

	Јавна здравствена установа Болница „Свети Врачеви“ Бијељина Српске војске 53			МИ-10-017
Уринокултура				
Страна 1 од 4	Издање:	Важи од:	Одобрио	Копија број
	1	2021-09-08	др Санда Лазић руководилац Службе за микробиологију са паразитологију	Е

1. СВРХА ИСПИТИВАЊА

Одређивање присуства бактерија у урину (уринокултура).

2. ПРИНЦИП И МЕТОД ПРОЦЕДУРЕ КОЈА СЕ КОРИСТИ ЗА ИСПИТИВАЊЕ

Засијавањем урина на одговарајуће подлоге врши се семиквантитативна анализа урина.

3. КАРАКТЕРИСТИКЕ ПЕРФОРМАНСИ

Принцип методе је засијавање узорка на одговарајуће подлоге које ће омогућити пораст очекиваних патогена у тој регији (*Escherichia coli* и остале ентеробактерије, *Enterococcus* sp, *Staphylococcus* sp (превасходно *S. saprophyticus*), *Streptococcus* sp, *Candida* sp, али и пораст *Pseudomonas* sp, *Acinetobacter* sp. Анаеробне бактерије, спорорастуће/ нутритивно захтјевне бактерије се не могу детектовати овом методом.

4. ВРСТА УЗОРКА

Урин.

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: ЦПС агар, Крвни агар, Ендо агар, Sabouraud агар, Милер Хинтон подлога, антибиограм таблете, физиолошки раствор, подлоге за биохемијску серију (троструки шећер, пептонска вода, Симонсов цитратни агар, манитол, лактоза, Кристенсенова уреа, метил ред), аглутинирајући серуми за идентификацију стрептокока, картице за ВИТЕК 2 апарат, ескулин, плазма, Ковачев реагенс, таблете (Новобиоцин, Оксидаза, Бацитрацин), 30% водоник-пероксид, микроскопска стакла).

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

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-10-017
		1	2021-09-08	

10. КОРАЦИ ПРОЦЕДУРЕ

Урин се директно засијава на подлоге. Засијавањем урина на одговарајуће подлоге врши се и квантитативна и квалитативна анализа урина. Квантитативна анализа урина изводи се засијавањем омчастом калибрисаном езом од 0,01 или 0,001 ml уз додатно одговарајуће прерачунавање пораслих колонија као број cfu/ml, табела 1.

Прије засијавања, док је поклопац чврсто затворен, бочицу ротирати да се урин измјеша. Затим уронити само омчу калибрисане езе којом ћемо инокулисати подлогу, водећи рачуна да не буде урина ван омче. Први потез треба да иде кроз средину подлоге, а затим окомито на то ићи у густим паралелним потезима.

Табела 1: Прерачунавање броја микроорганизама (cfu/ml) методом калибрисане езе

cfu/ml	1 μ L еза (број пораслих cfu)	10 μ L еза (број пораслих cfu)
1000	-	10
10.000	10	100
100.000	100	1000

Квалитативна анализу урина врши се засијавањем омчастом езом на ЦПС агар. У недостатку CPS, засијавати на крвни агар (прати се пораст Г+ бактерија, тип хемолизе, ројење *Proteus*-а), на Ендо агар или другу диференцијалну подлогу (Mac Conkey агар), која служи за изоловање Г- бактерија.

Засијане подлоге се инкубирају 18-24h на температури од 35-37°C. Сљедећег дана се прати пораст бактерија, а потом се приступа идентификацији (на основу изгледа на ЦПС) или са крвног и ендо агара користећи добро одвојене колоније сличног изгледа. Колоније Г- бактерија засијавају се на биохемијску серију (шарени низ), идентификација се врши након инкубирања на 37°C од 18h до 24h. Групна идентификација стрептокока врши се на основу Камп, Бацитрацин теста и ескулин пробе или помоћу брзих аглутинирајућих тестова. Коагулаза позитиван стафилокок се одређује помоћу теста коагулације плазме или брзим аглутинирајућим тестом. Израда антибиограма врши се диск-дифузионом методом, а читавање антибиограма врши се према важећим ЕУЦАСТ препорукама, након инкубирања подлога на 37°C 18-24h. Аутоматска идентификација бактерија и аутоматска израда антибиограма врши се на ВИТЕК 2 апарату. Припрема и рад на апарату ВИТЕК 2 обавља се по упутству произвођача приложеном уз апарат.

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 zasiћеност угљен диоксидом у инкубатору.

Контролисати температуре фрижидера у којима се чувају реагенси, те квалитет реагенаса.

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

Болница Бијељина	Страна 3 од 4	Издање:	Важи од:	МИ-10-017
		1	2021-09-08	

12. ИНТЕРФЕРЕНЦЕ

Уколико је пацијент под антибиотском терапијом постоји могућност лажно негативног резултата. Препорука је да се узорак за културу узима прије примјене антибиотика, или најмање 48 сати након престанка употребе.

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

„Сигнификантна бактериурија“ подразумијева присуство $\geq 10^5$ cfu/ml, тј. ≥ 100.000 cfu/ml уропатогена.

Уколико је задржавање у бешици краће од 3 сата, односно урин узет прије истека 3 сата од претходног уринирања, сигнификантним се може сматрати и мањи број примарно уропатогених бактерија (*Escherichia coli*, нпр).

Код пацијената са симптомима уроинфекције, изазване примарно уропатогеним бактеријама (*Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus* нпр) сигнификантним се може сматрати и $< 10^4$ тј. 10.000 cfu/ml.

Обилан пораст мијешане флоре, са упитним клиничким значајем (коагулаза негативан стафилококкоринебактерије, ацинетобактер...), се не рачуна као сигнификантно и тражи се нови узорак, уз напомену за поштовање упутства за узимање узорка.

Опис пораста	Број колонија на плочи	Број колонија у мл урина
Обилан пораст	≥ 100 колонија	$\geq 10^5$ CFU/ml
Умјерен пораст	$\geq 10 - < 100$ колонија	$\geq 10^4 - < 10^5$ CFU/ml
Оскудан	$1 - < 10$ колонија	$\geq 10^3 - < 10^4$ CFU/ml

Антибиограм радити у случају обилног и умјереног пораста једног или 2 уропатогена и у случају оскудног пораста примарних уропатогених бактерија (*E.coli* & *S.saprophyticus*).

19. ПОТЕНЦИЈАЛНИ ИЗВОРИ ВАРИЈАЦИЈА

С обзиром да се ради о семиквантитативној методи, значајно је да урин буде у бешици минимално 4 сата и да се узорак чува на хладном до обраде.

20. РЕФЕРЕНЦЕ

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

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

Болница Бијељина	Страна 4 од 4	Издање:	Важи од:	МИ-10-017
		1	2021-09-08	

Практикум из микробиологије и имунологије, В. Арсић...[ет. ал], Савремена администрација, Београд, 2000.

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

Klinisk mikrobiologi, Region Kronberg, metod. Urin odling / www.mikrobiologi.org/

