

	Јавна здравствена установа Болница „Свети Врачеви“ Бијељина Српске војске 53			МИ-10-003
<i>Микробиолошки преглед ликвора</i>				
Страна 1 од 4	Издање:	Важи од:	Одобрио	Копија број
	1	2021-04-02	др Санда Лазић руководилац Службе за микробиологију са паразитологијом	Е

1. СВРХА ИСПИТИВАЊА

Микробиолошки преглед ликвора.

2. ПРИНЦИП И МЕТОД ПРОЦЕДУРЕ КОЈА СЕ КОРИСТИ ЗА ИСПИТИВАЊЕ

Принцип методе је што ранија информација о етиологији инфекције ЦНС, што се постиже микроскопским прегледом ликвора одмах по досијећу у лабораторију и засијавању узорка на одговарајуће подлоге које ће омогућити пораст очекиваних патогена у тој регији.

3. КАРАКТЕРИСТИКЕ ПЕРФОРМАНСИ

Принцип методе је засијавање узорка на одговарајуће подлоге које ће омогућити пораст очекиваних патогена у тој регији.

4. ВРСТА УЗОРКА

Ликвор.

5. ПРИПРЕМА ПАЦИЈЕНАТА

У складу са упутством УП-10-135: *Упутство за узимање и транспорт узорака за микробиолошку дијагностику.*

6. ВРСТА ПОСУДЕ И АДТИВИ

У складу са упутством УП-10-135: *Упутство за узимање и транспорт узорака за микробиолошку дијагностику.*

7. ОПРЕМА И РЕАГЕНСИ

Реагенси: Крвни агар, Ендо агар, глукозни бујон, Милер Хинтон подлога, антибиограм таблете, физиолошки раствор, подлоге за биохемијску серију (троструки шећер, пептонска вода, Симонсов цитратни агар, манитол, лактоза, Кристенсен уреа, метил ред), аглутинирајући серуми за идентификацију стрептокока и стафилокока, картице за ВИТЕК 2 апарат, раствор метиленско плаво, реагенси за бојење по Граму. Апсолутни алкохол или у недостатку 96% раствор неутрално црвено 1g, ескулин, жељезни хлорид, плазма, Ковачев реагенс, таблете (Новобиоцин, Оксидаза, Бацитрацин), 30% водоник-пероксид, тиогликолатна подлога, гас пак системи.

Апарати: Фрижидер, инкубатор, вортекс, дензитометар, центрифуга, микроскоп, ВИТЕК 2, плинска боца са пламеником, лонац за анеробну култивацију.

8. УПРАВЉАЊЕ УСЛОВИМА СРЕДИНЕ И БЕЗБЈЕДНОШЋУ

Анализу спроводити у уобичајеним микроклиматским условим у лабораторији, 20-24° Целзијуса, у складу са УП-10-023: *Употреба средстава личне заштите у Служби за микробиологију са паразитологијом* и УП-10-142: *Мјере заштите на раду у Служби за микробиологију са паразитологијом*. Све узорке, микробиолошке културе и инокулисане продукте сматрати потенцијално инфективним и тако их третирати. Сав материјал у контакту са узорком и узорак након завршетка анализе аутоклавирати.

Болница Бијељина	Страна 2 од 4	Издање:	Важи од:	МИ-10-003
		1	2021-04-02	

9. ПРОЦЕДУРЕ КАЛИБРАЦИЈЕ (МЕТРОЛОШКА СЛЕДЉИВОСТ)

Није примјениво.

10. КОРАЦИ ПРОЦЕДУРЕ

Обрада узорка: Ликвор центрифугирати 5 минута на 3000 обртаја/мин. Супернатант одлити стерилном Пастеровом пипетом у другу стерилну епрувету, а седимент лагано измјешати на вортекс апарату или вртећи епрувету у руци и користити за прављење препарата и засијавање (по једна кап седимента на два предметна стакла за препарат и по једна кап за засијавање подлога).

Директан микроскопски препарат

- употребити нова, некоришћена стакла, која се држе у алкохолу, а прије употребе исперу дестилованом водом, осуше и провуку кроз пламен;
- правити два препарата: један се боји по Граму, а други метиленом;
- за прављење препарата користити седимент са дна епрувете након центрифугирања (не развлачити кап нанесену на стакло);
- након сушења на ваздуху, препарате фиксирати преливањем 95-100% метил алкохолом који се остави на препарату 1 минут, одлије, а препарат се поново суши на ваздуху. Алтернатива је брзо провлачење препарата 3 пута кроз пламен (након тога када се додирне руком полеђина стакла треба да је благо загријана - не врућа);
- Код сумње на *Cryptococcus neoformans*, узети једну кап ликвора са дна епрувете и додати једну кап 50% индијског туша и покрити покровним стаклом.

