

	Јавна здравствена установа Болница „Свети Врачеви“ Бијељина Српске војске 53			МИ-10-023
Бактериолошки преглед спутума и БАЛ-а				
Страна 1 од 4	Издање:	Важи од:	Одобрио	Копија број
	1	2021-04-02	др Санда Лазих руководилац Службе за микробиологију са паразитологијом	Е

1. СВРХА ИСПИТИВАЊА

Бактериолошки преглед спутума и БАЛ-а.

2. ПРИНЦИП И МЕТОД ПРОЦЕДУРЕ КОЈА СЕ КОРИСТИ ЗА ИСПИТИВАЊЕ

Принцип методе је засијавање 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

Спутум, БАЛ.

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, селективни чоколадни агар за хемофилус, 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, ескулин, жељезни хлорид, плазма, Ковачев реагенс, таблете (Новобиоцин, Оксидаза, Бацитрацин), каталаза, гас пак системи.

Апарати: Фрижидер, инкубатор, вортекс дензитометар, центрифуга, микроскоп, ВИТЕК 2, плинска боца са пламеником, лонац за анеробну култивацију, аутоклав, гас пак системи, индикаторске траке.

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.

9. ПРОЦЕДУРЕ КАЛИБРАЦИЈЕ (МЕТРОЛОШКА СЛЕДЉИВОСТ)

Није примјењиво.

Болница Бијељина	Страна 2 од 4	Издање:	Важи од:	МИ-10-023
		1	2021-04-02	

10. КОРАЦИ ПРОЦЕДУРЕ

Обрада узорка: Примарну обраду узорака радити у биосигурносном кабинету класе II.

Обрада спутума: Прво се ради макроскопска евалуација узорка (бистар, пурулентан, мукоидан, мукопурулентан, крвав).

Од густих, гнојавих дијелова се прави микроскопски препарат по Граму који нам служи за тријажу, односно процјену квалитета узорка. Узорци који задовољавају према Критеријум за тријажу спутума по *Murray u Washington*-у се засијавају на хранљиве подлоге.

Група	Број епителних ћелија по видном пољу	Број леукоцита по видном пољу
1	25	<10
2	>25	10-25
3	>25	>25
4	10-25	>25
5	<10	>25

Узорци који припадају групама 1-4 су неприхватљиви за култивацију те се извјештава „узорак је салива, те је неприхватљив за култивацију. Поновити ако постоји клиничка индикација“.

Ови критеријуми су непримјењиви код имунокомпромитованих, неутропеничних, интубираних пацијената, код сумње на *Mycobacterium* spp. или ако је немогуће поновити узорак.

Обрада БАЛ-а: центрифугирање узорка 5 минута на 2000 обртаја. Талог служи за прављење препарата који се боји по Граму и метилену, а супернатант се засијава на подлоге.

Култивација

Спутум: Од густих, гнојавих дијелова се узима инокулум и засијава се на:

Крвни агар, (инкубира се аеробно на 35-37°C, 18-24h),

Ендо агар (инкубира се аеробно на 35-37°C, 18-24h).

Селективни чоколадни агар за хемофилус (инкубира се у CO₂, на 35-37°C, 24-48h уз свакодневно читање).

Уколико на упутници није наглашено да се тражи искључиво бактериолошка култура, засијати и Сабуро подлогу, инкубирати 24 часа на 35-37°C, затим 24 часа на собној температури.

Други дан се плоче ваде и слиједи читавање пораста бактеријских колонија. У случају пораста нормалне бактеријске флоре горњег респираторног тракта издаје се негативан налаз. У случају пораста сумњивих бактеријских колонија, материјал се узима у даљи рад ради изолације и краће идентификације.

Циљани узрочници су *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae* (и рјеђе друге Грам негативне бактерије). Код цистичне фиброзе и *Pseudomonas aeruginosa* и *Burkholderia cepacia*, ентеробактерије. Њихова идентификација и испитивање осјетљивости на антибиотике се ради према утврђеном протоколу за бактеријску врсту.

БАЛ: материјал се засијава на:

Крвну агар плочу, (инкубира се аеробно на 35-37°C, 18-24h),

Болница Бијељина	Страна 3 од 4	Издање:	Важи од:	МИ-10-023
		1	2021-04-02	

Ендо агар (инкубира се аеробно на 35-37°C, 18-24h).

Селективни чоколадни агар за хемофилус (инкубира се у CO₂, на 35-37°C, 24-48h уз свакодневно читање).

Глукозни бујон (инкубира се аеробно на 35-37°C, 18-24h).

Уколико на упутници није наглашено да се тражи искључиво бактериолошка култура, засијати и Сабуро подлогу, инкубирати 24 часа на 35-37°C, затим 24 часа на собној температури.

Затим се ваде и читава примарни пораст бактерија. У случају не порастања бактеријских колонија на чврстим подлогама материјал из декстрозног бујана пресијава се поново (субкултивише) на крвни агар и ендо агар и ставља на поновну инкубацију. Трећи дан се издаје негативан налаз или се плоче са пораслим сумњивим колонијама узимају у рад ради дефинитивне изолације и идентификације претходно описане.

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.

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.

Болница Бијељина	Страна 4 од 4	Издање:	Важи од:	МИ-10-023
		1	2021-04-02	

18. КЛИНИЧКО ТУМАЧЕЊЕ ЛАБОРАТОРИЈЕ

Циљани узрочници су: *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae* и рјеђе друге Грам - негативне бактерије). Код цистичне фиброзе и бронхијектазија: *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cepacia*, ентеробактерије. У случају када нису изоловани клинички значајни микроорганизми, издати налаз: Изолована је физиолошка микрофлора усне шупљине.

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.

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.

Clinical Microbiology Procedures Handbook, Henry D. Icenberg, sec. edition, update 2007.

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

