinfekta

Pri večini bolnikov okužba povzročena le z enim povzročiteljem, redko gre za 2, izjemoma za 3 različne povzročitelje.

Sinteza zgornjih izhodišč

Tako je za praktično rutinsko rabo obveljalo obravnavanje **količine** in **števila izoliranih vrst**, kot je npr. navedeno v tabeli 6 na naslednji strani tega dokumenta, ki **načeloma začne obdelavo pri 10 000 CFU/mL** in upošteva dejstvo, da je pri treh izolatih najverjetnejša kontaminacija urina ob odvzemu, upošteva pa tudi to, za **katere izolate gre**.

Posebni primeri

Če gre za zelo posebne primere, zdravnik naroči "modificirani" Sanford, poleg Sanforda naroči:

- preiskavo urina: **Tudi na majhno število bakterij!** Takrat kultiviramo tako, da ena kolonija pomeni 10 CFU/mL, meja pozitivnosti preiskave ob čisti kulturi pa je 100 CFU/mL
- preiskavo urina: **Na redke povzročitelje!** (kultiviramo tudi na prisotnost rodu hemofilus).
- preiskavo urina: **Na anaerobne bakterije!** (kultiviramo tudi na prisotnost anaerobnih bakterij).

Kaj v posebnih primerih zdravnik vpiše v rubriko preiskava na spremnem listu:

- **Sanford - tudi na majhno število bakterij!**
- **Sanford - tudi na redke povzročitelje!**
- **Sanford - tudi na anaerobne bakterije!**

Tabela 6: Rutinski protokol za interpretacijo rezultatov kultiviranja urina, dobljenega z metodo srednjega curka.

ŠTEVILO IZOLATOV	KOLIČINA KOLONIJ (CFU/mL)	POSTOPEK
0	Ni kolonij	Če na agarjih sploh ni rasti, rezultat: “Na zasejanih gojiščih ni rasti” .
1 ali več	Manj kot 10 000	Praviloma: Sanford ali urikult negativen. Izjema: če gre za običajnega (glej prejšnjo stran) povzročitelja uroinfektov v čisti kulturi, naredimo identifikacijo in antibiogram.
1	10 000 ali več	Identifikacija in antibiogram.
2	Vsak izolat: 10 000 ali več	Identifikacija in antibiogram izolatov.
2	Vsak manj kot 10 000	Sanford ali urikult negativen.
3 ali več	Dominantni izolat je <u>običajni povzročitelj uroinfektov</u> , 10 000 ali več, ostali < 10 000.	Identifikacija in antibiogram dominantnega izolata (s številom CFU/mL), dodamo opombo: Poleg izolata je zrasla majhna količina drugih mikroorganizmov. Plošče shranimo * .
3 ali več	Nobeden izolat ne prevladuje oziroma prevladujoči izolat ne sodi med običajne povzročitelje uroinfektov.	Ustavimo preiskavo , izpišemo CFU/mL in rezultat: »Porasle so kolonije različnih vrst, med katerimi ni mogoče določiti povzročitelja.« Plošče shranimo * . Izjemoma javimo tri različne povzročitelje, če: <ul style="list-style-type: none"> ➤ gre za bolnike, pri katerih je čisto kulturo težko dobiti (npr. dojenčki). ➤ porastejo "običajni povzročitelji" (glej prejšnjo stran) ➤ gre za bolnike, kjer okužbo lahko povzroča več povzročiteljev (npr. stalni kateter).

* Plošče in / ali urikulte shranimo: pomeni, da se plošče shranimo 3 - 4 delovne dni, kar je dovolj, da zdravnik lahko naknadno zahteva obdelavo vzorcev, če je potrebno. Gojišč ob negativnem izvidu ne hranimo.

DODATEK 3. PRIČAKOVANI ČAS OD SPREJEMA KUŽNINE DO KONCA PREISKAVE

Definicija “dneva” pri navajanju trajanja preiskav

Dnevi so delovni dnevi, to so dnevi od ponedeljka do sobote (pri nekaterih preiskavah do petka); nedelje in prazniki pri večini kužnin podaljšajo čas za en dan.

Pri nujnih kužninah celoten postopek poteka tudi ob nedeljah in praznikih, pri ostalih pa se izvaja okrnjen postopek: cepljenje prispelih kužnin, precepljanje nekaterih obogatitvenih tekočih gojišč...

Način navajanja trajanja preiskav v tem priročniku

V tem dodatku navajamo definicije, principe in primere, ki naj bralcu nudijo razumevanje poteka bakteriološke preiskave in zglede trajanja najpogostejših bakterioloških preiskav.

Menimo, da je tovrsten prikaz bolj smiselen od tabelarnega prikaza bakterioloških preiskav pri katerem bi kot čas navedli širok časovni interval (npr. od 1 do 7 dni za isto preiskavo). Časa bakterioloških preiskav ni mogoče natančno vnaprej določiti, saj je odvisen od mnogih dejavnikov.

Najpogostejše kužnine in čas preiskave, ki ga pri njih pričakujemo, so navedena na naslednji strani.

V drugem dokumentu, ki je na voljo na tej spletni strani: SEZNAM PREISKAV V LABORATORIJU ZA MEDICINSKO MIKROBIOLOGIJO ZZV MURSKA SOBOTA pri vsaki nebakteriološki preiskavi navajamo, kolikšen je pričakovani čas preiskave (v normalnih okoliščinah, brez vplivov nepričakovanih dogodkov). Pri drugih preiskavah namreč na potek preiskav vpliva manj dejavnikov in je lažje določiti predvideni čas preiskave.