Култивација

- Мождано-срчани инфузиони крвни агар са стафилококном цртом;
- обогаћени чоколадни агар;
- течни Милер-Хинтон са X и V факторима раста или мождано-срчани инфузиони бујон са X и V факторима раста - пресијава се након инкубације на мождано-срчани инфузиони крвни агар са стафилококном цртом и обогаћени чоколадни агар.

Прије засијавања ликвор и подлоге се држе у термостату на 37° С пола сата.

Засијавање се обавља тако што се стерилном пипетом или езом са дна епрувете узме по једна кап талога и нанесе на сваку од подлога. Подлоге ставити у термостат да се кап осуши, а потом развући материјал езом по подлози. Све засијане подлоге инкубирати у условима са 5-10% CO₂, 35-37° С, 40-48h (свакодневно читање). Порасле колоније идентификујемо (препарат, биохемијске особине, аутоматизовано-Витек) и вршимо испитивање осјетљивости на антибиотике (ДДМ или Витек).

11. ПРОЦЕДУРЕ КОНТРОЛЕ КВАЛИТЕТА

Редовно контролисати подлоге које се припремају у лабораторији, према важећем упутству.

Комерцијалне, готове подлоге контролисати на пријему:

- да није Петри плоча оштећена, да није агар оштећен, да није неједнаке дебљине;
- да није наступила хемолиза агара;
- да нема трагова залеђавања подлоге, контаминације, сасушивања подлоге.

Такве подлоге се не прихватају у рад и враћају се добављачу.

Болница Бијељина	Страна 3 од 4	Издање:	Важи од:	МИ-10-003
		1	2021-04-02	

Контролисати температуру и засићеност угљен диоксидом у инкубатору.

Контролисати температуре фрижидера у којима се чувају реагенси.

За све узорке узете ван лабораторије при пријему утврдити да ли су узети и транспортовани у складу са важећим процедурама

12. ИНТЕРФЕРЕНЦЕ

Уколико је пацијент под антибиотском терапијом постоји могућност лажно негативног резултата. Препорука је да се узорак за културу узима прије примјене антибиотика.

13. ПРИНЦИПИ ПРОЦЕДУРЕ ЗА ИЗРАЧУНАВАЊЕ РЕЗУЛТАТА

Није примјењиво.

14. БИОЛОШКИ РЕФЕРЕНТНИ ИНТЕРВАЛИ И ВРИЈЕДНОСТИ КЛИНИЧКОГ ОДЛУЧИВАЊА

Није примјењиво.

15. ИНТЕРВАЛ ИЗВЈЕШТАВАЊА О РЕЗУЛТАТИМА ИСПИТИВАЊА

Није примјењиво.

16. УПУТСТВА ЗА ОДРЕЂИВАЊА КВАНТИТАТИВНИХ РЕЗУЛТАТА

Није примјењиво.

17. АЛАРМАНТНЕ/КРИТИЧНЕ ВРИЈЕДНОСТИ

Није примјењиво.

18. КЛИНИЧКО ТУМАЧЕЊЕ ЛАБОРАТОРИЈЕ

Резултат микроскопског прегледа издати одмах по завршетку.

У култури, патогеним се сматрају све нађене бактерије. За детекцију солубилних антигена у ликвору бактерија које су најчешћи узрочници менингитиса (*Neisseria meningitidis* a, B, C, *Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae*) ради се комерцијални латекс аглутинациони тест. Тест се изводи према упутству произвођача, а користи се у сљедећим случајевима:

- код пацијената са имунодефицијенцијом код којих леукоцити могу недостајати у ликвору, упркос постојању инфекције,
- пацијенти третираны антибиотикима прије него је узет ликвор на испитивање.

У случају негативног налаза, односно одсуства пораста на подлогама извјестити: Засијане подлоге су остале стерилне, са напоменом да постоји могућност лажно негативног резултата.

19. ПОТЕНЦИЈАЛНИ ИЗВОРИ ВАРИЈАЦИЈА

Уколико је пацијент под антибиотском терапијом постоји могућност лажно негативног резултата. Препорука је да се узорак за културу узима прије примјене антибиотика, у супротном радити комерцијални латекс аглутинациони тест.

20. РЕФЕРЕНЦЕ

Color atlas and textbook of Diagnostic Microbiology, Koneman E.W. , Philadelphia 1997.

Практикум из микробиологије и имунологије, В. Арсић...[et. al], Савремена администрација, Београд, 2000.

Медицинска микробиологија, Е. Jawetz, J.L. Melnick, Е.А. Adelberg, превод 20. издања [В.Арсич... е а.]; Савремена администрација, Београд, 1998.

Болница Бијељина	Страна 4 од 4	Издање:	Важи од:	МИ-10-003
		1	2021-04-02	

Лабораторијска дијагностика у клиничкој бактериологији, др Ј. Мугоша и сар.,
Министарство здравља Црне Горе, 2012.