Kaj razumemo kot trajanje kultiviranja kužnine na bakterije

Kultivaciji kužnine sledi identifikacija poraslih bakterij ali gliv, včasih je pomemben že rezultat po Gramu (npr. hemokultura), večinoma pa je za naročnika pomemben rezultat kultivacije šele takrat, ko je znana identifikacija poraslih mikroorganizmov do nivoja vrste ali rodu in / ali občutljivost izolata za antibiotike.

Ob izolaciji patogenih bakterij praviloma vzporedno z identifikacijo poteka antibiogram, razen pri izolatih iz blata: tam antibiograma za naročnika rutinsko ne delamo, ampak le po posebnem naročilu: te okužbe se namreč praviloma ne zdravijo z antibiotiki.

Časi, navedeni kot čas trajanja preiskave na bakterije so časi od začetka kultivacije (ko vzorec prispe v laboratorij) do končane identifikacije izolatov.

Identifikacija in antibiogram sta navadno končana hkrati, včasih je ena ali druga preiskava končana prej.

Pri nekaterih kužninah smo uvedli poseben pojem: »visoka verjetnost« nekega izolata (npr. MRSA, salmonela). Gre za izolate, ki imajo poseben epidemiološki pomen, preliminarni testi so zelo zanesljivi, a niso dokončni, do končne identifikacije pa poteče vsaj en dan po končanih preliminarnih testih. »Visoka verjetnost« v praksi pomeni, da gre za navedeni izolat s skoraj 100 % verjetnostjo, a pri zelo majhnem delu končni rezultat preiskave vendar ni izolat, ki ga navedemo kot »visoka verjetnost«.

Končni rezultat (potrditev ali ne) praviloma sledi v 24 urah od rezultata »visoka verjetnost«.

Čas od sprejema kužnine do konca preiskave na bakterije

Rezultat barvanja kužnine po Gramu javljamo pri preiskavah naravno sterilnih telesnih tekočin takoj, ko je nedvoumen rezultat barvanja prisotne bakterije znan.

Čas do pozitivnega rezultata (primeri, orientacijski časi!) kultiviranja na bakterije je lahko:

- **1 dan.** Npr. a) pozitivna hemokultura na dan sprejema v laboratorij - končana identifikacija bakterij, z orientacijskim antibiogramom v 1 dnevu od sprejema vzorca v laboratorij, b) Sanford, če je rezultat mešana flora ali *E.coli*: tu je po 1 dnevu znana identifikacija, ne pa antibiogram.
- **2 dni** (gre za preiskavo, kjer kultiviranje kužnine traja en dan, poraste pa en izolat; en dan porabimo za primarno rast kolonij, en dan za identifikacijo in antibiogram). Npr. a) hemokultura, b) Sanford s končanim antibiogramom, če primarno zraste v čisti kulturi ena vrsta, c) končan aerobni del preiskave rane, če poraste ena vrsta, npr. *S. aureus*, d) *Campylobacter* spp. iz blata, e) bris žrela, f) visoka verjetnost MRSA, če MRSA kolonije porastejo na primarni plošči prvi dan.
- **3 dni** (gre za preiskavo, kjer s primarne plošče praviloma precepljamo; en dan za rast mešane primarne rasti, en dan za precepljanje za čisto kulturo, en dan za identifikacijo in antibiogram čiste kulture). Npr. a) urikult b) Sanford, če primarno zraste več kot ena vrsta, c) aerobni del preiskave rane, če poraste več kot ena vrsta aerobnih bakterij, d) ugotovitev, da gre za rod *Salmonella*, e) MRSA, ki poraste na primarni plošči prvi dan.
- **4 dni** (npr. anaerobna bakterija v čisti kulturi, končni izvid za MRSA, ki poraste na plošči drugi dan...)
- **5 dni ali več.** Npr. a) anaerobna bakterija, ki ne poraste v čisti kulturi; b) salmonela, ki poraste le preko obogatitvenega gojišča, ne pa s primarne plošče, c) rod *Actinomyces* in *Nocardia*. Enako velja v različnih primerih, navedenih zgoraj, ko pride do zapletov v preiskavi, mešane flore, zapletene identifikacije...

Čas do končno pozitivnega rezultata je torej odvisen od mnogih dejavnikov.

Večinoma je rezultat (izolacija in identifikacija bakterije) ob »pozitivnem rezultatu« končan:

- v **dveh** dneh pri hemokulturah in Sanfordu,
- v **treh dneh** pri urikultu, ginekoloških in respiratornih vzorcih, vzorcih očesa in ušesa, pri aerobnem delu preiskave ran.

Čas do končno negativnega rezultata kultiviranja na bakterije je lahko:

- **1 dan:** bris žrela, Sanford
- **2 dni:** ginekološki in respiratornih vzorci, oko, uho, del vzorcev blata
- **3 dni:** del vzorcev blata
- **4 dni:** zgoraj navedeni vzorci, če porastejo bakterije, pri katerih nekaj dni porabimo za identifikacijo, pa se izkaže, da gre za normalno floro (končni izvid je "negativen").
- **5 dni ali več:** hemokulture in drugi naravno sterilni vzorci (npr. likvor, punktati sklepov...), vzorci ran, zgoraj navedeni vzorci, če porastejo bakterije, pri katerih nekaj dni porabimo za identifikacijo, pa se izkaže, da gre za normalno floro (končni izvid je "negativen").